มูลนิธิโครงการหลวง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ตามโครงการวิจัยที่ 3040-3430 งบประมาณปี 2547-2549

ชุดโครงการ

การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกุหลาบสำหรับเกษตรกรของมูลนิธิโครงการหลวง

Technology Development on Rose Production of Growers under the Supervision of Royal Project Foundation

โครงการย่อยที่ 3

การพัฒนาพันธุ์กุหลาบโดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์และการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Rose Improvement through Induced Mutation and Micropropagation of Rose

คณะทำงาน

1. นาย วชิระ เกตุเพชร	หัวหน้าโครงการ
2. นาง พินทรัตน์ แสนใจเป็ง	เจ้าหน้าที่วิจัยไม้ดอก
3. นางสาว พรพิมล ไชยมาลา	เจ้าหน้าที่วิจัยไม้ดอก
4. นาย ธวัช อุปมา	ผู้ช่วยนักวิจัย

Research Personal

1. Mr. Wachira Ketpet	Head of project
2. Mrs. Pintarat Sanjaipang	Researcher
3. Miss Pornpimol Chaimala	Researcher
4. Mr. Tawat Ooppama	Researcher Assistant

สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์, มูลนิธิโครงการหลวง

Inthanon Research Station, Royal Project Foundation

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทนำ	4
วิธีการดำเนินการวิจัย	5
ส่วนที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	5
1.1 อิทธิพลของ BA ร่วมกับ NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างเกิดต้น	5
1.2 อิทธิพลของระยะของตาข้างที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างเกิดต้น	6
1.3 อิทธิพลของ BA และ TDZ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นของการเพาะเลี้ยงตาข้างกุหลาบ	6
1.4 ผลของ Ethylene inhibitor ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้น	6
1.5 ผลของอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ออกราก	6
1. 5.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต	6
1.5.2 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและผงถ่าน	7
ส่วนที่ 2 การพัฒนาพันธุ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์	7
2.1 อิทธิพลของรังสีเอ็กซ์	7
2.2 อิทธิพลของรังสีแกมมา	8
ผลการวิจัย	8
ส่วนที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	8
1.1 อิทธิพลของ BA ร่วมกับ NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างเกิดต้น	8
1.2 อิทธิพลของระยะของตาข้างที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างเกิดต้น	10
1.3 อิทธิพลของ BA และ TDZ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นของการเพาะเลี้ยงตาข้างกุหลาบ	11
1.4 ผลของ Ethylene inhibitor ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้น	14
1.5 ผลของอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ออกราก	16
1.5.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต	16
1.5.2 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและผงถ่าน	18
ส่วนที่ 2 การพัฒนาพันธุ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์	19
2.1 อิทธิพลของรังสีเอ็กซ์	19
2.2 อิทธิพลของรังสีแกมมา	25
สรุปและวิจารณ์	30
เอกสารอ้างอิง	32

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ส่วนที่ 1	**การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**	
1	อิทธิพลของ BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างกุหลาบเกิดต้นบน อาหารสูตร MS ที่เพาะเลี้ยง เป็นเวลา 1 เดือน	9
2	อิทธิพลของตาข้างระยะแตกต่างกันที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างกุหลาบเกิดต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.0 ppm ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน	11
3	อิทธิพลของ BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นในการเพาะเลี้ยงตาข้างกุหลาบบนอาหารสูตร MS ที่เพาะเลี้ยง เป็นเวลา 1 เดือน	12
4	ผลของสารยับยั้งการปลดปล่อยเอทิลีนที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณของต้นกุหลาบในสภาพปลอดเชื้อ	15
5	ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหารและออกซินที่มีต่อการชักนำออกราก	17
6	ผลของความเข้มข้นของผงถ่านและน้ำตาลที่มีต่อการชักนำออกราก	19
ส่วนที่ 2	**การพัฒนาพันธุ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์**	
7	อิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของกุหลาบ 4 พันธุ์	20
8	อิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ที่มีต่อลักษณะการกลายของสีดอก	21
9	อิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ที่มีต่อการเจริญเติบโตของกุหลาบ 4 พันธุ์	22
10	ความแตกต่างของกุหลาบพันธุ์ KARDINAL สีต่าง ๆ ที่ได้รับปริมาณรังสี 10 เกรย์	23
11	อิทธิพลของรังสีแกมม่าที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนตา	26
12	อิทธิพลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเจริญเติบโตของกุหลาบ 4 พันธุ์	27

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
ส่วนที่ 1	**การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**	
1	การฉายรังสีเอ็กซ์แบบเฉียบพลัน(acute irradiation) โดยใช้เครื่อง Sofron รุ่น SVR-1005CX	7
2	การบรรจุตากุหลาบเพื่อส่งไปฉายรังสีที่ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	8
3	ตาข้างของกุหลาบพันธุ์ Dallas ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm	10
4	แคลลัสของตาข้างกุหลาบพันธุ์ Dallas ที่เกิดขึ้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 ppm ร่วมกับ NAA 1 ppm	10
5	ตาข้างระยะแตกต่างกัน ของกุหลาบพันธุ์ Dallas ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm เป็นเวลา 1 เดือน	11
6	ต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 ppm	13
7	ต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 ppm	13
8	ต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 1 ppm เพื่อเพิ่มปริมาณต้นก่อน การทดลองชักนำให้เกิดราก	13
9	อาการเหลืองของต้นอ่อนกุหลาบในสภาพปลอดเชื้อในขณะเพิ่มปริมาณต้น	14
10	ผลของสารยับยั้งการเกิดเอทิลีนแต่ละชนิด ได้แก่ ก) $AgNO_3$, ข) GA_3, ค) STS และ ง)$CoCl_2$	16
11	ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหารและออกซินที่แตกต่างกันที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากพบว่าอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม IAA 0.5 ppm สามารถชักนำให้เกิดรากดีที่สุด	17
12	ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและผงถ่านที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดราก พบว่าอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม IAA 0.5 ppm ร่วมกับผงถ่านและน้ำตาล 3% สามารถชักนำให้เกิดรากดีที่สุด	18

ภาพที่		หน้า
ส่วนที่ 2	**การพัฒนาพันธุ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์**	
13	การเกิดการกลายพันธุ์ในกุหลาบพันธุ์ KARDINAL ก.) แถบขีดสีส้ม ข.) แถบสีชมพู	20
14	การกลายของสีดอกจากแถบขีดสีชมพูเป็นสีชมพูทั้งดอกในกุหลาบพันธุ์ KARDINAL เมื่อเปรียบเทียบกับกุหลาบพันธุ์ที่ไม่ได้ฉายรังสี	21
15	การบันทึกการให้ผลผลิตของกุหลาบ 4 พันธุ์ ได้แก่ KARDINAL, ROYAL BACCARA, DALLAS และ FIRST RED	22
16	การเจริญเติบโตของกุหลาบที่ผ่านการฉายรังสีเอ็กซ์ ก.) KARDINAL, ข.) DALLAS, ค.) FIRST RED, ง.) BLACK MAGIC	22
17	การกลายพันธุ์ของกุหลาบพันธุ์ KARDINAL ก.) สีแดงเดิม ข.) สีชมพู ค.) สีบานเย็น	23
18	กุหลาบพันธุ์ KARDINAL ที่กลายเมื่อเปรียบเทียบกับกุหลาบพันธุ์ KARDINALเดิมสีแดง (กลาง) กับ KARDINAL สีชมพูและสีบานเย็น ในลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ ก) สีดอก, ข) ขนาดดอก, ค) ความยาวก้านดอก และ ง) จำนวนกลีบดอก	24
19	การกลายพันธุ์อย่างต่อเนื่องของกุหลาบพันธุ์ KARDINAL สีบานเย็น ก.) ดอกใหม่ที่เกิดจากกิ่งที่กลายสีบานเย็นเปลี่ยนเป็นสีชมพูทั้งดอก ข.-ค.) ตาจากกิ่งที่มีดอกสีบานเย็นดอกเปลี่ยนกลับมาเป็นสีแดง	24
20	กุหลาบพันธุ์ First Red กลายสีชมพู (ซ้าย) ที่ปริมาณรังสี 10 เกรย์ เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้ฉายรังสีเอ็กซ์ (ขวา)	25
21	การกลายพันธุ์กุหลาบหลังจากฉายรังสีแกมมาในระยะแรกของกุหลาบพันธุ์ต่าง ๆ ก.-ข.)กุหลาบพันธุ์ DALLAS ค.) กุหลาบพันธุ์ BLACK MAGIC ง.) กุหลาบพันธุ์ FIRST RED	26
22	กุหลาบพันธุ์ DALLAS กลายสีชมพูจากรังสีแกมมา 4 กิโลเรด ก.-ข.) DALLAS สีชมพูเข้ม, ค.-ง.) DALLAS เลื้อยสีชมพูอ่อน	28
23	กุหลาบพันธุ์ BLACK MAGIC กลายสีบานเย็นจากรังสีแกมมา 8 กิโลเรด ก.)เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้ฉายรังสีรังสีแกมมา ข.)ขณะดอกตูม และ ค.) ขณะดอกบาน	28
24	กุหลาบพันธุ์ FIRST RED กลายสีชมพูจากรังสีแกมมา 6 กิโลเรด ก.) เปรียบเทียบกับทีไม่ได้ฉายรังสีรังสีแกมมา ข.)ขณะดอกตูม และ ค.) ขณะดอกบาน	29
25	กุหลาบพันธุ์ FIRST RED ที่มีการกลายพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ ก) สีดอกเดิมแต่ไม่มีหนาม, ข) ทรงดอกเปลี่ยนแต่ไม่มีหนาม, ค) ใบย่อยปกติของต้นที่มีหนาม และ ง) ใบย่อยไม่มีหนามของต้นกลายไม่มีหนาม	29

โครงการหลวง

การพัฒนาพันธุ์กุหลาบโดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์และการขยายพันธุ์กุหลาบโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Rose improvement through induced mutation and micropropagation of rose

วชิระ เกตุเพชร พินทรัตน์ แสนใจเป็ง พรพิมล ไชยมาลา และธวัช อุปมา

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ โดยศึกษาอิทธิพลของ BA ร่วมกับ NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นของการเพาะเลี้ยงตาข้างกุหลาบ พบว่าอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม BA 2.0 ppm สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดต้นได้ดีที่สุด (1.60 ต้น/ชิ้นส่วน) การศึกษาอิทธิพลของระยะตาข้างที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้น พบว่าตาระยะที่ยอดมีดอกเริ่มแย้มเป็นระยะที่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุด (2.80 ต้น/ชิ้นส่วน) การศึกษาอิทธิพลของ BA และ TDZ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้น พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 ppm สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเพิ่มปริมาณต้นได้มากที่สุด (3.80 ต้น/ชิ้นส่วน) การศึกษาผลของสารยับยั้งการปลดปล่อยเอทิลีน 4 ชนิด ได้แก่ $AgNO_3$, GA_3, STS และ $CoCl_2$ ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เติมลงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 ppm ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเติม STS ความเข้มข้น 1.0 ppm สามารถลดการเกิดอาการเหลืองในขณะเพิ่มปริมาณได้ดีที่สุด สำหรับการศึกษาผลของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก โดยศึกษาผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและออกซิน พบว่าอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 0.5 ppm สามารถชักนำให้เกิดรากดีที่สุด เมื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของผงถ่านและน้ำตาล พบว่า การเติมผงถ่าน 2 กรัม/ลิตร และน้ำตาล 3 %ลงในอาหารสูตรเดิมให้ผลดีที่สุดในการชักนำให้ออกราก

สำหรับการพัฒนาพันธุ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสี ในการศึกษาอิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ ปริมาณ 0 และ 10 เกรย์ที่มีต่อกุหลาบตัดดอก 4 พันธุ์ ผลการทดลองปรากฏว่าปริมาณรังสี 10 เกรย์ มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนตาดังนี้ คือพันธุ์ KARDINAL (68.57%), ROYAL BACCARA (65.71%), FIRST RED (47.14%) และ DALLAS (41.43%) ในขณะที่ปริมาณรังสี 0 เกรย์ ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ในด้านการกลายของสีดอก พบว่าปริมาณรังสี 10 เกรย์ สามารถชักนำให้สีดอกกลายได้ดังนี้ คือ KARDINAL (90.91%), ROYAL BACCARA (44.44%), DALLAS (14.29%) และ FIRST RED (7.69%) ในด้านการเจริญเติบโต พบว่าปริมาณรังสี 10 เกรย์ โดยส่วนใหญ่สามารถชักนำให้ขนาดดอก ขนาดก้านดอก และจำนวนกลีบลดลง การตัดส่วนของกุหลาบหลาย ๆ ครั้ง พบว่าสามารถกระตุ้นให้กุหลาบพันธุ์ KARDINAL

เดิมเป็นสีแดงกลายเป็นกุหลาบสีชมพูและสีบานเย็น ซึ่งพบว่ามีสี ขนาดดอก ความยาวก้านช่อดอก ขนาดคอดอกจำนวนกลีบ ต่างจากพันธุ์เดิม ในการศึกษาอิทธิพลของรังสีแกมมาอัตรา 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลเรด พบว่า Lethal Dose (LD_{50}) ในแต่ละพันธุ์ต่างกันในแต่ละพันธุ์และในแต่ละปริมาณรังสี โดยที่พันธุ์ DALLAS จะมี LD_{50} อยู่ที่ 4 กิโลเรด พันธุ์ ROYAL BACCARA และ FIRST RED จะอยู่ที่ 8 กิโลเรด ส่วนพันธุ์ BLACK MAGIC จะมี LD_{50}อยู่ที่ 2-4 กิโลเรด การตัดส่วนของกุหลาบหลาย ๆ ครั้ง พบว่าสามารถกระตุ้นให้กุหลาบพันธุ์ DALLAS ที่4 กิโลเรด กลายเป็นสีชมพูเข้มและสีชมพูอ่อนเลื้อย พันธุ์ BLACK MAGIC ที่ 8 กิโลเรด กลายเป็นสีบานเย็น และพันธุ์ FIRST RED ที่ 6 กิโลเรดกลายเป็นสีชมพู

โครงการหลวง

Abstract

This research emphasized on micropropagation of Rose. Effects of BA and NAA for shoot initiation were investigated. The optimum shoot initiation medium was Murashige and Skoog (MS) supplemented with 2.0 ppm BA (1.60 shoots/explants). Effects of buds stage for shoot induction were studied. The shoot induction was best on bud with flower in semi-open bloom. It gave 2.80 shoots/explants. Effect of BA and TDZ for rapid multiplications though shoot culture were emphasized. The best result showed that MS supplemented with 1.0 ppm BA (2.80 shoots/explants). Effects on 4 kind of Ethylene inhibitor ($AgNO_3$, GA_3, STS and $CoCl_2$) in various combinations for rapid multiplication added into Murashige and Skoog medium (MS) supplemented with 1.0 ppm BA were investigated. The result was that 1.0 ppm STS gave the best result. Effects of nutrient and auxin concentrations for root induction were studied. The best result showed that ½ MS supplemented with 0.5 ppm IAA. Effect of activated charcoal and sucrose concentration for root induction were emphasized. The root induction was best on combination of 2 g/l activated charcoal and 3% sucrose

With in the scope of rose mutation breeding programme on four varieties when applying X-ray doses 0 and 10 Gy to bud segments. It proved 10 gays affected on survival of budding. It showed that survival percentage as KARDINAL (68.57%), ROYAL BACCARA (65.71%), FIRST RED (47.14%) and DALLAS (41.43%). The result showed that mutant percentage as KARDINAL (90.91%), ROYAL BACCARA (44.44%), DALLAS (14.29%) and FIRST RED (7.69%). The X-ray doses 10 Gy affected on growth of rose mutant reduced size, number of petals and size of receptacle although increased flowers necks and flowers stem. It showed that on KARDINAL gave 2 mutants (pink and salmon pink) and FIRST RED gave 1 mutant (deep pink) with different color, flower size, stem length, size of receptacle and number of petals. For gamma irradiation of rose mutation breeding programmes on four varieties when applying γ-ray doses 0, 2, 4, 6, 8 and 10 Krad to bud segments on lethal dose (LD_{50}) will investigated. The results were that affected depend on doses and varieties. The results were that lethal dose as DALLAS (4 Krads), ROYAL BACCARA and FIRST RED (8 Krads) and BLACK MAGIC (2-4 Krads). It showed that on DALLAS (4 Krads) gave 2 mutants (deep pink and light pink climber rose), BLACK MAGIC (8 Krads) gave 1 mutant (salmon pink) and FIRST RED (6 Krads) gave 1 mutant (pink).

บทนำ

ความสำคัญและความเป็นมาของโครงการ

กุหลาบเป็นพืชส่งเสริมที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งของฝ่ายงานไม้ดอก มูลนิธิโครงการหลวง โดยจัดเป็นพืชที่อยู่ในแผนแม่บท 5 ปี ในการขยายงานผลิตสู่ส่งเสริมและแผนกำหนดทิศทางการวิจัยในระยะ 5 ปี ปัจจุบันฝ่ายงานไม้ดอก ต้องการเทคโนโลยีในการพัฒนาพันธุ์กุหลาบใหม่และเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์จำนวนมากเพื่อใช้ในงานส่งเสริม จากการตรวจเอกสารพบว่าได้มีผู้วิจัยหลายท่านได้นำเทคนิคในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ร่วมกับการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสีในการพัฒนาพันธุ์กุหลาบ โดยเสริมข้อดีข้อเสียของทั้งสองเทคนิคเข้าด้วยกัน (Walther and Sauer, 1986; Ibrahim and Debergh, 1998; Rout et al., 1999) กล่าวคือการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสีโดยปกติมักมีเปอร์เซ็นต์การตายสูง เปอร์เซ็นต์รอดชีวิตต่ำ ตลอดจนต้นที่รอดชีวิตมีเปอร์เซ็นต์การกลายต่ำ การพัฒนาของไคเมอร่าของต้นกลายเกิดขึ้นกระจายไม่ได้เกิดขึ้นทั้งชิ้นส่วน นอกจากนี้เมื่อนำไปคัดเลือกในสภาพแปลงปลูก พบว่ามีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนตา ได้แก่ ปริมาณรังสี ความต้านทานรังสีของแต่ละพันธุ์ และฝีมือผู้ขยายพันธุ์ ในขณะที่เมื่อนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ จะทำให้เปอร์เซ็นต์รอดชีวิตของชิ้นส่วนที่ผ่านการฉายรังสีมีโอกาสรอดชีวิตสูงขึ้น โอกาสการตายต่ำลง การเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ มีการเพิ่มต้นพันธุ์จำนวนมากได้โดยตรงจากจุดกำเนิดในสภาพปลอดเชื้อ ที่ควบคุมสภาพแวดล้อม ซึ่งรวดเร็วกว่าการปลูกในสภาพแปลง ทำให้โอกาสในการพัฒนาของไคเมอร่าเกิดขึ้นได้รวดเร็ว ทำให้การเช็คผลและปลูกทดสอบรวดเร็วยิ่งขึ้น ในต่างประเทศมีการรายงานด้านการประสบความสำเร็จในพัฒนาพันธุ์กุหลาบกันมาบ้างแล้ว ดังเช่น Jame (1983) สามารถประสบความสำเร็จในการพัฒนาพันธุ์กุหลาบกลายพันธุ์ พันธุ์ Paula จากพันธุ์ Queen Elizabeth และพันธุ์ Pink Hat จากกุหลาบฟลอริบันด้า *(R. floribunda)* อย่างไรก็ตามการนำเทคนิคทั้งสองมาใช้สำหรับมูลนิธิ ฯ เป็นสิ่งใหม่ ในการวิจัยนี้สนใจที่จะศึกษาเทคนิคพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยจะศึกษาในเรื่องสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้น การเพิ่มปริมาณต้น การชักนำให้เกิดราก การนำยอดที่ได้ไปติดตากับต้นตอ ร่วมกับการศึกษาผลของรังสีเอ็กซ์ และแกมมาที่มีต่อการพัฒนาและเจริญเติบโตของชิ้นสวนตากุหลาบที่ผ่านการฉายรังสีในสภาพปกติ ผลที่ได้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธ์กุหลาบโดยวิธีการฉายรังสี ร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอนาคตต่อไป

การพัฒนาพันธุ์โดยวิธีกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ ได้รับการยอมรับและมีความจำเป็นมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อไม่อาจหาลักษณะที่ต้องการจากธรรมชาติได้เร็วพอ ลักษณะใหม่ที่ได้จากการพัฒนาพันธุ์ที่เกิดจากการกลายพันธุ์มีทั้งลักษณะทรงต้น การต้านทานโรคและแมลง สีดอก และอื่น ๆ ลักษณะเหล่านี้อาจใช้ประโยชน์เพื่อเป็นพันธุ์ใหม่ได้โดยตรงหรือผสมกับพันธุ์อื่น ๆ เพื่อพัฒนาพันธุ์ใหม่ต่อไป การกลายพันธุ์สามารถที่จะเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติหรือจากการฉายรังสี

ได้ มีผลทำให้สีดอกหรือลักษณะอื่น ๆ เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งวิธีการฉายรังสีได้รับความนิยมจากนักปรับปรุงพันธุ์เนื่องจากเป็นวิธีการที่ง่ายและรวดเร็ว และได้พันธุ์ใหม่ที่เป็นการค้ามากมายโดยมีสีที่ต่างไปจากพันธุ์เดิม แต่ยังคงมีความใกล้เคียงกันในเรื่องผลผลิตและคุณภาพ ทำให้ในขั้นตอนการประเมินพันธุ์ทำได้สะดวก ไม่ยุ่งยาก เพราะมีผลผลิตและคุณภาพใกล้เคียงกับพันธุ์เดิมอยู่แล้ว สำหรับลักษณะการกลายพันธุ์อาจเปลี่ยนสี เช่น จากแดงเป็นชมพู เช่น พีช กลายเป็นชิคาโกพีช เปลี่ยนสีเป็นแถบหรือลายเส้น เช่น มิสออลอเมริกันบิวตี้ชมพูกลายเป็นชมพูลาย เปลี่ยนเป็นกุหลาบเลื้อย เช่นพีช กลายเป็นพีชเลื้อย บางลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปสามารถจดทะเบียนเป็นพันธุ์ใหม่ได้ เช่น ยุโรปา(ชมพู) กลายเป็นฟลอเร้นซ์ (ขาว) โยนีน่า (ขาว) กลายเป็นชมพู พ.น. เป็นต้น ซึ่งเมื่อเอาตาจากกิ่งที่กลายพันธุ์ไปติดตาใหม่ จะได้พันธุ์ที่กลายขยายต่อไปได้ แต่ก็มีโอกาสกลายกลับไปเป็นลักษณะพันธุ์เดิมได้อีก เรียกว่ายังคงมีความไม่คงตัวนั่นเอง ด้วยเหตุนี้การติดตาทดสอบจึงมีความจำเป็น เพราะจะทำให้ทราบว่าลักษณะที่กลายนั้นคงตัวเพียงพอที่ใช้เป็นพันธุ์ปลูกต่อไปหรือไม่ ซึ่งอาจมีการกลายพันธุ์ต่อเนื่อง หรือเปลี่ยนกลับเป็นลักษณะเดิมก็ได้ ในที่นี้จึงมีความจำเป็นต้องมีการทดสอบต่อไป

วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อศึกษาการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ในกุหลาบโดยการฉายรังสี

2.2 เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์กุหลาบโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ดีเพื่อส่งเสริมเกษตรกร

วิธีการดำเนินการวิจัย

แบ่งการวิจัยออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้ คือ

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.1 อิทธิพลของ BA ร่วมกับ NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างเกิดต้น

นำชิ้นส่วนตาข้างของกุหลาบพันธุ์ DALLAS มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ตามลำดับ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 6 ครั้ง หลังจากนั้นเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ppm ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 ppm ตามลำดับ ทำการปรับความเป็นกรดและด่างให้เท่ากับ 5.7-5.8 และเติมวุ้น 7 กรัม/ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่ควบคุมความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว และอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25$\pm$3 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาพที่ได้รับแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16

ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 1 เดือน ทำการบันทึก จำนวนต้น/ชิ้นส่วน จำนวนใบ/ต้น ความสูงต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส

1.2 อิทธิพลของระยะของตาข้างที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างเกิดต้น

นำชิ้นส่วนตาข้างกุหลาบพันธุ์ DALLAS ระยะที่แตกต่างกัน 6 ระยะ ได้แก่ ระยะยอดอ่อน, ระยะยอดมีดอกอ่อน, ระยะยอดมีดอกตูม, ระยะยอดมีดอกเริ่มแย้ม, ระยะยอดมีดอกบาน และระยะยอดมีดอกที่ร่วงโรย มาฟอกฆ่าเชื้อตามวิธีของการทดลองที่ 1 หลังจากนั้นเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ให้ผลดีที่สุดในการทดลองที่ 1 นำไปเลี้ยงในสภาพเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เป็นเวลา 1 เดือน ทำการบันทึก จำนวนต้น/ชิ้นส่วน จำนวนใบ/ต้น ความสูงต้น เปอร์เซ็นต์การเพิ่มปริมาณต้น

1.3 อิทธิพลของ BA และ TDZ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นของการเพาะเลี้ยงตาข้างกุหลาบ

นำชิ้นส่วนตาข้างจากสภาพปลอดเชื้อที่ได้จากสูตรอาหารที่ได้ผลดีที่สุดในการทดลองที่ 1 และ 2 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2 และ 4 ppm นำไปเลี้ยงในสภาพเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เป็นเวลา 1 เดือน ทำการบันทึก จำนวนต้น/ชิ้นส่วน จำนวนใบ/ต้น ความสูงต้น เปอร์เซ็นต์การเพิ่มปริมาณต้น

1.4 ผลของ Ethylene inhibitor ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้น

ศึกษาผลของ Ethylene inhibitor ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้น โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD with control จำนวน 17 ทรีตเมนต์ 16 ทรีตเมนต์ประกอบด้วย Ethylene inhibitor ได้แก่ $AgNO_3$, GA_3, STS และ $CoCl_2$ ในระดับความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5 และ 1.0 ppm เปรียบเทียบกับ control ที่เป็นอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 ppm

1.5 ผลของอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ออกราก

1.5.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต

ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD จำนวน 8 ทรีตเมนต์ ปัจจัยที่ 1 คือความเข้มข้นของธาตุอาหารในสูตร MS ได้แก่ ½ เท่า และ ¼ เท่า ปัจจัยที่ 2 คือสารควบคุมการเจริญเติบโต 4 แบบ ได้แก่ ไม่เติมสารควบคุมการเจริญ, IAA 0.5 ppm, NAA 0.1 ppm และ IAA 0.5 ppm+ NAA 0.1 ppm ทำการทดลองเป็นเวลา 1 เดือน

1.5.2 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและผงถ่าน

ศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและผงถ่าน โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD จำนวน 12 ทรีตเมนต์ จากอาหารที่ได้ผลดีที่สุดในงานทดลองเรื่องผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ปัจจัยที่ 1 คือความเข้มข้นของผงถ่าน ได้แก่ 0 และ 2 กรัม/ลิตร ปัจจัยที่ 2 คือความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 6 ระดับ ได้แก่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 % ทำการทดลองเป็นเวลา 1 เดือน

2. การพัฒนาพันธุ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์

2.1 อิทธิพลของรังสีเอ็กซ์

นำตากุหลาบตัดดอกจำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ DALLAS, FIRST RED, ROYAL BACCARA และ KARDINAL มาฉายรังสีเอ็กซ์แบบเฉียบพลัน (acute irradiation) โดยใช้เครื่อง Sofron รุ่น SVR-1005CX (ภาพที่ 1) โดยใช้ความต่างศักย์ 3 mA 70 KV ได้อัตรารังสี (dose rate) เท่ากับ 163.3 rad/นาที ที่ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในปริมาณรังสีเอ็กซ์ 2 ระดับ คือ 0 และ 10 เกรย์ จากนั้นนำตาที่ผ่านการฉายรังสีมาติดตาและปลูกเพื่อคัดเลือก โดยทำการตัดแต่งกิ่ง (cut back) หรือโน้มกิ่ง (bending) ไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งเนื้อเยื่อกลาย (chimera) เจริญเป็นส่วนเดียวกัน (M_1V_n) จากนั้นจึงนำตากลายที่ได้ไปติดตาต่อและปลูกคัดเลือกเรื่อย ๆ ทำการบันทึกผลเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต การเจริญเติบโตของต้นกลาย ได้แก่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก ความยาวก้านช่อดอก ขนาดก้านช่อดอก ขนาดคอดอก จำนวนกลีบ สีดอก

ภาพที่ 1 การฉายรังสีเอ็กซ์แบบเฉียบพลัน(acute irradiation)
โดยใช้เครื่อง Sofron รุ่น SVR-1005CX

2.2 อิทธิพลของรังสีแกมมา

นำตากุหลาบตัดดอกจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ DALLAS, FIRST RED, ROYAL BACCARA, BLACK MAGIC ไปฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) โดยใช้เครื่อง Gammater ที่มี Cs-137 เป็นแหล่งกำเนิดรังสี ในปริมาณรังสีแกมมา 6 ระดับ คือ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลเรด ที่ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ภาพที่ 2) นำตาที่ผ่านการฉายรังสีมาติดตาและปลูกเพื่อคัดเลือกและดำเนินการเช่นเดียวกับการศึกษาผลของรังสีเอ็กซ์ ทำการบันทึกผลเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพื่อหา 50 เปอร์เซ็นต์ของ Lethal Dose (LD_{50}) ลักษณะการผลผลิตของต้นกลาย ได้แก่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก ความยาวก้านช่อดอก ขนาดก้านช่อดอก ขนาดคอดอก จำนวนกลีบ สีดอก

ภาพที่ 2 การบรรจุตากุหลาบเพื่อส่งไปฉายรังสีที่ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมา และวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการวิจัย

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.1 อิทธิพลของ BA ร่วมกับ NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างเกิดต้น

จากการศึกษาอิทธิพลของ BA ร่วมกับ NAA ที่มีต่อการชักนำให้ตาข้างกุหลาบเกิดต้นบนอาหารสูตร MS พบว่าทุกสูตรอาหารสามารถชักนำให้เกิดต้นได้แตกต่างกัน โดยอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 ppm สามารถชักนำให้ตาข้างกุหลาบเกิดต้นได้ดีที่สุด (1.60 ต้น/ชิ้นส่วน) และมีจำนวนใบ/ต้นมากที่สุด (8.00 ใบ/ต้น) สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีความสูงต้นมากที่สุด (3.10 ซม.) (ตารางที่ 1 และภาพที่ 3) ความเข้มข้นของ NAA ที่เพิ่มมากขึ้น มีแนวโน้มชักนำให้ชิ้นส่วนตาข้างเกิดต้นได้ลดลง เช่นเดียวกับในด้านจำนวนใบ/ต้นและความสูงต้นที่มีแนวโน้มเป็นไปในทำนองเดียวกัน ในขณะที่ความเข้มข้นของ NAA ที่เพิ่มมากขึ้นมีแนวโน้มชักนำให้เกิดแคลลัสเพิ่มมากขึ้น ส่วนความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มมากขึ้นมีแนวโน้มชักนำให้ความ

สูงต้นลดลง สูตรอาหาร MS ที่เติม BA เพียงอย่างเดียวจะสามารถชักนำให้เกิดต้นเพียงอย่างเดียวในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA จะเกิดได้ทั้งต้นและแคลลัส โดยที่เมื่อเติม NAA ในความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้นจะมีแนวโน้มชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้มากขึ้น (ภาพที่ 4)

ตารางที่ 1 อิทธิพลของ BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างกุหลาบเกิดต้นบน อาหารสูตร MS ที่เพาะเลี้ยง เป็นเวลา 1 เดือน

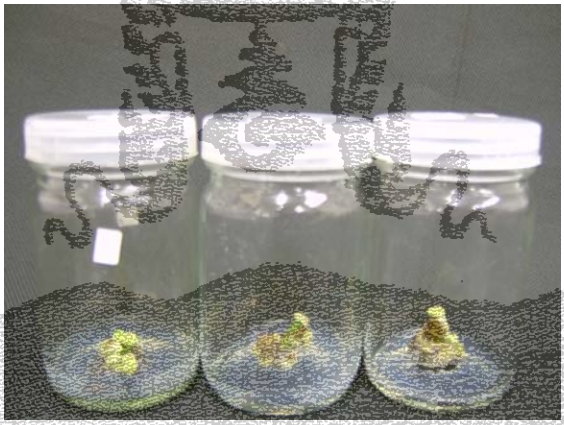
BA (ppm)	NAA (ppm)	จำนวนต้น/ชิ้นส่วน	การเกิดต้น (%)	จำนวนใบ/ต้น	ความสูงต้น (ซม.)	การเกิดแคลลัส (%)
0	0	1.00(1.225)ab	100	4.40(2.193)bc	3.10(1.893)a	0
	0.1	0.80(1.121)bc	80	2.80(1.738)c-e	1.80(1.464)bc	20
	0.5	0.20(0.811)de	20	1.40(1.113)ef	0.50(0.912)de	80
	1	0.00(0.707)e	0	0.00(0.707)f	0.00(0.707)e	100
0.5	0	1.00(1.225)ab	100	6.60(2.661)ab	2.28(1.648)ab	0
	0.1	1.00(1.225)ab	100	8.60(3.013)a	2.96(1.854)ab	40
	0.5	0.60(1.018)b-d	60	1.80(1.384)d-f	0.90(1.127)c-e	80
	1	0.40(0.914)c-e	40	0.80(1.057)ef	0.60(0.9854)de	80
1	0	1.00(1.225)ab	100	4.40(2.202)bc	2.44(1.711)ab	0
	0.1	0.40(0.914)c-e	40	1.00(1.225)ef	0.70(1.023)de	60
	0.5	0.00(0.707)e	0	0.00(0.707)f	0.00(0.707)de	100
	1	0.00(0.707)e	0	0.00(0.707)f	0.00(0.707)de	100
2	0	1.60(1.439)a	100	8.00(2.911)a	2.66(1.771)ab	0
	0.1	1.00(1.225)ab	100	6.40(2.626)ab	2.62(1.762)ab	0
	0.5	0.20(0.811)de	20	0.40(0.882)f	0.24(0.8264)e	100
	1	0.20(0.811)de	20	1.40(1.113)ef	0.40(0.882)de	80
3	0	1.00(1.225)ab	100	6.00(2.541)ab	1.60(1.447)bc	0
	0.1	0.80(1.121)bc	40	4.20(2.121)bc	1.66(1.462)bc	80
	0.5	0.60(1.018)b-d	60	4.40(1.959)b-d	1.24(1.244)cd	40
	1	0.00(0.707)e	0	0.00(0.707)f	0.00(0.707)e	100
F-test		**		**	**	
C.V. (%)		17.59		30.15	22.85	

<u>หมายเหตุ</u>

*, ** ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตัวเลขในที่อยู่ในวงเล็บเป็นข้อมูลที่ผ่านการแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root X+0.5

ภาพที่ 3 ตาข้างของกุหลาบพันธุ์ Dallas ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm (ขวดที่ 3 จากซ้าย)



ภาพที่ 4 แคลลัสของตาข้างกุหลาบพันธุ์ Dallas ที่เกิดขึ้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 ppm ร่วมกับ NAA 1 ppm

1.2 อิทธิพลของระยะของตาข้างที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างเกิดต้น

จากการศึกษาอิทธิพลของตาข้างระยะแตกต่างกัน ที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างกุหลาบเกิดต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.0 ppm (ตารางที่ 2 และภาพที่ 5) พบว่าการนำตาข้างกุหลาบในระยะที่ยอดมีดอกเริ่มแย้มจะสามารถชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุด (2.80 ต้น/ชิ้นส่วน) และใกล้เคียงกับการนำตาข้างระยะที่ยอดมีดอกร่วงโรยมาเพาะเลี้ยง (2.60 ต้น/ชิ้นส่วน) ในด้านของการเพิ่มปริมาณสามารถเรียงลำดับการเพิ่มปริมาณจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ คือ ยอดมีดอกเริ่มแย้ม (100%), ยอดมีดอกร่วงโรย (80%), ยอดมีดอกอ่อน (60%), ยอดมีดอกตูม (40%) ส่วนยอดมีดอกบานและยอดอ่อน พบว่ามีการเพิ่มปริมาณได้เท่ากัน (20%) ในด้านความสูงต้น พบว่าสามารถเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ คือ ยอดมีดอกตูม (3.38 ซม.), ยอดมีดอกเริ่มแย้ม (2.88 ซม.), ยอดมีดอกร่วงโรย (2.24 ซม.), ยอดมีดอกอ่อน (2.06 ซม.), ยอดอ่อน (1.30 ซม.) และยอดมีดอกบาน (0.80 ซม.) ตามลำดับ สำหรับในด้านจำนวนใบ/ต้น พบว่าตาข้างยอดมีดอกร่วงโรยให้จำนวนใบ/

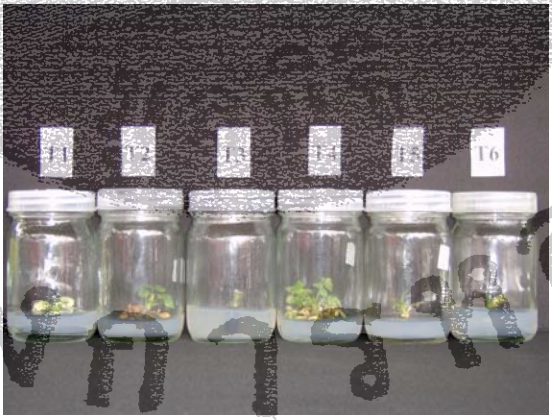
ต้นมากที่สุด (6.26 ใบ/ต้น) ซึ่งใกล้เคียงกับตาข้างระยะยอดอ่อน, ระยะยอดมีดอกอ่อน และยอดมีดอกตูม ที่มีจำนวนใบ/ต้น 5.60, 5.06 และ 5.26 ใบ/ต้น ตามลำดับ รองลงมาคือ ระยะยอดมีดอกเริ่มแย้ม 4.70 ใบ/ต้น และน้อยที่สุด คือ ตาข้างระยะดอกบาน 3.20 ใบ/ต้น

ตารางที่ 2 อิทธิพลของตาข้างระยะแตกต่างกันที่มีผลต่อการชักนำให้ตาข้างกุหลาบเกิดต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.0 ppm ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

ระยะของตาข้าง	จำนวนต้น/ชิ้นส่วน	การเพิ่มปริมาณต้น (%)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนใบ/ต้น
ยอดอ่อน	1.20 b	20	1.30 cd	5.60 a
ยอดมีดอกอ่อน	1.80 ab	60	2.06 bc	5.06 a
ยอดมีดอกตูม	2.20 ab	40	3.38 a	5.26 a
ยอดมีดอกเริ่มแย้ม	2.80 a	100	2.88 ab	4.70 ab
ยอดมีดอกบาน	1.20 b	20	0.80 d	3.20 b
ยอดมีดอกร่วงโรย	2.60 a	80	2.24 bc	6.26 a
F-test	*		**	**
C.V. (%)	48.33		33.49	25.85

หมายเหตุ

*, ** ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %



ภาพที่ 5 ตาข้างระยะแตกต่างกัน ของกุหลาบพันธุ์ Dallas ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm เป็นเวลา 1 เดือน

1.3 อิทธิพลของ BA และ TDZ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นของการเพาะเลี้ยงตาข้างกุหลาบ

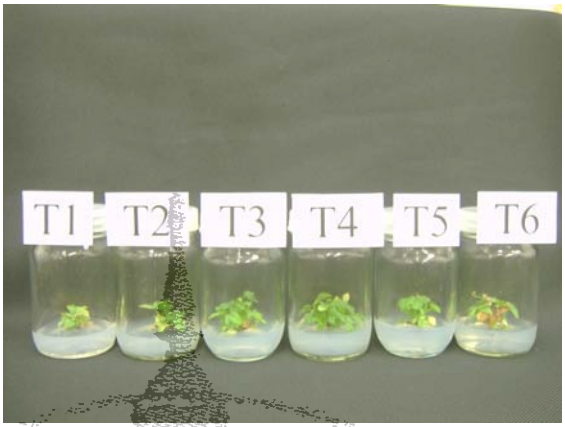
จากการศึกษาอิทธิพลของ BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นในการเพาะเลี้ยงตาข้างกุหลาบบนอาหารสูตร MS (ตารางที่ 3) ผลระหว่าง BA และ TDZ

พบว่าโดยส่วนใหญ่ BA จะให้ผลดีกว่า TDZ ในด้านจำนวนต้น/ชิ้นส่วนและเปอร์เซ็นต์การเพิ่มปริมาณต้น (ภาพที่ 6) ในขณะที่ TDZ จะให้ผลดีกว่า BA ในเรื่องจำนวนใบและความสูงต้น (ภาพที่ 7) การเปรียบเทียบในด้านความเข้มข้นของไซโตไคนิน พบว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มชักนำให้เพิ่มปริมาณต้นได้มากขึ้น ในขณะที่มีผลทำให้ความสูงลดลง จากการเปรียบเทียบจำนวนต้น/ชิ้นส่วน พบว่าอาหารที่เติม BA 1.0 ppm สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเพิ่มปริมาณได้มากที่สุด 3.8 ต้น/ชิ้นส่วน และสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ 100 % ส่วนในด้านจำนวนใบ/ต้น พบว่าอาหารที่เติม TDZ 2.0 ppm สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนมีจำนวนใบ/ต้นมากที่สุด 7.100 ใบ/ต้น และสำหรับในด้านความสูงต้น พบว่าอาหารที่เติม TDZ 0.5 ppm ให้ค่าเฉลี่ยความสูงต้นมากที่สุด 1.588 ซม. และได้เพิ่มปริมาณต้น เพื่อใช้ในการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากต่อไป (ภาพที่ 8)

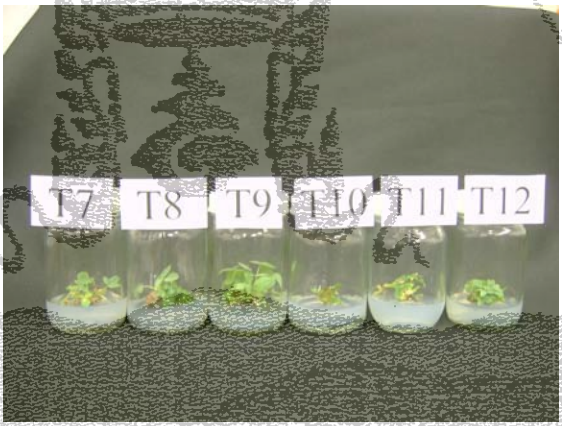
ตารางที่ 3 อิทธิพลของ BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นในการเพาะเลี้ยงตาข้างกุหลาบบนอาหารสูตร MS ที่เพาะเลี้ยง เป็นเวลา 1 เดือน

ไซโตไคนิน	ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนต้น/ชิ้นส่วน	การเพิ่มปริมาณต้น (%)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนใบ/ต้น
BA	0	2.0 c	80	1.044 b	4.934 a-c
	0.1	2.8 a-c	100	0.898 b	4.082 c
	0.5	2.4 bc	80	1.290 ab	6.550 ab
	1.0	3.8 a	100	0.900 b	4.200 bc
	2.0	3.6 ab	100	1.042 b	3.950 c
	4.0	3.2 a-c	100	1.056 b	4.850 a-c
TDZ	0	2.0 c	80	1.044 b	4.934 a-c
	0.1	2.2 bc	60	1.040 b	4.600 bc
	0.5	2.4 a-c	80	1.588 a	5.532 a-c
	1.0	1.8 c	60	1.310 ab	6.634 ab
	2.0	2.0 c	60	1.012 b	7.100 a
	4.0	3.6 ab	100	0.914 b	4.580 bc
F-test		**		*	**
C.V. (%)		36.46		26.73	32.03

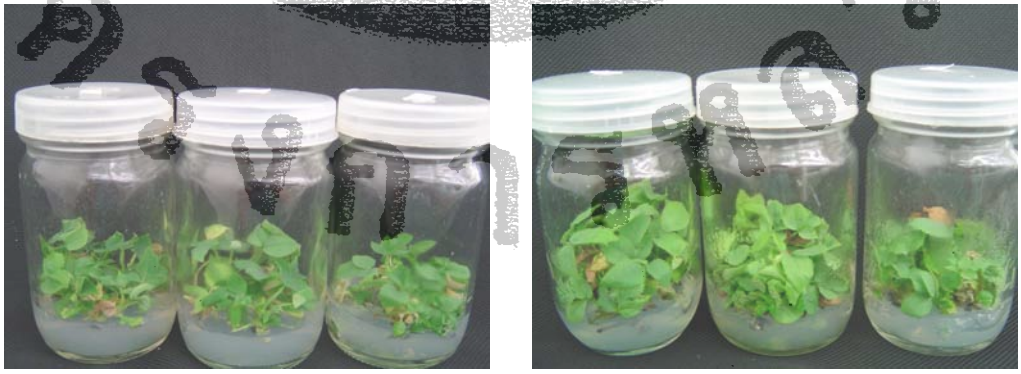
หมายเหตุ *, ** ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %



ภาพที่ 6 ต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 ppm (จากซ้ายมาขวา)



ภาพที่ 7 ต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 ppm (จากซ้ายมาขวา)



ภาพที่ 8 ต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 1 ppm เพื่อเพิ่มปริมาณต้นก่อนทดลองชักนำให้เกิดราก (ภาพขวาคือภาพก่อนเพาะเลี้ยงและภาพซ้ายคือหลังเพาะเลี้ยง)

1.4 ผลของ Ethylene inhibitor ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้น

จากงานทดลองที่ผ่านมา (อดิศรและคณะ, 2547) พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 ppm มีความเหมาะสมที่สุดในการเพิ่มปริมาณต้นมากกว่าสูตรอื่น แต่ในขณะเพาะเลี้ยงพบว่าต้นกุหลาบมีอาการเหลืองเพิ่มมากขึ้นก่อนถ่ายขวดเสมอ (ภาพที่ 9) จึงมีความสนใจศึกษาสารยับยั้งการปลดปล่อยเอทิลีน ซึ่งอาจมีผลทำให้การเพิ่มปริมาณรวดเร็วขึ้น ต้นไม่ซีดเหลืองสามารถเพิ่มปริมาณได้เต็มขวดโดยไม่ต้องถ่ายขวดบ่อย ๆ

จากตารางที่ 4 พบว่าสารยับยั้งการปลดปล่อยเอทิลีนแต่ละชนิดจะไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ สารที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ดีที่สุด คือ STS และ GA_3 โดยพบว่า STS ความเข้มข้น 1.0 ppm สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดต้นได้มากที่สุด 2.60 ต้น/ชิ้นส่วน มีการเพิ่มปริมาณได้ 70% ในด้านจำนวนใบ/ต้น พบว่า $AgNO_3$ จะมีผลต่อจำนวนใบ/ต้นมากกว่าสารอื่น และเมื่อเปรียบเทียบกับทุกสูตรพบว่า $CoCl_2$ ความเข้มข้น 0.25 ppm มีจำนวนใบมากที่สุด ในด้านความสูงต้น พบว่า $AgNO_3$ จะมีผลต่อความสูงเช่นกัน โดยพบว่าความสูงต้นมากที่สุด 1.79 ซม. เมื่อได้รับ $AgNO_3$ 0.25 ppm ซึ่งจะเห็นได้ว่าความเข้มข้นที่ 0.25 ppm จะมีผลต่อจำนวนใบ/ต้นและความสูงต้นมากกว่าความเข้มข้นอื่น

ภาพที่ 9 อาการเหลืองของต้นอ่อนกุหลาบในสภาพปลอดเชื้อในขณะเพิ่มปริมาณต้น

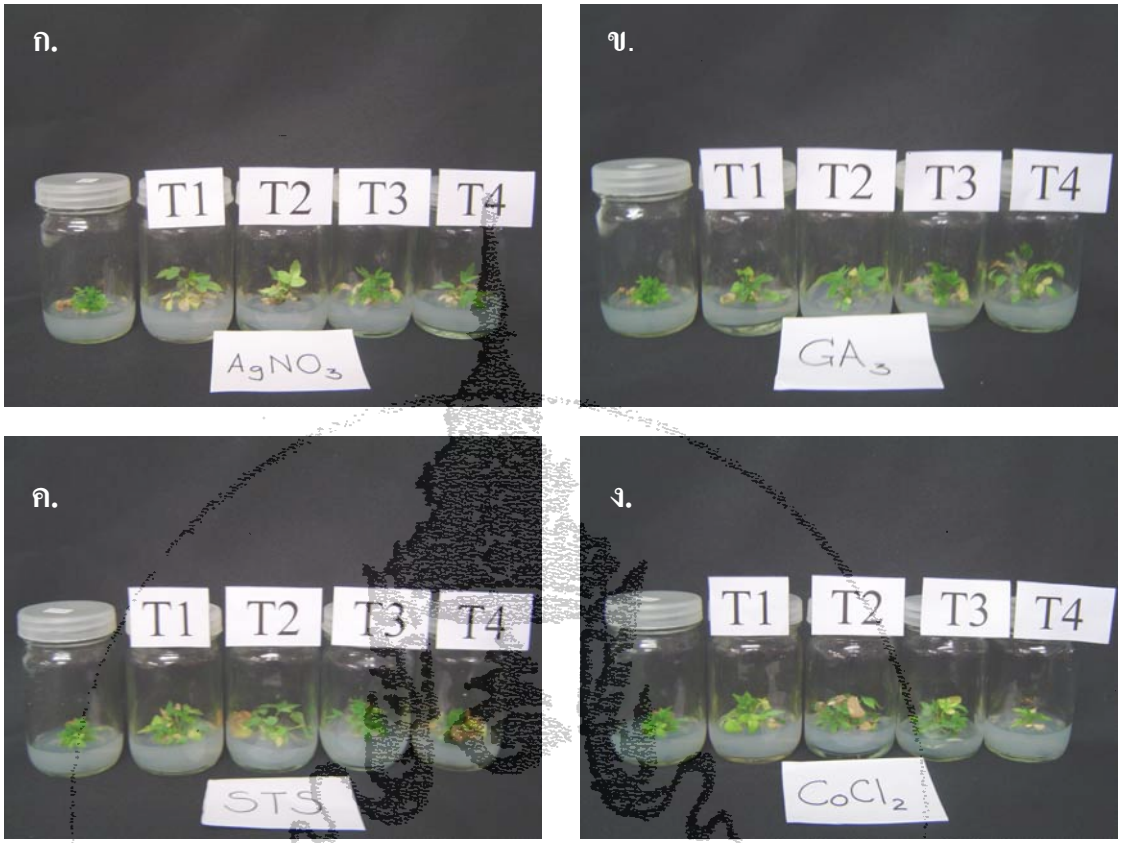
ในด้านการลดอาการเหลืองของต้นพบว่าสามารถเรียงลำดับสารที่สามารถลดอาหารเหลืองได้ดังนี้ STS> GA_3> $CoCl_2$=Control > $AgNO_3$ ในด้านของการลดอาการเหลืองพบว่า STS ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 ppm ให้ผลดีที่สุดมากกว่าสารอื่น ๆ สำหรับการใช้สารยับยั้งการปลดปล่อยเอทิลีน พบว่าหากใช้สารความเข้มข้นสูงอาจก่อให้เกิดผลเสียได้ เช่น การแตกกอลดลง ขนาดต้นเล็กลง ทำให้ใบคู้ลงหรือขอบใบไหม้ได้ สำหรับ $AgNO_3$ พบว่าเป็นพิษต่อกุหลาบมากที่สุด ทำให้ใบเหลืองเพิ่มขึ้นกว่าการไม่ใส่ ส่วน GA_3 จะช่วยลดการเกิดอาการเหลืองได้บางส่วน แต่ยังคงปรากฏอาการเหลืองอยู่โดยเฉพาะใบแก่ หากเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้นต้นที่ได้จะมีแนวโน้มมีความสูงเพิ่มขึ้น สำหรับ STS นอกจากลดอาการเหลืองได้ทุกส่วนแล้วยังส่งเสริมให้เพิ่มปริมาณต้นได้

ดีกว่า control หากใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 1.0 ppm ส่วน $CoCl_2$ ในด้านการลดอาการเหลืองจะมีผลเทียบเท่า control และหากใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นจะทำให้แตกกอมากขึ้น แต่ลดความสูงลง (ภาพที่ 10 และตารางที่ 4) จากการทดลองนี้ทำให้สรุปผลได้ว่า การเติม STS 1.0 ppm ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 ppm ให้ผลดีที่สุดในการเพิ่มปริมาณต้นกุหลาบในสภาพปลอดเชื้อ

ตารางที่ 4 ผลของสารยับยั้งการปลดปล่อยเอทิลีนที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณของต้นกุหลาบในสภาพปลอดเชื้อ

ชนิดสาร	ความเข้มข้น (ppm)	จน.ต้น /ชิ้นส่วน	% เพิ่มปริมาณ	จน.ใบ /ต้น	ความสูง (ซม.)	คะแนนการลดอาการเหลือง
CONTROL		2.30	80	5.20 b-d[1/]	1.31 b-d	3.0
$AgNO_3$	0.1	1.90	70	7.20 ab	1.52 a-d	1.0
	0.25	1.60	40	6.90 a-c	1.79 a	1.0
	0.5	1.70	40	6.28 a-d	1.64 a-c	1.5
	1.0	1.50	40	6.40 a-d	1.78 a	2.0
GA_3	0.1	1.80	50	5.42 a-d	1.18 d	3.0
	0.25	1.80	60	5.72 a-d	1.52 a-d	3.5
	0.5	2.20	70	4.85 cd	1.26 c-d	3.0
	1.0	2.40	80	4.96 cd	1.48 a-d	3.5
STS	0.1	2.20	50	5.95 a-d	1.56 a-d	3.0
	0.25	2.30	80	4.63 d	1.56 a-d	3.5
	0.5	2.00	50	5.53 a-d	1.41 a-d	4.0
	1.0	2.60	70	4.57 d	1.16 d	3.5
$CoCL_2$	0.1	2.20	80	5.70 a-d	1.39 a-d	3.5
	0.25	1.50	30	7.55 a	1.74 ab	3.5
	0.5	1.90	40	6.30 a-d	1.52 a-d	3.5
	1.0	1.70	50	5.70 a-d	1.32 b-d	3.5
F-test	ชนิดสาร	*		**	**	
	ความเข้มข้น	ns		*	**	
	ชนิดสาร X ความเข้มข้น	ns		*	*	
	CV(%)	51.36		34.24	27.98	

[1/]ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบแบบ DMRT



ภาพที่ 10 ผลของสารยับยั้งการเกิดเอทิลีนแต่ละชนิด
ได้แก่ ก) $AgNO_3$, ข) GA_3, ค) STS และ ง)$CoCl_2$

1.5 ผลของอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ออกราก

1.5.1 ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหารและออกซิน

จากตารางที่ 5 พบว่าสูตรอาหารมีผลเฉพาะความสูงเท่านั้น ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโตจะมีผลเฉพาะจำนวนใบ/ต้น และความสูง ในด้านจำนวนต้น/ชิ้นส่วนพบว่าทุกสูตรไม่ต่างกันทางสถิติ โดยสูตรอาหาร ½ MS และ ¼ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตจะมีจำนวนต้น/ชิ้นส่วนมากที่สุด (1.4 ต้น/ชิ้นส่วน) จากภาพที่ 11 จะเห็นได้ว่าต้นที่เลี้ยงในอาหารสูตร ½ MS จะมีความแข็งแรงมากกว่าสูตร ¼ MS เพราะมีขนาดใบที่ใหญ่กว่าและเหลืองน้อยกว่า ส่วนด้านการเพิ่มปริมาณพบว่าทั้ง 2 สูตรให้ผลไม่ต่างกัน ยกเว้นด้านการออกรากที่พบว่าอาหารสูตร ½ MS ออกรากได้ดีกว่าทั้งด้านความยาวและจำนวนราก ส่วนจำนวนใบ/ต้น พบว่าอาหารสูตร ¼ MS ที่เติม NAA 0.1 ppm จะมีจำนวนใบมากที่สุด (8.05 ใบ/ต้น) ด้านความสูงต้นพบว่าในอาหารสูตร ¼ MS ที่เติม IAA 0.5 ppm ร่วมกับ NAA 0.1 ppm จะให้ต้นกุหลาบที่สูงที่สุด (1.82 ซม.) เมื่อพิจารณาในทุกด้าน พบว่าอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดรากในการทดลองนี้ คือ อาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 0.5 ppm เพราะมีจำนวนราก 0.80 ราก/ชิ้นส่วน มีความยาวรากมากที่สุด 0.41 ซม. และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด 50% อย่างไรก็ตามพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การออกรากเพียง 50

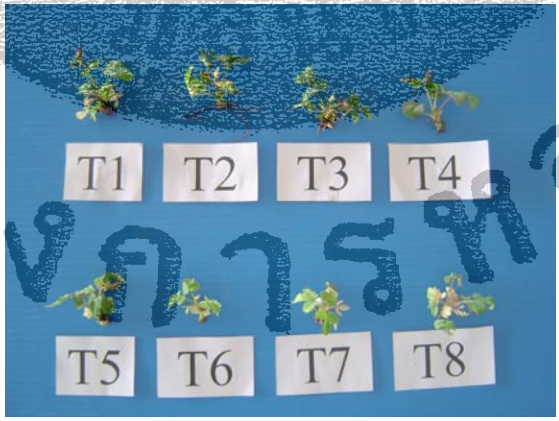
เปอร์เซ็นต์เท่านั้นจึงได้ทำการทดลองเพิ่มเติมในเรื่องผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและผงถ่าน (ภาพที่ 12 และตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหารและออกซินที่มีต่อการชักนำออกราก

สูตรอาหาร	สารควบคุมการเจริญเติบโต	จน.ต้น/ชิ้นส่วน	จน.ใบ/ต้น	ความสูง (ซม.)	จน.ราก/ชิ้นส่วน	การเกิดราก (%)	ความยาวราก (ซม.)
1/2MS	ไม่เติม	1.40	6.65 ab	1.42 b-d	0.40(1.124)[2/]	10	0.17(1.064)
	IAA 0.5 ppm	1.00	6.10 b	1.20 d	0.80(1.296)	50	0.41(1.163)
	NAA 0.1 ppm	1.30	6.55 ab	1.25 cd	0.10(1.041)	10	0.03(1.014)
	IAA 0.5 ppm+ NAA 0.1 ppm	1.30	6.55 ab	1.54 a-c	0.20(1.073)	10	0.06(1.024)
1/4 MS	ไม่เติม	1.40	7.28 ab	1.61 ab	0.10(1.041)	10	0.02(1.010)
	IAA 0.5 ppm	1.30	5.80 b	1.44 b-d	0.10(1.041)	10	0.02(1.010)
	NAA 0.1 ppm	1.10	8.05 a	1.47 b-d	0.10(1.041)	10	0.04(1.018)
	IAA 0.5 ppm+ NAA 0.1 ppm	1.10	6.95 ab	1.82 a	0.40(1.155)	30	0.07(1.034)
F-test	สูตรอาหาร	ns	ns	**	ns		ns
	สารควบคุมการเจริญเติบโต	ns	*	**	ns		ns
	สูตรอาหาร X สารควบคุม	ns	*	*	ns		ns
CV (%)		39.15	25.45	22.48	22.08		70

[1/]ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบแบบ DMRT

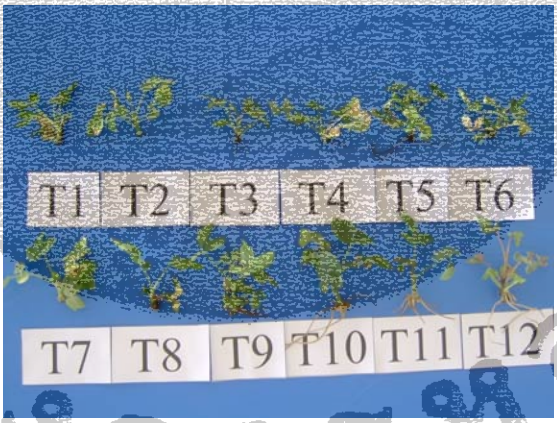
[2/]ตัวเลขที่อยู่ในวงเล็บเป็นการแปลงข้อมูลโดยวิธี รากที่สองของ X+1



ภาพที่ 11 ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหารและออกซินที่แตกต่างกัน ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากพบว่าอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม IAA 0.5 ppm สามารถชักนำให้เกิดรากดีที่สุด

1.5.2 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและผงถ่าน

จากตารางที่ 6 พบว่าผงถ่านและน้ำตาลมีผลต่อทุกลักษณะ ยกเว้นจำนวนต้น/ชิ้นส่วน ในด้านจำนวนต้น/ชิ้นส่วน อาหารที่เติมน้ำตาลอย่างเดียว 5% มีจำนวนต้น/ชิ้นส่วนมากที่สุด (1.5 ต้น/ชิ้นส่วน) การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลอย่างเดียวทำให้จำนวนต้นเพิ่ม ในขณะที่ในอาหารที่เติมผงถ่านแล้วเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลนั้นทำให้การแตกกอลดลง ด้านจำนวนใบ/ต้น พบว่า อาหารที่ชักนำให้มีจำนวนใบ/ต้นมากที่สุด (8.6 ใบ/ต้น) คือ อาหารที่เติมน้ำตาล 4 % การเพิ่มผงถ่านทำให้จำนวนใบ/ต้นลดลง ส่วนด้านความสูงต้น พบว่า อาหารที่ชักนำให้มีความสูงมากที่สุด (4.72 ซม.) คือ อาหารที่เติมผงถ่านร่วมกับน้ำตาล 3 % การเพิ่มผงถ่านมีผลเพิ่มความสูงต้น ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลเพิ่มความสูงเช่นกันโดยเฉพาะความเข้มข้น 3-4 % ด้านจำนวนราก/ชิ้นส่วน พบว่าอาหารที่ชักนำให้มีจำนวนราก/ชิ้นส่วนมากที่สุด (5.40 ราก/ชิ้นส่วน) คือ อาหารที่เติมผงถ่าน 2 กรัมและน้ำตาล 3 % การเพิ่มผงถ่านทำให้จำนวนรากเพิ่มขึ้น ด้านการเกิดราก พบว่า อาหารที่เกิดรากได้ดี (70%) คือ อาหารที่เติมผงถ่านและเติมน้ำตาลความเข้มข้น 3-5 % ด้านความยาวราก พบว่าอาหารที่ให้ความยาวรากมากที่สุด (2.23 ซม.) คือ อาหารที่เติมผงถ่านร่วมกับน้ำตาล 5 % จากการทดลองนี้สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด คือ อาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม IAA 0.5 ppm ร่วมกับการเติมผงถ่าน 2 กรัม/ลิตร และน้ำตาล 3 % (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและผงถ่านที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดราก พบว่าอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม IAA 0.5 ppm ร่วมกับผงถ่านและน้ำตาล 3% สามารถชักนำให้เกิดรากดีที่สุด

ตารางที่ 6 ผลของความเข้มข้นของผงถ่านและน้ำตาลที่มีต่อการชักนำออกราก

ผงถ่าน (กรัม)	น้ำตาล (%)	จน.ต้น/ ชิ้นส่วน	จน.ใบ/ ต้น	ความสูง (ซม.)	จน.ราก/ ชิ้นส่วน	การเกิดราก (%)	ความยาวราก (ซม.)
0	0	1.00b[1/]	7.30 a-c	3.82 bc	0.30(1.10) c[2/]	10	0.07(1.03) d
	1	1.00b	8.00 ab	3.34 bc	0.90(1.31) bc	40	0.31(1.13) cd
	2	1.10b	7.55 a-c	3.21 bc	1.50(1.41) bc	30	0.37(1.15) cd
	3	1.00b	7.20 a-c	3.08 b-d	2.90(1.79) ab	60	0.64(1.25) b-d
	4	1.00b	8.60 a	3.36 bc	1.40(1.44) bc	40	0.42(1.16) cd
	5	1.50 a	5.97 c	2.30 d	0.00(1.00) c	0	0.00(1.00) d
2	0	1.00b	6.70 bc	3.05 cd	0.60(1.21) bc	30	0.20(1.08) d
	1	1.40 ab	5.93 c	3.38 bc	0.10(1.04) c	10	0.03(1.01) d
	2	1.20 ab	6.57 bc	3.66 bc	2.30(1.64) bc	40	0.53(1.21) cd
	3	1.00 b	7.10 a-c	4.72 a	5.40(2.31) a	70	1.32(1.48) b
	4	1.00b	7.80 ab	3.95 b	2.70(1.79) ab	70	0.94(1.36) bc
	5	1.00b	6.30 bc	3.68 bc	2.90(1.86) ab	70	2.23(1.74) a
F-test	ผงถ่าน	ns	**	**	**		**
	น้ำตาล	ns	**	**	**		**
	ผงถ่าน X น้ำตาล	**	*	**	*		**
CV(%)		34.33	23.53	24.63	43.51		21.87

[1/]ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบแบบ DMRT

[2/]ตัวเลขที่อยู่ในวงเล็บเป็นการแปลงข้อมูลโดยวิธี รากที่สองของ X+1

2. การพัฒนาพันธุ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์

2.1 อิทธิพลของรังสีเอ็กซ์

จากการศึกษาอิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของกุหลาบ 4 พันธุ์ (ตารางที่ 7) พบว่าการไม่ฉายรังสีจะไม่มีผลต่ออัตราการอยู่รอดของชิ้นส่วนตาที่นำไปติดตา ในขณะที่การฉายรังสีเอ็กซ์ในปริมาณรังสี 10 เกรย์ จะมีผลต่อการอยู่รอด ซึ่งสามารถเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ KARDINAL (68.57%), ROYAL BACCARA (65.71%), FIRST RED (47.14%) และ DALLAS (41.43%) สำหรับพันธุ์ KARDINAL พบว่าดอกแรกมีแถบสีส้มเกิดขึ้น 2 ต้น และแถบชมพูเกิดขึ้น 1 ต้นหลังจากติดตา (ภาพที่ 13) ซึ่งได้ทำการตัดแต่ง และพับกิ่งเรื่อย ๆ เพื่อกระตุ้นให้เกิดเนื้อเยื่อกลาย โดยเฉพาะต้นที่มีการกลายของสีดอกจะสังเกตแถบสีเปลี่ยนไปได้ตั้งแต่ระยะแรก

ตารางที่ 7 อิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของกุหลาบ 4 พันธุ์

พันธุ์	ปริมาณรังสี (เกรย์)	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (%)
DALLAS	0	100
	10	41.43%
KARDINAL	0	100
	10	68.57%
ROYAL BACCARA	0	100
	10	65.71%
FIRST RED	0	100
	10	47.14%

ภาพที่ 13 การเกิดการกลายพันธุ์ในกุหลาบพันธุ์ KARDINAL ก.) แถบขีดสีส้ม ข.) แถบสีชมพู

จากการศึกษาอิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ที่มีต่อลักษณะการกลายของสีดอก (ตารางที่ 8) พบว่ากุหลาบทั้ง 4 พันธุ์มีลักษณะการกลายของสีดอกที่แตกต่างกันเฉพาะต้นที่ได้รับรังสี ส่วนที่ไม่ได้รับรังสีไม่มีการกลายพันธุ์เกิดขึ้น กุหลาบบางพันธุ์มีการกลายของสีดอกลักษณะเดียวเท่านั้น ได้แก่ พันธุ์ DALLAS ที่มีลักษณะการกลายแบบขีดชมพูเท่านั้น (14.29%) และพันธุ์ FIRST RED ที่มีลักษณะการกลายแบบขีดส้มเท่านั้น (7.69%) ส่วนกุหลาบพันธุ์ ROYAL BACCARA และ KARDINAL พบว่ามีการกลายของสีดอกถึง 3 ลักษณะ โดยที่พันธุ์ ROYAL BACCARA จะพบลักษณะขีดชมพู (11.11%), ขีดขาว (22.22%) และพื้นชมพู (11.11%) ในขณะที่พันธุ์ KARDINAL จะพบลักษณะขีดชมพู (68.18%), ขีดขาว (9.09%) และขีดส้ม (13.64%) โดยจะพบลักษณะขีดชมพูมากที่สุด และภายหลังพบว่ามีการกลายเป็นสีชมพูทั้งดอก (ภาพที่ 14) จึงได้นำกิ่งดังกล่าวนำไปติดตาเพื่อคัดเลือกต่อไป อย่างไรก็ตามการกลายพันธุ์จากฉายรังสีเป็นการกลายพันธุ์แบบสุ่ม ต้องทำการตัดแต่งหรือโน้มกิ่งหลาย ๆ ครั้ง จึงจะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อไคเมอร่ามีการพัฒนาขึ้น

ภาพที่ 14 การกลายของสีดอกจากแถบขีดสีชมพูเป็นสีชมพูทั้งดอกในกุหลาบพันธุ์ KARDINAL (ดอกซ้ายมือ) เมื่อเปรียบเทียบกับกุหลาบพันธุ์ที่ไม่ได้ฉายรังสี (ดอกขวามือ)

ตารางที่ 8 อิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ที่มีต่อลักษณะการกลายของสีดอก

พันธุ์	ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะการกลายของสีดอก				
		แถบขีดชมพู	แถบขีดขาว	แถบขีดส้ม	พื้นชมพู	รวม
DALLAS	0	-	-	-	-	-
	10	14.29	-	-	-	14.29
KARDINAL	0	-	-	-	-	-
	10	68.18	9.09	13.64	-	90.91
ROYAL BACCARA	0	-	-	-	-	-
	10	11.11	22.22	-	11.11	44.44
FIRST RED	0	-	-	-	-	-
	10	-	-	7.69	-	7.69

จากการศึกษาอิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ที่มีต่อการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ของกุหลาบ 4 พันธุ์ (ตารางที่ 8) ปรากฏว่าในด้านการกลายของสีดอกจะแตกต่างกันไปในแต่ละพันธุ์ (ภาพที่ 14) ซึ่งสามารถเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ได้ดังนี้ KARDINAL (90.91%), ROYAL BACCARA (44.44%), DALLAS (14.29%) และ FIRST RED (7.69%)

จากการศึกษาอิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ที่มีต่อการเจริญเติบโต (ภาพที่ 15-16) พบว่าโดยส่วนใหญ่ทุกลักษณะของกุหลาบทุกพันธุ์ที่ฉายรังสี จะมีขนาดใกล้เคียงหรือเล็กกว่ากุหลาบที่ไม่ได้ฉายรังสีแทบทั้งสิ้น แสดงว่ารังสีเอ็กซ์ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุหลาบแต่ละพันธุ์มากนัก ในกุหลาบพันธุ์ ROYAL BACCARA พบว่ารังสีเอ็กซ์มีผลทำให้ขนาดของดอกตูมลดลง ความยาวก้านสั้นลง ขนาดคอดอกสั้นลง และลดจำนวนกลีบดอกลงเล็กน้อย ส่วนพันธุ์ KARDINAL ให้ผลไปในทำนองเดียวกันแต่จะลดขนาดดอกบานลงด้วยเล็กน้อย แต่ไม่ทำให้ขนาดก้านดอกลดลง สำหรับ

กุหลาบพันธุ์ DALLAS พบว่ารังสีเอ็กซ์มีผลในการลดลงของทุกลักษณะและสำหรับพันธุ์ FIRST RED พบว่ารังสีเอ็กซ์มีผลต่อทุกลักษณะเช่นเดียวกัน ยกเว้นในด้านขนาดก้านและขนาดคอดอก

ภาพที่ 15 การบันทึกการให้ผลผลิตของกุหลาบ 4 พันธุ์ ได้แก่ KARDINAL, ROYAL BACCARA, DALLAS และ FIRST RED

ภาพที่ 16 การเจริญเติบโตของกุหลาบที่ผ่านการฉายรังสีเอ็กซ์ ก.) KARDINAL, ข.) DALLAS,ค.) FIRST RED, ง.) BLACK MAGIC

ตารางที่ 9 อิทธิพลของรังสีเอ็กซ์ที่มีต่อการเจริญเติบโตของกุหลาบ 4 พันธุ์

พันธุ์	ปริมาณรังสี (เกรย์)	ขนาดดอกตูม (ซม.)	ขนาดดอกบาน (ซม.)	ความยาวก้าน(ซม.)	ขนาดก้าน (ซม.)	ขนาดคอดอก(ซม.)	จำนวนกลีบ
ROYAL BACCARA	0	2.8	8.6	69.2	0.5	1.1	28.9
	10	2.5	8.6	62.5	0.5	0.9	28.6
KARDINAL	0	2.5	8.8	52.8	0.5	1.0	29.4
	10	2.4	8.7	52.3	0.5	0.9	28.2
DALLAS	0	3.2	8.6	58.9	0.5	1.1	26.2
	10	3.1	8.3	58.5	0.4	1.0	25.8
FIRST RED	0	2.9	9.1	41.5	0.5	1.0	32.4
	10	2.5	9.0	41.0	0.5	1.0	29.6

สำหรับกุหลาบพันธุ์ KARDINAL ที่พบว่าเกิดการกลายพันธุ์ทั้งดอกเป็นสีชมพู ได้นำไปติดตาพบว่าใน 1 กิ่ง มีจำนวน 13 ตา เมื่อนำไปติดตาพบว่ารอดชีวิตได้ 9 ตา คิดเป็น 69.23% ซึ่งจะทำการทดสอบความคงตัวของการกลายต่อไป นอกจากนี้ยังพบการกลายของกุหลาบพันธุ์ KARDINAL เป็นสีบานเย็นอีกด้วย ซึ่งจากการเปรียบเทียบสีดอก ขนาดดอก ความยาวก้านดอก และจำนวนกลีบดอก พบว่ามีความแตกต่างจากกุหลาบพันธุ์ KARDINAL เดิมที่มีสีแดงและขนาดเล็กกว่า อย่างไรก็ตามยังต้องมีการทดสอบความคงตัวของการกลายพันธุ์เช่นเดียวกับกุหลาบพันธุ์ KARDINAL ที่กลายพันธุ์เป็นสีชมพูอีกด้วย (ภาพที่ 17-18 และตารางที่ 10) จากตารางแสดงให้เห็นว่า KARDINAL สีชมพู มีขนาดดอก ขนาดคอดอก ความยาวก้านช่อดอก และจำนวนกลีบลดลงกว่าต้นที่ไม่ได้ฉายรังสี ในขณะที่ KARDINAL สีบานเย็นกลับพบว่ามีทุกลักษณะใหญ่กว่าเดิม ยกเว้นขนาดคอดอก

ตารางที่ 10 ความแตกต่างของกุหลาบพันธุ์ KARDINAL สีต่าง ๆ ที่ได้รับปริมาณรังสี 10 เกรย์

สี	ขนาดดอก (ซม.)	ขนาดคอดอก (ซม.)	ความยาวก้านช่อดอก (ซม.)	ขนาดก้านดอก (ซม.)	จำนวนกลีบ
สีแดง	2.7	0.50	54.3	1.03	27.0
สีชมพู	2.1	0.47	45.3	1.03	26.7
สีบานเย็น	3.0	0.50	73.0	1.20	29.0

ภาพที่ 17 การกลายพันธุ์ของกุหลาบพันธุ์ KARDINAL ก.) สีแดงเดิม ข.) สีชมพู ค.) สีบานเย็น

ภาพที่ 18 กุหลาบพันธุ์ KARDINALที่กลายเมื่อเปรียบเทียบกับกุหลาบพันธุ์ KARDINAL เดิมสีแดง (กลาง) กับ KARDINAL สีชมพูและสีบานเย็น ในลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ ก) สีดอก, ข) ขนาดดอก, ค) ความยาวก้านดอก และ ง) จำนวนกลีบดอก

ภาพที่ 19 การกลายพันธุ์อย่างต่อเนื่องของกุหลาบพันธุ์ KARDINAL สีบานเย็น ก.) ดอกใหม่ที่เกิดจากกิ่งที่กลายสีบานเย็นเปลี่ยนเป็นสีชมพูทั้งดอก ข.-ค.) ตาจากกิ่งที่มีดอกสีบานเย็นดอกเปลี่ยนกลับมาเป็นสีแดง

จากการนำตากุหลาบพันธุ์ KARDINAL สีบานเย็น ไปติดตา พบว่าเกิดการกลายพันธ์อย่างต่อเนื่อง หลังจากทำการ Cut back และนำตาที่กลายไปติดตาพบว่ากิ่งใหม่ที่เกิดขึ้นเป็นสีชมพู ส่วนตาที่นำไปติดเปลี่ยนเป็นสีแดง (ภาพที่ 19)

สำหรับการกลายพันธุ์ของกุหลาบพันธุ์ FIRST RED (ภาพที่20) พบว่ามีลักษณะที่แตกต่างจากพันธุ์ KARDINAL ดังนี้ การกลายของกุหลาบพันธุ์ KARDINAL จะเกิดขึ้นในระยะแรกและต่อเนื่อง จากสีแดงเป็นสีบานเย็นหรือสีชมพู สีชมพูจะมีความสมดุลกว่าสีบานเย็น ส่วนสีบานเย็นจะมีการกลายพันธุ์อย่างต่อเนื่องซึ่งจะไม่ปรากฏอีกต่อไปทั้งต้นเดิมและกิ่งตาที่ติดใหม่ โดยที่กิ่งตาใหม่จะเปลี่ยนกลับเป็นสีแดงในขณะที่ต้นเดิมที่ตัดออกไปจะเป็นสีชมพู ส่วนในกุหลาบพันธุ์ FIRST RED จะไม่ปรากฏเป็นแถบสีส้มเท่านั้นและไม่ปรากฏลักษณะใด ๆ ต่อไปจากการ cut back จากนั้น จึงปรากฏเป็นลักษณะสีชมพูทั้งดอกในอีก 2 ปีต่อมา และเมื่อนำไปติดตา พบว่ากิ่งที่นำไปติดตาไม่มีการกลายพันธุ์กลับเป็นสีแดง ส่วนต้นเดิมกิ่งที่ตัดออกไปติดตาแล้วไม่มีการกลายพันธุ์อีกต่อไป ทั้งนี้อาจเนื่องจากในขณะที่ตัดเอากิ่งกลายออกไปได้นำส่วนที่ปืนไคเมอร่าออกไปด้วย

ภาพที่ 20 กุหลาบพันธุ์ FIRST RED กลายสีชมพู (ซ้าย) ที่ปริมาณรังสี 10 เกรย์ เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้ฉายรังสีเอ็กซ์

2.2 อิทธิพลของรังสีแกมมา

หลังจากได้นำตากุหลาบทั้ง 4 พันธุ์ติดตาเพื่อคัดเลือกการกลายพันธุ์ โดยทยอยฉายรังสีเป็นรุ่น ๆ ในแต่ละพันธุ์ ทำการบันทึกผลเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพื่อหา 50 เปอร์เซ็นต์ของ LD_{50} พบว่ากุหลาบแต่ละพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่างกันในแต่ละพันธุ์และในแต่ละปริมาณรังสี โดยที่พันธุ์ DALLAS จะมี LD_{50} อยู่ที่ 4 กิโลเรด พันธุ์ ROYAL BACCARA และ FIRST RED จะอยู่ที่ 8 กิโลเรด ส่วนพันธุ์ BLACK MAGIC จะมี LD_{50} อยู่ที่ 2-4 กิโลเรด (ตารางที่ 11) โดยพบว่าในส่วนของ LD_{50} จะมีการปรากฏลักษณะการกลายของสีทั้งแบบแถบหรือแบบซีกปรากฏขึ้นตั้งแต่แรก

(ภาพที่ 21) แต่เมื่อทำการ cut-back ไปเรื่อย ๆ กลับพบว่าลักษณะแถบสีหายไป กลายเป็นลักษณะการกลายของดอก (ตารางที่ 12 และภาพที่ 22-25) ในดอกใหม่ ๆ ที่เกิดขึ้นจากต้นเดิม

ภาพที่ 21 การกลายพันธุ์กุหลาบพันธุ์ต่าง ๆ หลังจากฉายรังสีแกมมาในระยะแรก ก.-ข.)กุหลาบพันธุ์ Dallas ค.) กุหลาบพันธุ์ Black Magic ง.) กุหลาบพันธุ์ First Red

ตารางที่ 11 อิทธิพลของรังสีแกมม่าที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนตา

ปริมาณรังสี (กิโลเรด)	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต			
	DALLAS	ROYAL BACCARA	FIRST RED	BLACK MAGIC
0	80.0	100.0	93.3	76.7
2	60.0	93.3	76.7	60.0
4	53.3	90.0	66.7	46.7
6	13.3	60.0	63.3	26.7
8	6.7	53.3	53.3	16.7
10	6.7	36.7	30.0	3.3

ตารางที่ 12 อิทธิพลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเจริญเติบโตของกุหลาบ 4 พันธุ์

พันธุ์	ปริมาณรังสี (กิโลเรด)	การกลายของสีดอก (%)	ขนาดดอกตูม (ซม.)	ขนาดดอกบาน (ซม.)	ความยาวก้าน(ซม.)	ขนาดก้าน (ซม.)	ขนาดคอดอก(ซม.)	จำนวนกลีบ
DALLAS	0	0	2.8	8.9	74.3	0.5	1.2	30.3
	2	0	2.6	8.7	57.0	0.5	1.0	29.7
	4	13.0	2.5	8.7	55.6	0.5	1.0	29.0
	6	0	2.5	8.0	46.8	0.4	1.0	27.2
	8	0	2.4	7.9	43.8	0.3	0.9	26.9
	10	0	2.3	7.8	39.0	0.3	0.8	25.5
ROYAL BACCARA	0	0	3.0	10.6	64.0	0.5	1.1	32.9
	2	0	3.0	9.7	52.2	0.5	1.1	30.9
	4	0	2.9	9.1	51.3	0.5	1.1	30.7
	6	0	2.9	9.1	48.6	0.5	1.0	30.3
	8	0	2.6	8.9	48.0	0.5	1.0	30.0
	10	0	2.3	7.8	37.7	0.4	0.9	20.3
BLACK MAGIC	0	0	3.0	10.2	45.2	0.5	1.0	34.0
	2	0	2.9	9.8	43.9	0.5	1.0	31.0
	4	0	2.8	9.2	41.0	0.5	0.8	31.3
	6	0	2.8	8.8	40.3	0.5	0.7	30.0
	8	20	2.2	7.9	38.4	0.4	0.7	29.5
	10	*	*	*	*	*	*	*
FIRST RED	0	0	2.7	9.4	52.8	0.5	1.0	33.1
	2	0	2.6	8.7	51.5	0.5	1.0	31.5
	4	0	2.5	8.5	49.2	0.5	0.9	30.3
	6	42.1	2.3	8.2	41.0	0.4	1.0	30.2
	8	0	2.4	7.8	38.6	0.5	1.0	29.3
	10	0	2.2	7.6	34.8	0.4	0.7	26.8

หมายเหตุ * = ต้นกุหลาบตายไม่สามารถเก็บผลการเจริญเติบโตได้

จากตารางที่ 12 พบว่าการเจริญเติบโตของกุหลาบทั้ง 4 พันธุ์ แตกต่างกันออกไปในแต่ละพันธุ์และแต่ละอัตรารังสี โดยส่วนใหญ่แล้ว อิทธิพลของรังสีแกมมามีผลต่อการเจริญเติบโตในด้านการลดขนาดดอกทั้งตูมและบาน ลดความยาวก้านดอก ขนาดก้าน ขนาดคอ และจำนวนกลีบ ในขณะที่ขนาดก้านจะมีความใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามในที่นี้ให้ความสำคัญต่อลักษณะแปลกใหม่ทางพืชสวน ได้แก่ การกลายของสีดอกและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาเป็นหลัก

การกลายของสีดอก พบการกลายของกุหลาบเพียง 3 พันธุ์ในเฉพาะบางอัตราเท่านั้น ดังนี้ กุหลาบพันธุ์ DALLAS มีการกลายของสีดอก 13.0% ที่ปริมาณรังสี 4 Krad ส่วนกุหลาบพันธุ์ BLACK MAGIC มีการกลายของสีดอก 20.0% ที่ปริมาณรังสี 8 Krad สำหรับกุหลาบพันธุ์ FIRST

RED มีการกลายขอสีดอกมากที่สุด คือ 42.1% ที่ปริมาณรังสี 6 Krad (ภาพที่22-23) ซึ่งปริมาณรังสีดังกล่าวอาจมีความจำเพาะเจาะจงต่อกุหลาบแต่ละพันธุ์

ภาพที่ 22 กุหลาบพันธุ์ DALLAS กลายสีชมพูจากรังสีแกมมา 4 กิโลเรด
ก.-ข.) DALLAS สีชมพูเข้ม, ค.-ง.) DALLAS เลื้อยสีชมพูอ่อน

ภาพที่ 23 กุหลาบพันธุ์ BLACK MAGIC กลายสีบานเย็นจากรังสีแกมมา 8 กิโลเรด
ก.) เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้ฉายรังสีรังสีแกมมา ข.)ขณะดอกตูม และ ค.) ขณะดอกบาน

ภาพที่ 24 กุหลาบพันธุ์ FIRST RED กลายสีชมพูจากรังสีแกมมา 6 กิโลเรด
ก.) เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้ฉายรังสีรังสีแกมมา ข.)ขณะดอกตูม และ ค.) ขณะดอกบาน

ภาพที่ 25 กุหลาบพันธุ์ First Red ที่มีการกลายพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ ดังนี้
ก) สีดอกเดิมแต่ไม่มีหนาม, ข) เนื้อกลีบเปลี่ยนแต่ไม่มีหนาม,
ค) ใบย่อยปกติของต้นที่มีหนาม และ ง) ใบย่อยไม่มีหนามของต้นกลายไม่มีหนาม

การเปลี่ยนแปลงทางด้านทรงพุ่ม พบว่ากุหลาบพันธุ์ DALLAS มีการเปลี่ยนแปลงเป็นกุหลาบเลื้อยสีชมพูอ่อนที่มีจำนวนกลีบลดลงและไม่มีหนาม ที่ปริมาณรังสี แกมมา 4 กิโลเรด เมื่อนำไปติดตาพบว่าลักษณะดังกล่าวไม่เปลี่ยนกลับคืน (ภาพที่ 22 ค.-ง.) ในขณะที่พันธุ์ First Red มีการเปลี่ยนแปลงทรงดอกบานและความเป็นกำมะหยี่ของเนื้อกลีบที่หายไปและไม่มีหนาม การไม่มีหนามนี้จะสังเกตจากก้านและใต้ใบย่อย (ภาพที่ 25) หากไม่ปรากฏจะถือว่าไม่มีหนาม แต่เมื่อนำไปติดตาพบว่า ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของทรงดอกบาน ความเป็นกำมะหยี่ และไม่มีหนามเป็นลักษณะที่เปลี่ยนกลับเป็นลักษณะเดิมได้ ยกเว้นแต่สีดอกซึ่งเปลี่ยนเป็นสีชมพูแล้วจะไม่เปลี่ยนกลับคืน

สรุปและวิจารณ์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนตาในการวิจัยครั้งนี้ได้เริ่มต้นศึกษาจากสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้น โดยการศึกษาผลของ BA ร่วมกับ NAA ผลการทดลองปรากฏว่า อาหารที่เหมาะสม คือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 ppm ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของปรานอมและคณะ (2531) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงตาข้างกุหลาบได้ผลดีในอาหารสูตรเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบว่าระยะของตาข้างยังมีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นอีกด้วย ซึ่งในการศึกษานี้ได้ใช้ตาข้างระยะต่าง ๆ แตกต่างกันมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 ppm ที่ได้ผลดีที่สุดในการทดลองแรก ผลปรากฏว่า ตาข้างระยะที่ยอดมีดอกเริ่มแย้มเป็นระยะที่ให้จำนวนต้น/ชิ้นส่วนมากที่สุด แต่ยังคงใกล้เคียงกับตาข้างระยะที่ยอดมีดอกร่วงโรยที่นิยมนำตาระยะนี้มาติดตา ในขณะที่ Morderos and Enriquez (1987) ได้รายงานว่ายอดอ่อนความยาว 10 ซ.ม. เป็นระยะที่ชักนำให้เกิดต้นได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับตาข้างทุกระยะ โดยเฉพาะตาที่มีอยู่ในกิ่งที่มีความยาวกิ่งเกิน 60 ซ.ม. มักจะมีการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะตาจากยอดที่มีดอกเริ่มแย้มเป็นระยะที่มีอาหารสะสมอยู่ในกิ่งจำนวนมาก และยังไม่ได้สูญเสียไปกับการบานของดอกจึงทำให้ไวต่อการพัฒนาบนอาหารวิทยาศาสตร์ และเมื่อนำต้นอ่อนจากสภาพปลอดเชื้อไปศึกษาผลของ BA และ TDZ ที่มีต่อการเพิ่มปริมาณต้น ผลปรากฏว่าอาหารที่เหมาะสม คือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 ppm จากการทดลองนี้พบว่า BA จะให้ผลดีกว่า TDZ ในด้านจำนวนต้น/ชิ้นส่วนและเปอร์เซ็นต์การเพิ่มปริมาณต้น ในขณะที่ TDZ จะให้ผลดีกว่า BA ในเรื่องจำนวนใบและความสูงต้น ในด้านความเข้มข้นของไซโตไคนิน พบว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มชักนำให้เพิ่มปริมาณต้นได้มากขึ้น ในขณะที่มีผลทำให้ความสูงลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Hasegawa (1980), Wulster and Sacalis (1980) และ Ara et al.(1997)

จากการศึกษาผลของสารยับยั้งการปลดปล่อยเอทิลีน 4 ชนิด ได้แก่ $AgNO_3$, GA_3, STS และ $CoCl_2$ ในระดับความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5 และ 1.0 ppm เปรียบเทียบกับ control ที่เป็นอาหารสูตร

MS ที่เติม BA 1 ppm ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเติม STS ความเข้มข้น 1.0 ppm ลงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 ppm สามารถลดการเกิดอาการเหลืองในขณะเพิ่มปริมาณได้ดีที่สุด เพราะเพิ่มการแตกกอและลดอาการเหลืองไปพร้อมกัน Kever et al. (1992) ได้รายงานว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กุหลาบจะมีการผลิตเอทิลีนเกิดขึ้น และเมื่อเติมสารยับยั้งการปลดปล่อยเอทิลีน เช่น $CoCl_2$ ความเข้มข้น 0.01- 0.1 mM หรือ AVG ความเข้มข้น 2.5-5.0 mg/l จะทำให้เกิดเอทิลีนขึ้นภายในขวดเพาะเลี้ยงเพียงเล็กน้อย ทำให้กุหลาบมีการแตกกอเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Valles and Boxus (1987) ได้รายงานว่าการเพิ่ม GA_3 ความเข้มข้น 0.1 mg/l ในอาหารร่วมกับ BAP 1 mg/l สามารถป้องกันการเหลืองของยอดได้ในกุหลาบพันธุ์ White Cream ส่วนกุหลาบพันธุ์ Goldy อาหารที่เติม GA_3 1 mg/l ร่วมกับ BAP5 mg/l จะกระตุ้นให้กุหลาบเพิ่มปริมาณยอด

สำหรับการศึกษาผลของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก โดยศึกษาผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 0.5 ppm สามารถชักนำให้เกิดรากดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Rahman et al. (1992) ที่ว่าการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารในสูตร MS ร่วมกับการเติมออกซินจะมีผลทำให้กุหลาบออกรากได้ดีขึ้น และเมื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของผงถ่านและน้ำตาล พบว่า การเติมผงถ่าน 2 กรัม/ลิตร และน้ำตาล 3 % ลงในอาหารสูตรเดิมให้ผลดีที่สุด ซึ่งใกล้เคียงกับการรายงานของพรพิมล และดวงจันทร์ (2545) ที่ได้ทำการศึกษาการเกิดรากและการเจริญเติบโตของต้นกุหลาบหนูในสภาพปลอดเชื้อ ในอาหารสูตร ½ MS ที่เติม NAA 1.0 μM ร่วมกับการเติมน้ำตาล 0-90 กรัม/ลิตร พบว่าน้ำตาลส่งเสริมการเจริญของรากมากกว่าใบ โดยพบว่าน้ำตาลที่ ความเข้มข้น 50 กรัม/ลิตรให้น้ำหนักสดต้นมากที่สุด

การพัฒนาพันธุ์โดยกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ จากการศึกษาผลของรังสีเอ็กซ์ เมื่อนำตาข้างของกุหลาบตัดดอก 4 พันธุ์ ได้แก่ KARDINAL, ROYAL BACCARA, DALLAS และ FIRST RED มาฉายรังสีปริมาณรังสี 0 และ 10 เกรย์ พบว่าปริมาณรังสีจะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด การเจริญเติบโต และการกลายพันธุ์แตกต่างกันออกไปในแต่ละพันธุ์ โดยเฉพาะขนาดดอก สี และจำนวนกลีบดอก ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของไพลิน (2546), Walther and Sauer (1986) และ Ibrahim and Debergh (1998) ในที่นี้พบว่าพันธุ์ KARDINAL เป็นพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การกลายสูงที่สุด ซึ่งไพลิน (2546) พบว่ากุหลาบพันธุ์นี้สีสามารถกลายเป็นสีส้มและชมพูได้ อย่างไรก็ตาม อดิศร (2533) ได้รายงานว่าการตัดส่วนของต้นกุหลาบหลาย ๆ ครั้งเพื่อกระตุ้นให้ลักษณะกลายพันธุ์ปรากฏ เป็นเรื่องของการเพิ่มขนาด Sector ไคเมอร่า ซึ่งอาจต้องใช้ระยะเวลา 2-3 ปี โดยในการทดลองนี้ พบว่าภายหลังที่ได้ทำการตัดแต่งกิ่งหรือโน้มกิ่งอย่างต่อเนื่อง ปรากฏว่าเนื้อเยื่อไคเมอร่าสามารถพัฒนาจากดอกขีดชมพูเป็นดอกสีชมพูทั้งดอกได้ จึงได้ทำการติดตา เพื่อทดสอบความคงตัวของการกลายพันธุ์ในรุ่นต่อ ๆ ไป ซึ่งพบว่าสีชมพูจะมีความคงตัวกว่าสีบานเย็น และความคงตัว

อาจจะขึ้นอยู่กับพันธุ์และชิ้นส่วนของไคเมอร่าด้วย เพราะพันธุ์ KARDINAL สีบานเย็นปรากฏว่าเมื่อตัดไปติดตา ตาที่นำไปติดมีการเปลี่ยนกลับเป็นสีแดงทั้งหมดในขณะที่ต้นเดิมที่ตัดออก กิ่งใหม่เป็นสีชมพู เป็นไปได้ว่าส่วนกลายเป็นสีบานเย็นจะอยู่ปลายดอกในส่วน 2-3 ตาแรก ในขณะที่ส่วนกลายเป็นสีชมพูจะอยู่ด้านโคนกิ่ง เมื่อตัดส่วนปลายออกไป จึงทำให้ส่วนกลายสีชมพูปรากฏเพิ่มขึ้น สำหรับกุหลาบพันธุ์ FIRST RED มีลักษณะแถบเกิดขึ้นแบบสุ่มในปีแรก ๆ การ cut black ทำให้เนื้อเยื่อกลายสีชมพูขยายใหญ่ขึ้น จนแสดงออกทั้งดอก และเนื่องจากเนื้อเยื่อกลายกระจายทั้งกิ่ง การนำไปติดตาจึงปรากฏทุกต้น ในขณะที่กิ่งเดิมเปลี่ยนกลับเป็นสีดอกเดิม เพราะได้ตัดเนื้อเยื่อกลายออกไปแล้วทั้งกิ่งนั่นเอง สำหรับกุหลาบพันธุ์ ROYAL BACCARA และ DALLAS พบว่ารังสีเอกซ์ปริมาณ 10 เกรย์ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ได้

ส่วนการศึกษาอิทธิพลของรังสีแกมมา พบว่า LD_{50} ในแต่ละพันธุ์ต่างกัน โดยที่พันธุ์ DALLAS จะมี LD_{50} อยู่ที่ 4 กิโลเรด พันธุ์ ROYAL BACCARA และ FIRST RED จะอยู่ที่ 8 กิโลเรด ส่วนพันธุ์ BLACK MAGIC จะมี LD_{50} อยู่ที่ 2-4 กิโลเรด ซึ่งจากการปลูกทดสอบพันธุ์ พบว่ารังสีแกมมามีผลกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ของกุหลาบได้ 3 พันธุ์ ได้แก่ DALLAS ที่ 4 กิโลเรด, FIRST RED ที่ 6 กิโลเรด และ BLACK MAGIC ที่ 8 กิโลเรด ในขณะที่ทุกระดับของปริมาณรังสีแกมมาไม่มีผลต่อกุหลาบพันธุ์ ROYAL BACCARA รังสีแกมมามีผลต่อการกลายของสีดอก ทรงพุ่ม เนื้อกลีบ และหนาม โดยที่กุหลาบพันธุ์ DALLAS รังสีที่ระดับ 4 กิโลเรด มีผลต่อสีดอกจากสีแดงเปลี่ยนเป็นสีชมพูเข้ม และจากทรงพุ่มตั้งสีดอกแดงเป็นทรงพุ่มเลื้อยสีชมพูอ่อน ในกุหลาบพันธุ์ BLACK MAGIC ที่มีสีแดงดำกำมะหยี่ เมื่อได้รับรังสี 8 กิโลเรด สีดอกจะกลายเป็นสีบานเย็นที่มีเนื้อกลีบไม่เป็นกำมะหยี่ สำหรับกุหลาบพันธุ์ FIRST RED ที่ระดับรังสี 6 กิโลเรด จะกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนแปลงทั้งสีดอก จากแดงเป็นชมพู เนื้อกลีบจากแดงกำมะหยี่ไปเป็นชมพูหรือแดงที่มีกำมะหยี่และหนาม จากมีหนามที่กิ่งและใบย่อยตามปกติเป็นไม่มีหนาม อย่างไรก็ตามลักษณะของเนื้อกลีบและหนาม พบว่าไม่คงตัว สามารถเปลี่ยนกลับไปเป็นปกติได้เมื่อนำไปติดตา

เอกสารอ้างอิง

ปรานอม พฤฒพงศ์ และธวัชชัย วรรธนะวลัญช์. 2531.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ. การสัมมนาทางวิชาการเรื่องงานวิจัยและพัฒนาด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ ฯ.

พรพิมล สุริยจันทราทอง และดวงจันทร์ เกษบุตร. 2545. อิทธิพลของน้ำตาลซูโครสต่อการเกิดรากและการเจริญเติบโตของต้นกุหลาบหนูในหลอดแก้ว. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 2. 28-30 พฤษภาคม 2545 ณ. โรงแรมเจริญธานี ปริ๊นเซส ขอนแก่น. 15 น.

ไพลิน กันทา.2546. การปรับปรุงพันธุ์และวิธีการปลูกกุหลาบลูกผสม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชสวน. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 100 น.

อดิศร กระแสชัย, พรพิมล ไชยมาลา, ลำดวน ใจเวียง และวชิระ เกตุเพชร. 2547. การพัฒนาพันธุ์กุหลาบโดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. รายงานผลการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2547. ฝ่ายงานไม้ดอก มูลนิธิโครงการหลวง.

อดิศร กระแสชัย. 2533.การปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกโดยวีการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 271 น.

Ara, K.A., M.M., Hossain, M.A. Quasim, M. Ali, and J.U. Ahmed. 1997. Micropropagation of rose: *Rosa sp.* cv. Peace. Plant Tiss. Cult. 7. 135-142.

Hasegawa, P.M. 1980. Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. J. Am. Soc. Hort. Sci. 105: 216-220.

Ibrahim, R., and P.C. Debergh. 1998. Introduction of in vitro mutagenesis in Roses (*Rosa hybrida* L.) using X-radiation. Available http://allserv.rug.ac.be/~ftack/phd-symposium/archive/proceedings04/0006.htm

James, J. 1983. New roses by irradiation: An update. Am. Rose Annual. pp. 99-101.

Kevers, C., N. Boyer, J. Courduroux, and T. Gaspar. 1992. The influence of ethylene on proliferation and growth of rose shoot culture. Plant cell Tiss. Org. Cult. 28: 175-181.

Mereros, S., and M.J.R. Enriguez. 1987. *In vitro* propagation of 'Golden Times' roses. Factors affecting shoot tips and axillary bud growth and morphogenesis. Acta Hortic. 212: 619-624.

Rout, G.R., S. Samantaray, J. Mottley, and P. Das. 1999. Biotechnology of the rose: a review of recent progress. Sci . Hort. 81: 201-228.

Rahman., S.M., M. Hossain., R.A.K.M. Islam, and O.I. Joarder. 1992. Effect of media composition and culture conditions on in vitro rooting of rose. Sci. Hort. 52: 163-169.

Valles, M., and P.H. Boxus. 1987. Regeneration from *Rosa* callus. Acta Hort. 212: 691-696.

Walther, F., and A. Sauer. 1986. *In vitro* mutagenesis in rose. Acta Hortic. 189: 37-46.

Wulster, G., and J., Sacalis.1980. Effects of auxins and cytokinins on ethylene evolution and growth of rose callus tissue in sealed vessels. Hort. Sci. 15: 736-737.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัย ขอขอบพระคุณ ฝ่ายวิจัย มูลนิธิโครงการหลวงที่ให้การสนับสนุนงบประมาณทั้งหมดในการวิจัยครั้งนี้

โครงการหลวง