

ผลของสารคลอรีนไดออกไซด์ต่อชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อนในหลอดทดลอง
และการอนุบาลกล้าด้วยวัสดุปลูกที่ผสมแหนดงของต้นว่านชักมดลูก

Effect of Chlorine Dioxide on *In Vitro* Contaminated Plant and Plant
Nursery by Azolla-Mixed Plant Material of *Curcuma comosa*

ปิยวัฒน์ นพศรี¹ ปินชนก หวานสนิ¹ เพ็ญแข รุ่งเรือง¹ สุพัตร ฤทธิรัตน์² สุกุลรัตน์ สุวรรณโณ³ และ สุนทรียา กาละวงศ์^{1*}
Piyawawat Noppasee¹ Pinchanok Wansanit¹ Penkhae Rungrueng¹ Suphat Rittirat² Sakulrat Suwanno³
and Soontreeya Kalawong^{1*}

¹สาขาวิชาเกษตรและเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา 10600

²สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 80280

³สาขาการปรับปรุงพันธุ์พืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

¹Department of Agriculture and Agricultural technology, Faculty of Science and Technology,
Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok, 10600

²Program in Biology, Faculty of Science and Technology, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University,
Nakhon Si Thammarat 80280

³Program in Plant Breeding, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University,
Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

*Corresponding author E-mail: soontreeya596@gmail.com

Received 6 May 2022, Accepted 9 November 2022, Published 6 December 2022

บทคัดย่อ

ว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa*) เป็นพืชสมุนไพรที่มีอายุหลายปี ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เหง้าของว่านชักมดลูกถูกนำมาใช้เป็นตำรายาในการต้านการอักเสบ โดยเหง้าของพืชชนิดนี้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการแพทย์แผนไทย สำหรับต้านการอักเสบโดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการรักษาอาการมดลูกอักเสบของสตรีหลังคลอด ปัจจุบันการขยายพันธุ์แบบเดิมได้ปริมาณน้อยจึงนำเอาเทคนิคการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อพืชมาใช้ เพราะสามารถผลิตต้นพันธุ์ได้จำนวนมากในระยะเวลานานขึ้นอย่างไรก็ตาม กระบวนการทำให้ปลอดเชื้อในชิ้นส่วนพืชมีความสำคัญมากการทำให้ปลอดเชื้อด้วยสารเคมีเป็นวิธีหนึ่งที่ยอมรับใช้สารคลอรีนไดออกไซด์เป็นสารฆ่าเชื้อนั้นมีความเหมาะสมกับการลดการปนเปื้อนเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงและชิ้นส่วนพืช ซึ่งวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ คือศึกษาผลของการลดการปนเปื้อนในการอาหารเพาะเลี้ยงด้วยสารคลอรีนไดออกไซด์ รวมถึงการใช้แหนดงเป็นวัสดุปลูกในการปรับสภาพปลูกของต้นว่านชักมดลูก โดยอาหารเพาะเลี้ยงที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติมสารคลอรีนไดออกไซด์ สามารถช่วยส่งเสริมการสร้างยอดและการลดการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเลี้ยงต้นว่านชักมดลูกได้ พบว่าสารคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (10 มิลลิกรัมต่อลิตร, 3 ครั้ง) ให้ผลดีที่สุด คือ ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อและให้จำนวนยอดสูงสุด (6.86 ± 0.55 ยอด) โดยการทดลองการรอดชีวิตด้วยการใช้แหนดงเป็นวัสดุปลูก ทราบ : ขุยมะพร้าว : แหนดง ในสัดส่วน 2.0 : 1.0 : 0.1 ด้วยปริมาตรให้อัตราการรอดชีวิตถึง 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน จากผลการวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์กับพืชชนิดอื่นในวงศ์ขิงต่อไปในอนาคตได้

คำสำคัญ: ว่านชักมดลูก สารคลอรีนไดออกไซด์ การปนเปื้อน แหนดง

ABSTRACT

Curcuma comosa is a herbaceous perennial plant belonging to the Zingiberaceae family. Rhizomes of this plant have been used in Thai traditional medicine as an anti-inflammatory agent, particularly for the treatment of female postpartum endometritis. Currently, the conventional propagation of *C. comosa* has resulted in a low multiplication rate. Therefore, the tissue culture technique has become a suitable protocol for mass propagation in a short time. However, sterilization of explant is very important. Sterilization by chemical substances is a potent method and using chlorine dioxide as a disinfectant is suitable for reducing bacterial contamination of culture media and plant parts. Therefore, the purpose of this research was to study the effects of reducing microorganisms in the culture medium by Chlorine dioxide as well as using Azolla as planting material for the hardening of *C. comosa*. A culture medium sterilized with ClO_2 helped increase shoot formation and decrease contamination of *C. comosa* culture. The results showed that ClO_2 at 30 mg/L (10 mg/L, 3 times) resulted in the best results; it led to zero contamination in the culture medium and increased the number of shoots (6.86 ± 0.55 shoots). In the experiment on plant survival rate by using Azolla as planting material, the mixed planting material of sand, coconut coir, and Azolla at a ratio of 2.0: 1.0: 0.1 by volume resulted in the highest survival rate at 100.00 percent after 30 days of culture. The results of this study were expected to be useful for future studies of other Zingiberaceae.

Keywords: *Curcuma comosa*, Chlorine dioxide, Contamination, Azolla

บทนำ

พืชขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชที่มีความหลากหลายและมีความสำคัญ โดยเฉพาะการใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรค เช่น วานชักมดลูก วานนางคำ ข่า ไพล เร่วหอม และดาหลา เป็นต้น สำหรับใช้เป็นเครื่องเทศ เช่น กระวาน ขมิ้น กระชาย ขิง ข่ากะลา กระเจียวขาว และกระเจียวแดง เป็นต้น (พวงเพ็ญ, 2551) วานชักมดลูกเป็นพืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) ในตำรายาไทยใช้แก้ทวารหนักอักเสบ แก้กิดสีดวงทวาร แก้ประจำเดือนมาไม่ปกติ แก้มดลูกอักเสบ และขับลม ปัจจุบันมีการใช้อย่างแพร่หลายในลักษณะของยาบำรุงสำหรับสตรี เช่น ทำให้ประจำเดือนมาปกติ ช่วยให้มดลูกเข้าอู่เร็วในหญิงหลังคลอด ในประเทศไทยพบว่ามีการใช้ขิงชื่อนี้ว่า วานชักมดลูกจำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่ วานชักมดลูกตัวเมีย (*Curcuma comosa*) วานชักมดลูกตัวผู้ 2 ชนิด (*C. elata* และ *C. latifolia*) เป็นต้น (ระวีวรรณ, 2560) หากเป็นการปลูกโดยใช้วิธีธรรมชาติทั่วไปมักพบปัญหาในการเพาะปลูก คือ โรคเน่าของเหง้าและแมลงรบกวน ความไม่สม่ำเสมอและคุณภาพต้นพันธุ์ไม่ดีพอ ซึ่งปัญหาเหล่านี้จะพบในกรณีที่มีการเพาะปลูกในปริมาณมาก เนื่องมาจากการขยายพันธุ์ปกติของวานชักมดลูกจะใช้การขยายพันธุ์ด้วยการแยกเหง้าหรือหัวทำให้ควบคุมทั้งคุณภาพและการเกิดโรคได้ยาก ซึ่งในปัจจุบันได้มีการส่งเสริมให้มีการปลูกโดยใช้ต้นพันธุ์ที่มีคุณภาพดี ผลผลิตสูง ปลอดโรคและมีความสม่ำเสมอทางพันธุกรรมจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง วิธีการที่นิยมนำมาแก้ปัญหาดังกล่าวคือ การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Singh et al., 2013) ซึ่งเป็น วิธีขยายพันธุ์พืชที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถผลิตพืชได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น ต้นพืชมีความสม่ำเสมอ สมบูรณ์แข็งแรง และปลอดโรค มีรายงานการวิจัยการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร เช่น ขิง (Mohamed et al., 2011) ขมิ้น (Shaqufta et al., 2009; Goyal et al., 2010; Auchalee, 2012; Shrama et al., 2013; ปริญญญา และคณะ, 2558) สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำเป็นต้องทำในสภาพ

ปลอดภัยซึ่งการปนเปื้อนเกิดได้ทั้งจากเชื้อรา หรือแบคทีเรียที่ปนมากับชิ้นส่วนพืชหรืออาหารเพาะเลี้ยง โดยแหล่งของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น วัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ปฏิบัติการ บริเวณย้ายเลี้ยง ผู้ปฏิบัติการอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง และชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงเป็นต้น การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทำให้เกิดผลเสียต่อการเจริญเติบโตและรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืช มีรายงานการใช้สารเคมี เช่น สารคลอรีนไดออกไซด์ (ClO_2) ที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส เนื่องจากตัวสารมีความสามารถในการกำจัดเชื้อในช่วงที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่กว้าง (pH 3-9) (Huang et al., 1997) และไม่ทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ และไม่เกิดปฏิกิริยาที่เป็นพิษในเซลล์พืช มีรายงานการใช้สารคลอรีนไดออกไซด์ในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella typhimurium* ในกระบวนการผลิตไก่แช่เยือกแข็ง (สุภัทราพร, 2536) การกำจัดสาหร่ายที่ปนเปื้อนในน้ำประปา (ปฐมพร, 2551) การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเยื่อปรีรา (Cardoso and Silva, 2012) และสับปะรด (วุฒิชัย และสมปอง, 2557) จากนั้นเมื่อได้ต้นกล้าจากในหลอดทดลองปริมาณมากแล้วจำเป็นต้องมีการเตรียมต้นกล้าที่ไต่ลงดินปลูก ส่วนมากต้นกล้าของพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะอ่อนแอในระยะอนุบาล และตอบสนองต่อปุ๋ยเคมีได้ โดยการใช้แทนแฉงผสมลงไปในวัสดุปลูกตั้งแต่เริ่มปลูกกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากแทนแฉงสามารถปลดปล่อยไนโตรเจนซึ่งเป็นอินทรีย์ที่ไม่มีพิษต่อกล้าพืช กล้าจะดูดซึมไนโตรเจนเข้าไปในรากพืชได้เลย มีรายงานการศึกษาการใช้แทนแฉงผสมกับวัสดุปลูกกล้วยน้ำว้าปากช่อง 50 สามารถเจริญเติบโตเร็วกว่าต้นกล้าที่ไม่ได้ใส่แทนแฉง (เทคโนโลยีชาวบ้านออนไลน์, 2561)

ดังนั้นในการศึกษานี้ได้ทำการศึกษากำหนดการใช้สารคลอรีนไดออกไซด์ต่อการลดการปนเปื้อน รวมถึงการใช้แทนแฉงมาใช้ในการออกปลูกเพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของวุ้นชั้กมดลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกเพิ่มขึ้น

วิธีการวิจัย

วัสดุพืช

ในการทดลองครั้งนี้ใช้ต้นวุ้นชั้กมดลูกในหลอดทดลองที่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในอาหารแข็ง คืออาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 5.7 วางเลี้ยงที่ความเข้มแสง 1,300 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน นำต้นวุ้นชั้กมดลูกที่ได้มาใช้ในการศึกษาต่อไป

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของสาร ClO_2 ต่อการลดการปนเปื้อนในอาหารเหลวสภาพแช่เย็น

1.1 การศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของสาร ClO_2 ต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย

นำชิ้นส่วนของต้นวุ้นชั้กมดลูกในหลอดทดลองที่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย ทำการตัดรากและใบออกให้มีขนาด 1.5 เซนติเมตร นำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมสาร ClO_2 (ของบริษัท ไทยไบโอ อ็อกซิน จำกัด ประกอบด้วยหัวเชื้อ A และ B) เข้มข้น 0 10 20 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำชิ้นส่วนมาวางเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที ความเข้มแสง 1,300 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 30 วัน ในการศึกษานี้มีทั้งหมด 5 สิ่งทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด (ขวดละ 1 ต้น) บันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย (เทียบกับชุดควบคุม) อัตราการรอดชีวิต จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวราก วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

1.2 ผลของจำนวนครั้งในการเติมสาร ClO_2 ต่อประสิทธิภาพควบคุมเชื้อแบคทีเรีย

นำชิ้นส่วนของต้นวุ้นชั้กมดลูกในหลอดทดลองที่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว (จากการทดลองที่ 1.1) มาตัดรากและใบออกให้มีขนาด 1.5 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมสาร ClO_2 จำนวนครั้งที่แตกต่างกัน คือการเติมสาร ClO_2 จำนวน 1 2 และ 3 ครั้ง ครั้งละ 10

มิลลิกรัมต่อลิตร เติมสารครั้งละ 7 วัน (ชุดควบคุม คือไม่เติมสาร ClO_2) จากนั้นนำขึ้นส่วนมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที ความเข้มแสง 1,300 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 30 วัน ในการศึกษาครั้งนี้มีทั้งหมด 4 สิ่งทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด (ขวดละ 1 ต้น) บันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย (เทียบกับชุดควบคุม) อัตราการรอดชีวิต จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวราก แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของวัสดุปลูกที่ผสมแวนแดงต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตในการอนุบาลกล้า

นำขวดเพาะเลี้ยงของต้นว่านขั้มดลูก (การทดลองที่ 1.2) วางในโรงเรือนก่อนย้ายปลูก 2-3 วัน โดยทำการคลายฝาขวดเล็กน้อย จากนั้นนำต้นมาล้างขึ้นออกจากรากให้สะอาด และแช่ยาป้องกันกำจัดเชื้อราก่อนปลูกพืชในภาชนะปลูกที่มีวัสดุปลูกที่ประกอบด้วยทราย 2 ส่วน ขุยมะพร้าว 1 ส่วน ร่วมกับการผสมแวนแดงที่อัตราส่วนต่างๆ คือ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9 1.0 และ 2.0 ส่วน ทำการรดน้ำและให้ความชื้นแก่ต้นพืชในภาชนะปลูก โดยการใช้พลาสติกห่อหุ้มเพื่อรักษาความชื้นไว้ในระบบปิด แล้วพรางแสงในโรงเรือนเพาะชำ เพื่อลดความเข้มแสงในโรงเรือน เมื่อต้นพืชที่ย้ายปลูกเริ่มแข็งแรงจึงค่อยๆ ทำการปรับสภาพ จนกว่าจะเอาไว้ในสภาพปกติได้ หลังจากการย้ายปลูกเป็นเวลา 30 วัน บันทึกอัตราการรอดชีวิต ความสูงที่เพิ่มขึ้น และจำนวนใบที่เพิ่มขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้มีทั้งหมด 11 สิ่งทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ 5 ต้น วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

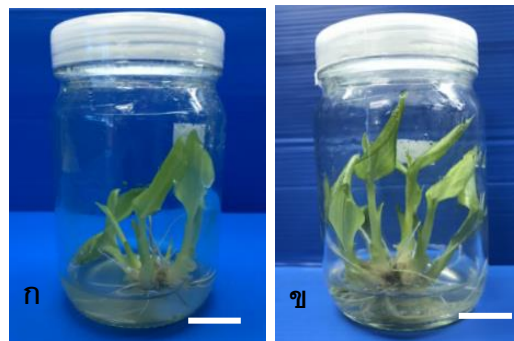
ผลการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 ผลของสาร ClO_2 ต่อการลดการปนเปื้อนในอาหารเหลวสภาพเขย่าเลี้ยง

1.1 ผลของระดับความเข้มข้นของสาร ClO_2 ต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย

จากการศึกษาผลสาร ClO_2 ต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียของต้นว่านขั้มดลูก ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ClO_2 เข้มข้น 0-40 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าอาหารเหลว MS เติม ClO_2 ทุกความเข้มข้น ให้เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนลดลง คือ 33.33 ± 7.22 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 1) โดยอาหารเหลว MS ที่ไม่เติมสาร ClO_2 (ชุดควบคุม) พบว่าเกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย 100 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้ในการศึกษามีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียอยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงอยู่แล้ว โดยลักษณะการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในอาหารมีลักษณะมีสีขาวขุ่น (แสดงในภาพที่ 1ก) ซึ่งการเติมสาร ClO_2 สามารถลดการปนเปื้อนได้เนื่องจากมาจากสารนี้มีคุณสมบัติในการออกซิไดส์สูง จึงมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีมาก โดยสามารถทำลายระบบเอนไซม์ และระบบการสังเคราะห์โปรตีน ทำให้ปริมาณเชื้อลดลงได้ เมื่อพิจารณาถึงอัตราการรอดชีวิตของว่านขั้มดลูกในอาหารเหลว MS การเติมและไม่เติมสาร ClO_2 ให้ผลอัตราการรอดชีวิตที่ไม่แตกต่างกันอยู่ในช่วง 83.33 ± 19.24 แสดงว่าสาร ClO_2 ไม่มีผลต่อ อัตราการรอดชีวิต แต่อย่างไรก็ตามการทดลองนี้เก็บผลในระยะเวลา 30 วัน แต่เมื่อติดตามดูผลการทดลองเป็นระยะเวลา 60 วัน ปรากฏว่าต้นพืชในชุดควบคุมตายทั้งหมด และต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเติมสาร ClO_2 ความเข้มข้นที่ 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอาการเหี่ยวเฉาและตายในที่สุด แตกต่างกับรายงานของ วราภรณ์ หิดฉิม (วราภรณ์ และคณะ, 2561) ที่ศึกษาสาร ClO_2 ต่อการปลอดเชื้อของกล้วยหอมเขียวบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมสาร ClO_2 เข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ลดการปนเปื้อนสูงสุดและสร้างยอดรวม 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 20 วัน เนื่องจากระยะเวลาของสาร ClO_2 ต่อการฆ่าเชื้อในอาหารอาจมีระยะเวลาที่จำกัด รวมไปถึงชิ้นส่วนพืชที่ใช้ในการทดลองแตกต่างกัน ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นที่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียมาก่อนอยู่แล้วเมื่อนำมาทำการทดลองจึงทำให้มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียได้มาก

สำหรับจำนวนยอด และความยาวยอดของต้นว่านชักมดลูกในอาหารเหลวสูตร MS เติมสาร ClO_2 เข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดและความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด คือ 6.00 ± 1.56 และ 10.78 ± 2.20 ยอดต่อขวด ตามลำดับ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 1) โดยลักษณะการเกิดยอดของว่านชักมดลูกจากการทดลองพบว่ามีลักษณะเป็นกลุ่มยอดสีเขียว กาบใบเรียวยาว (ภาพที่ 1) นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนและความยาวรากในอาหารเหลวสูตร MS เติมสาร ClO_2 เข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลการทดลองที่ดีที่สุดคือ คือ 11.58 ± 2.83 และ 6.31 ± 0.49 ใบต่อขวด 19.92 ± 3.07 และ 3.48 ± 0.22 ยอดต่อขวด ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 1) ลักษณะของรากเป็นรากแขนงสีขาวอมเหลืองอ่อนออกมาในปริมาณมาก (ภาพที่ 1) จากการทดลองพบว่าการเติมสาร ClO_2 ไม่ปรากฏความผิดปกติของชิ้นส่วนพืชของว่านชักมดลูกทั้งจำนวนยอด ความยาวใบ และความยาวราก สอดคล้องกับรายงานของ วุฒิชัย ศรีช่วย และสมปอง เตชะโต (วุฒิชัย และสมปอง, 2557) ที่ศึกษาการเจริญเติบโตในสับปะรดภูแล โดยการเติมสาร ClO_2 ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ พบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสาร ClO_2 เข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ได้จำนวนใบ 11 ใบต่อต้น ได้มากกว่าอาหารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ คือให้จำนวนใบเฉลี่ย 9.7 ใบต่อต้น อาจเป็นเพราะในอาหารสังเคราะห์ที่ไม่ผ่านความร้อน/นึ่งฆ่าเชื้อ ทำให้ธาตุอาหารบางตัวที่เป็นองค์ประกอบในสูตรอาหาร MS ไม่เกิดการสูญเสียทำให้พืชสามารถนำธาตุอาหารมาใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่ การศึกษาครั้งนี้พบว่าสาร ClO_2 ทุกความเข้มข้น คือ 10 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถลดการปนเปื้อนได้ แต่ว่านชักมดลูกที่ใช้สาร ClO_2 เข้มข้น 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรากฏการตายเกิดขึ้นหลังจากการย้ายเลี้ยงได้ 60 วัน ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสม คือการใช้สาร ClO_2 เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 1 ต้นว่านชักมดลูกที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติมที่ BA เข้มข้น 1 มก./ล. และไม่เติมสาร ClO_2 (ก) และต้นว่านชักมดลูกบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับสาร ClO_2 เข้มข้น 10 มก./ล. เป็นเวลา 30 วัน

(Scale bar = 1.16 เซนติเมตร)

ตารางที่ 1 แสดงผลของระดับความเข้มข้นของสาร ClO_2 ในอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเจริญเติบโตของวุ้นชั้กมดลูกหลังจากเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 30 วัน

	การเติมสาร ClO_2					F-test	C.V. (%)
	0 มก./ล.	10 มก./ล.	20 มก./ล.	30 มก./ล.	40 มก./ล.		
การปนเปื้อน (%)	100.00±0.00 ^a	33.33±7.22 ^b	33.33±7.22 ^b	33.33±0.00 ^b	33.33±7.22 ^b	*	15.10
อัตราการรอดชีวิต (%)	83.33±19.24	91.67±16.66	91.67±16.66	91.67±16.66	91.67±16.66	ns	17.43
จำนวนยอด	5.67±1.15	5.25±1.10	5.17±1.00	6.00±1.56	4.92±1.50	ns	22.64
ความยาวยอด (ซม.)	8.89±1.82	8.38±2.79	7.98±3.71	10.78±2.20	8.80±2.43	ns	23.06
จำนวนใบ	9.75±2.92	10.67±2.54	9.08±2.91	11.58±2.83	9.17±4.02	ns	23.21
ความยาวใบ (ซม.)	4.52±0.81	4.99±1.87	3.93±1.90	19.92±3.07	4.69±1.30	ns	22.35
จำนวนราก	18.83±4.87	18.92±5.07	13.50±5.07	19.92±3.07	16.58±7.29	ns	26.98
ความยาวราก (ซม.)	3.05±0.68	2.43±0.61	2.67±1.27	3.48±0.22	2.70±0.93	ns	28.38

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ($P>0.05$)

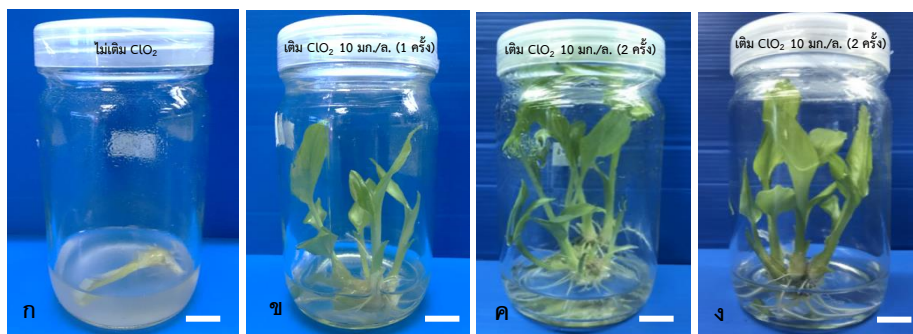
* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($P<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบด้วยวิธี DMRT

1.2 ผลของจำนวนครั้งในการเติมสาร ClO_2 ต่อประสิทธิภาพควบคุมเชื้อแบคทีเรีย

จากการศึกษาผลของจำนวนครั้งในการเติมสาร ClO_2 ต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงต้นวุ้นชั้กมดลูก (จากการทดลองที่ 1.1) เป็นเวลา 30 วัน พบว่าการเติมสาร ClO_2 ที่เติม 3 ครั้ง ครั้งละ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมห่างกันครั้งละ 7 วัน ให้เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของแบคทีเรียเฉลี่ย คือ 0.00 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) (ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นว่าต้นกล้าที่เลี้ยงในอาหารที่เติมสาร ClO_2 ทุกความเข้มข้น ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย คือ 100.00 ± 0.00 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) และพบว่าอาหารที่เติมสาร ClO_2 จำนวน 3 ครั้ง ให้จำนวนยอด และความยาวยอดเฉลี่ยสูงกว่าชุดควบคุม คือ 6.86 ± 0.55 และ 8.30 ± 0.78 ยอดต่อขวด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ลักษณะของยอด เป็นกลุ่มยอดสีเขียว กาบใบเรียวยาว (ภาพที่ 2) สอดคล้องกับการศึกษาของ อรุณีม่วงแก้วงาม (อรุณี, 2559) รายงานว่าสามารถเพิ่มปริมาณยอดข้าวหอมกระดังงาได้ มากกว่า 2 เท่า เมื่อเลี้ยงในอาหารเติมสาร ClO_2 เข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับการเลี้ยงบนอาหารนึ่งฆ่าเชื้อ ในขณะที่ Cardoso และ da Silva (Cardoso and Silva, 2012) รายงานว่า เยอบีร่าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเติมสาร ClO_2 เจริญเติบโตได้ดีหรือดีกว่าเยอบีร่าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการนึ่งฆ่าเชื้อทำให้สารอาหารบางส่วนสูญเสียจากการใช้ ความร้อนสูง สำหรับจำนวนใบ และความยาวใบของต้นวุ้นชั้กมดลูกโดยสาร ClO_2 ที่เติม 3 ครั้ง ครั้งละ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนใบ และความยาวใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 8.30 ± 0.46 และ 6.09 ± 0.15 ใบต่อขวด ตามลำดับ (ตารางที่ 2) โดยใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะใบรูปไข่สีเขียวอ่อน (ภาพที่ 2) ส่วนจำนวนราก และความยาวราก ของต้นวุ้นชั้กมดลูกโดยสาร ClO_2 ที่เติม 3 ครั้ง ครั้งละ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนราก และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด คือ 9.55 ± 1.18 และ 4.91 ± 0.26 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ลักษณะรากเป็นรากแขนงมีสีขาวขุ่น สอดคล้องกับการศึกษาของ วุฒิชัย ศรีช่วย และสุพรรณ ศรีสวัสดิ์ (วุฒิชัย และสุพรรณ, 2560) ที่รายงานว่า สามารถชักนำรากม่วงเทพรัตน์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีการสร้างราก 12.33 ± 3.84 รากต่อชิ้นส่วน เมื่อเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำ ClO_2 เข้มข้น 10

มิลลิกรัมต่อลิตร Lenntech (Lenntech, 2018) รายงานว่าสาร ClO_2 เป็นแก๊สที่สามารถละลายน้ำได้และไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำ มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์แม้ใช้ในปริมาณน้อย และไม่สร้างสารคลอรามิน (chloramine) ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์และต้นกล้าที่เลี้ยงบนอาหารที่เน่าเสียกับอาหารเติมสาร ClO_2 มีน้ำหนักสดของต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าสาร ClO_2 ความเข้มข้นต่ำไม่เป็นพิษกับต้นพืชในสภาพปลอดเชื้อ และยังปลอดภัยต่อมนุษย์ การศึกษาในครั้งนี้พบว่าอาหารที่เติมสาร ClO_2 ทุกความเข้มข้นลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียได้ แต่อาหารที่เติมสาร ClO_2 เข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (3 ครั้ง ครั้งละ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถลดการปนเปื้อนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด ซึ่งผลการศึกษาที่น่าจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการช่วยทำให้ชิ้นส่วนพืชในหลอดทดลองกลับมาปลอดเชื้อแบคทีเรียและสามารถเจริญเติบโตได้ดี และยังอาจประยุกต์ใช้วิธีการนี้กับชิ้นส่วนพืชอื่นๆ ที่มีการปนเปื้อนเชื้อในหลอดทดลองต่อไปในอนาคต



ภาพที่ 2 ต้นวุ้นขั้วมดลูกที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS (เหลว) เดิมฮอร์โมน BA ร่วมกับสาร ClO_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 30 วัน (Scale bar = 0.7 เซนติเมตร)

ตารางที่ 2 ผลของระยะเวลาในการใส่สาร ClO_2 ต่อประสิทธิภาพควบคุมเชื้อแบคทีเรียของวุ้นขั้วมดลูกหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

	จำนวนครั้งที่เติมสาร ClO_2 (ครั้งละ 10 มก./ล.)				F-test	C.V. (%)
	ไม่เติม	1 ครั้ง	2 ครั้ง	3 ครั้ง		
การปนเปื้อน (%)	100.00±0.00 ^a	8.00±4.47 ^b	12.00±2.23 ^b	0.00±0.00 ^c	**	20.52
อัตราการรอดชีวิต (%)	33.33±7.22 ^b	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	**	24.37
จำนวนยอด	1.02±0.22 ^{bc}	2.45±1.07 ^{bc}	3.22±1.17 ^b	6.86±0.55 ^a	**	24.98
ความยาวยอด (ซม.)	0.98±0.28 ^c	3.86±0.74 ^b	4.21±0.26 ^b	8.30±0.78 ^a	**	13.17
จำนวนใบ	0.49±0.39 ^d	1.86±0.45 ^c	3.54±0.59 ^b	6.09±0.15 ^a	**	19.75
ความยาวใบ (ซม.)	0.49±0.39 ^d	1.86±0.45 ^c	3.54±0.59 ^b	6.09±0.15 ^a	**	14.22
จำนวนราก	0.73±0.45 ^d	3.72±0.54 ^c	5.32±0.13 ^b	9.55±1.18 ^a	**	14.34
ความยาวราก (ซม.)	0.62±0.24 ^c	1.34±0.14 ^{bc}	2.50±1.02 ^b	4.91±0.26 ^a	**	35.47

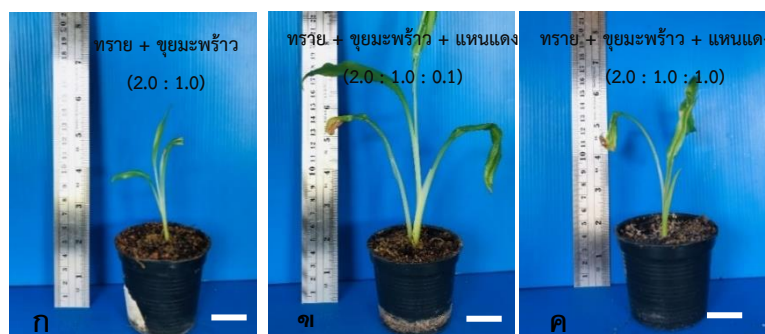
หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ($P>0.05$)

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($P<0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบด้วยวิธี DMRT

การทดลองที่ 2 ผลของวัสดุปลูกที่ผสมแหนดต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตในการอนุบาลกล้า

จากการศึกษาอัตราส่วนผสมของแหนดที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของวุ้นชั้มดลูก โดยการใช้วัสดุปลูกที่แตกต่างกัน คือ ทราย ขุยมะพร้าว และแหนด ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หลังจากการย้ายปลูกเป็นเวลา 30 วัน พบว่าการเติมแหนดทุกความเข้มข้น ให้อัตราการรอดเฉลี่ย คือ 100.00 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) (ตารางที่ 3) เมื่อพิจารณาถึงความสูง และจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นของต้นวุ้นชั้มดลูก พบว่าวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ทราย ขุยมะพร้าว และแหนด (2.0 : 1.0 : 0.1 เท่า) ให้ความสูงและจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด คือ 8.32 ± 0.90 เซนติเมตร และ 2.44 ± 0.20 ใบ ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) (ตารางที่ 3) นอกจากนี้พบว่าในวัสดุปลูกที่มีเปอร์เซ็นต์แหนดมาก คือ 0.2-1.0 มีผลทำให้ความสูง และจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นลดลง และพบว่าใบมีอาการปลายใบไหม้เนื่องจากแหนดสามารถปลดปล่อยไนโตรเจนซึ่งเป็นอินทรีย์ที่เป็นธาตุอาหารไนโตรเจนเข้าไปในรากทำให้สามารถเจริญเติบโตเร็วกว่าต้นกล้าที่ไม่ได้ใส่แหนด (เทคโนโลยีชาวบ้านออนไลน์, 2561) แต่อย่างไรก็ตามต้นที่ใช้ในการศึกษาการออกปลูกครั้งนี้เป็นต้นที่มาจากเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว (การทดลองที่ 2.1) ต้นมีลักษณะที่ฉ่ำน้ำมากกว่าต้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง รวมทั้งในวัสดุปลูกที่มีแหนดในสัดส่วนปริมาณมากก็การที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนปริมาณมาก อาจทำให้พืชมีการแบ่งเซลล์ที่มากขึ้น เจริญเติบโตได้อย่างเร็ว แต่ลักษณะต้นและใบบางลง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มี ความเข้มข้นแสงสูงทำให้เกิดอาการใบไหม้ หรือต้นหักได้ง่าย สอดคล้องกับผลการศึกษาของ ชิตชนก โชติกปวิพัทธ์ (ชิตชนก, 2557) ที่ใช้แหนดเป็นวัสดุปลูกดาวเรือง เมื่อวัสดุปลูกที่มีเปอร์เซ็นต์แหนดมากมีผลทำให้ความสูง และจำนวนใบลดลง อาจเนื่องจากแหนดสามารถผลิต Indole-3-acetic acid (IAA) ได้ (Forni et al., 1992) ซึ่งฮอร์โมนชนิดนี้อยู่ในกลุ่ม auxin ซึ่ง auxin มีคุณสมบัติในการแบ่งเซลล์ และเกิดราก เมื่อปริมาณแหนดมากทำให้สัดส่วนของฮอร์โมนไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตได้ จึงทำให้วัสดุปลูกที่มีแหนดอัตราส่วนที่แตกต่างกันมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน (สมเพียร, 2525) โดยลักษณะของต้นวุ้นชั้มดลูกที่สมบูรณ์จะมีลักษณะก้านใบเรียงซ้อนเป็นลำต้นเทียม ผิวใบด้านบนสีเขียวเข้ม ผิวใบด้านล่างเขียวอ่อน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน คือ ทราย ขุยมะพร้าว และแหนด ทุกความเข้มข้นสามารถทำให้มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ โดยวัสดุปลูก คือ ทราย ขุยมะพร้าว และแหนด (2.0 : 1.0 : 0.1 เท่า) ให้อัตราการเจริญเติบโตทางด้านความสูง และ จำนวนใบที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด



ภาพที่ 3 ต้นวุ้นชั้มดลูกที่เลี้ยงในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ทราย ขุยมะพร้าว และแหนดที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน
(Scale bar = 2.5 เซนติเมตร)

ตารางที่ 3 ผลของอัตราส่วนผสมแห้งในวัสดุปลูกต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของวุ้นชั่งมดลูกภายหลังการย้ายออกปลูก เป็นเวลา 30 วัน

สัดส่วนของวัสดุปลูก			อัตราการรอดชีวิต	ความสูงที่เพิ่มขึ้น	จำนวนใบที่เพิ่มขึ้น
ทราย	ขุยมะพร้าว	แหนแดง	(%)	(ซม.)	(ใบ)
2.0	1.0	-	91.67±16.66 ^b	2.46±0.00 ^c	1.22±0.20 ^{bc}
2.0	1.0	0.1	100.00±0.00 ^a	8.32±0.90 ^a	2.44±0.20 ^a
2.0	1.0	0.2	100.00±0.00 ^a	5.64±0.24 ^b	1.22±0.19 ^{bc}
2.0	1.0	0.3	100.00±0.00 ^a	5.58±0.64 ^b	1.22±0.19 ^{bc}
2.0	1.0	0.4	100.00±0.00 ^a	5.49±0.80 ^b	1.56±0.20 ^b
2.0	1.0	0.5	100.00±0.00 ^a	5.45±0.00 ^b	1.44±0.23 ^b
2.0	1.0	0.6	100.00±0.00 ^a	5.33±0.00 ^b	1.33±0.10 ^{bc}
2.0	1.0	0.7	100.00±0.00 ^a	5.21±0.00 ^b	1.22±0.20 ^{bc}
2.0	1.0	0.8	100.00±0.00 ^a	5.36±0.33 ^b	1.22±0.23 ^{bc}
2.0	1.0	0.9	100.00±0.00 ^a	5.22±0.00 ^b	1.00±0.10 ^c
2.0	1.0	1.0	100.00±0.00 ^a	5.21±0.18 ^b	1.00±0.12 ^c
F-test			**	**	**
C.V. (%)			5.29	10.82	16.22

หมายเหตุ : ** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($P<0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของสารคลอรีนไดออกไซด์ต่อการลดการปนเปื้อนในชิ้นส่วนพืชในสภาพเขย่าเลี้ยง พบว่าอาหารเหลวสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ClO_2 จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของแบคทีเรียเป็น 0.00 ± 0.00 และได้อัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังให้จำนวนยอด จำนวนใบ และจำนวนราก 6.86 ± 0.55 ยอดต่อขวด 8.30 ± 0.46 ใบต่อขวด และ 9.55 ± 1.18 รากต่อขวด สูงที่สุด ตามลำดับ หลังจากการย้ายเลี้ยง 30 วัน และจากการศึกษาการอนุบาลต้นวุ้นชั่งมดลูกที่ได้จากหลอดทดลองด้วยวัสดุปลูก คือ ทราย ขุยมะพร้าว และแหนแดง (2.0 : 1.0 : 0.1 เท่า) ได้อัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความสูงต้น และจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นสูงสุด 8.32 ± 0.90 เซนติเมตร และ 2.44 ± 0.20 ภายหลังการย้ายปลูก 30 วัน

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาต่อไปอาจทำการลดปริมาณของอัตราส่วนผสมแห้งลดลง หรือการเพิ่มปริมาณแหนแดงแต่อาจทำการหมักแหนแดงก่อนนำมาผสมเป็นวัสดุปลูกเพื่อช่วยในการตั้งธาตุอาหารที่สำคัญในแหนแดงออกมาหรือลดความร้อนจากกระบวนการหมักได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย จากสำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา และสถานที่ทำวิจัยห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาวิชาเกษตรและเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา วัสดุพืชและสารเคมีบางส่วนได้รับการสนับสนุนจากสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา และสาขาการปรับปรุงพันธุ์พืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

เอกสารอ้างอิง

- ชิดชนก โชติภักดิ์. (2557). การใช้แผนผังเป็นวัสดุเพาะเมล็ดและวัสดุปลูกดาวเรือง. ใน รายงานผลการวิจัย (76 หน้า). นครปฐม: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- เทคโนโลยีชาวบ้านออนไลน์. (2561). แหนแดง พืชน้ำหมักจรรยา ใช้ผลิตปุ๋ย ปลูกข้าว เลี้ยงสัตว์ ทำเกษตรอินทรีย์ลดต้นทุน. ค้นจาก <https://www.technologychaoban.com>
- ปฐมพร พูลสวัสดิ์. (2551). การใช้คลอรีนไดออกไซด์และคลอรีนเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย ในอ่างเก็บน้ำของโรงไฟฟ้าวังน้อย. วารสารวิศวกรรมสาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 21(64), 69-78.
- ปริญญา สุคนธ์รัตน์, ทศนี ขาวเนียม, และสมปอง เตชะโต. (2558). การทำให้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อและการชักเคลือบจากชิ้นส่วนกาบใบของขมิ้นชันในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 2(2), 36-40.
- พวงเพ็ญ ศิริรักษ์. (2551). การศึกษาพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์, 5(2), 119-128.
- ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์. (2560). สารทุติยภูมิและฤทธิ์ทางชีวภาพของว่านชักมดลูกที่จำหน่ายในท้องตลาดของไทย. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 19(1), 1-21.
- วรารณ หิดฉิม, สุริรัตน์ เย็นซ้อน, และสมปอง เตชะโต. (2561). ผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการปลอดเชื้อและการเพิ่มปริมาณยอดรวมของกล้วยหอมเขียวในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 5(2), 1-7.
- วุฒิชัย ศรีช่วย, และสมปอง เตชะโต. (2557). ผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงสับปะรดภูแลด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์. วารสารแก่นเกษตร, 42(พิเศษ 3), 75-80.
- วุฒิชัย ศรีช่วย, และสุพัฒน์ ศรีสวัสดิ์. (2560). การใช้คลอรีนไดออกไซด์ (ClO₂) เพื่อทำให้ปลอดเชื้อในอาหารสังเคราะห์และการขยายพันธุ์ม่วงเทพรัตน์ (*Exacum affine* Balf.f. ex Regel) ในหลอดทดลอง (หน้า 43). นราธิวาส: มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์.
- สมเพียร เกษมทรัพย์. (2525). การปลูกไม้ดอก. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุภัทราพร มหาแก้ว. (2536). ประสิทธิภาพของคลอรีนไดออกไซด์ในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella typhimurium* ในกระบวนการผลิตไก่แช่เยือกแข็ง. (วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อรุณี ม่วงแก้วงาม. (2559). การขยายพันธุ์ดาหลาขาวด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3(2), 8-11.
- Anchalee, J. 2012. Effects of NAA and sucrose on shoot induction and rapid micropropagation by trimming shoot of *Curcuma longa* L. Thammasat International Journal of Science and Technology, 4, 54-60.
- Cardoso, J. C. and Silva, J. A. T. (2012). Micropropagation of gerbera using chlorine dioxide (ClO₂) to sterilize the culture medium. In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant, 48(3), 362-368.

- Forni, C., J. Riov, Grilli Caiola M. and Tel-OR, E. 1992. Indole-3-acetic acid (IAA) production by *Arthobacter* species isolated from Azolla. **Journal of General Microbiology**, 138, 377-381.
- Goyal, A. K., Ganguly, K., Mishra, T. and Sen, A. (2010). In vitro multiplication of *Curcuma longa* Linn. an important medicinal zingiber. **NBU Journal of Plant Sciences**, 4, 21-24.
- Huang, J., Wang, L., Ren, L., Ma, N. Q. and Juli, F. (1997). Disinfection effect of chlorine dioxide on bacteria in water. **Water Research**, 31, 607-613.
- Lenntech. (2018). **Disinfectants: Chlorine dioxide**. Retrieved from <https://www.lenntech.com/processes/disinfection/chemical/disinfectantschlorinedioxide.htm>
- Mohamed, S. A., Hussein, S. T., Usama, I. A., Hattem, M. and El-Sayed, I. G. (2011). In vitro propagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosco). **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, 9, 165-172.
- Shaqufta, N., Saiga, I., Sumera, J. and Aamir, A. (2009). In vitro clonal multiplication and acclimatization of different varieties of Turmeric (*Curcuma longa* L.). **Pakistan Journal of Botany**, 4, 2807-2816.
- Shrama, S. K., Shrama, M. and Raina, V. 2013. In vitro protocol standardization for turmeric in Jammu division. **Journal of Biotechnology Research Center**, 8, 55-57.
- Singh, D., Singh, H., Nongalleima, K., Moirangthem, S. and Devi, S. (2013). Analysis of growth, yield potential and horticultural performance of conventional vs. micropropagated plants of *Curcuma longa* var. Lakadong. **African Journal of Biotechnology**, 12, 1604-1608.