

5ST-O13: ผลของอาหารเพาะเลี้ยง ไซโตไคนิน และระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวต่อการเพิ่มปริมาณยอดเบญจมาศในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of culture medium, cytokinin and temporary immersion

bioreactor system on shoot multiplication of chrysanthemum cultured *in vitro*

ไอรดา ถิ่นศรี^{1*} และ ปวีณา ภูมิสุทธาผล¹

Irada Thinsri^{1*} and Paweena Pumisitapon¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์เบญจมาศในสภาพปลอดเชื้อในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด โดยการนำชิ้นส่วนข้อเดียวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ¼ MS, ½ MS และ MS ที่เติมไซโตไคนิน 6-benzylaminopurine (BAP) 0, 0.25, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ทุกกรรมวิธีเกิดยอดใหม่เท่ากัน คือ 1 ยอดต่อชิ้นส่วน และมีจำนวนข้อต่อชิ้นส่วนไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตทำให้ยอดมีความสูง จำนวนข้อต่อยอด และน้ำหนักสดของยอดมากที่สุด คือ 7.36 เซนติเมตร, 7.40 ข้อต่อยอด และ 333.07 มิลลิกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ได้เปรียบเทียบผลของระบบเพาะเลี้ยง โดยการนำชิ้นส่วนข้อเดียวมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝดที่ให้อาหารเหลวทุก ๆ 24 ชั่วโมง ครั้งละ 4, 5 และ 6 นาที เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลปรากฏว่า การให้อาหารเหลวทุก ๆ 24 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที มีความเหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณยอด โดยมีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน จำนวนข้อต่อยอด น้ำหนักสดยอดสูงสุด คือ 1.40 ยอดต่อชิ้นส่วน 10.10 ข้อต่อยอด และ 841.67 มิลลิกรัม ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มขึ้น 1.4, 1.3 และ 2.52 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็ง อย่างไรก็ตามพบการจมน้ำ (50%) เป็นลักษณะที่ผิดปกติเฉพาะการให้อาหารเหลวทุก ๆ 24 ชั่วโมง ครั้งละ 6 นาที จากผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นว่า ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเพิ่มปริมาณยอดเบญจมาศได้เหนือกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็ง จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจสำหรับนำมาใช้ในการผลิตต้นพันธุ์เบญจมาศจำนวนมากเชิงพาณิชย์ได้

คำสำคัญ: เบญจมาศ การเพิ่มปริมาณยอด ความเข้มข้นอาหาร ไซโตไคนิน ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

Abstract

In this research, the protocols for micropropagation of chrysanthemum during the shoot multiplication process were studied. The single nodal explants were cultured on a semi-solid medium including ¼ MS, ½ MS and MS added with cytokinin BAP at 0, 0.25, 0.50, and 1.00 mg/L. When cultured for a period of 8 weeks, it was found that all treatments produced only 1 new shoot per explants and number of nodes per shoot was not statistically different among treatments. ½ MS medium without growth regulator showed the highest shoot length, number of nodes per shoot and shoot fresh weight at 7.36 cm, 7.40 nodes, and 333.07 mg, respectively. Furthermore, the role of different culturing systems in shoot proliferation was determined. The single nodal explants were cultured using ½ MS medium without a growth regulator. The twin-flasks temporary immersion bioreactor (TIB) system was used with liquid medium feeding every 24 h for 4, 5, and 6 min each time, and compared with the semi-solid medium. When cultured for a period of 8 weeks period, results showed that feeding liquid medium every 24 h for 5 min each time, was suitable for increasing shoot quantity. This feeding

¹ หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

¹ Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

* Corresponding author. Email: irada.64thinsri@gmail.com

condition gave the highest number of shoots per explant, number of nodes per shoot, and shoot fresh weight at 1.48 shoots, 10.10 nodes, and 841.67 mg respectively, which were increased 1.4, 1.3 and 2.52 times, respectively compared to those of semi-solid medium. In addition, abnormality such as hyperhydricity (50%) was only found when liquid medium was fed every 24 h for 6 min each time. The results of the study indicate that TIB system can increase the efficiency of the chrysanthemum propagation over the semi-solid medium. Therefore, TIB system is a promising propagation method for commercial-scale chrysanthemum production.

Keywords: *Chrysanthemum morifolium*, shoot multiplication, medium concentration, cytokinin, TIB system