



การใช้สารไคโตซานร่วมกับสารเร่งการเจริญเติบโตเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างสารสำคัญทางโภชนาการในการเพาะเลี้ยงข้าวหอมมะลิ 105

The use of chitosan and growth regulators for enhancement nutritious active substances in KDML105 tissue culture

รจรอง หอมหวล¹ มณฑา วงศ์มณีโรจน์¹ เนตรชนก เกียรติ์นันทพัทธ์¹ สุลักษณ์ แจ่มจรัส¹ รัตนา เออารัมย์¹ พิรพงษ์ แสงวานวงศ์กุล² ชุติศักดิ์ คุณไทย์² และชวนพิศ อรุณรังสิกุล¹

¹ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน ม.เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม 73140 โทร. 034 - 351392 ต่อ 485 และ 08 – 33155018

² ศูนย์เทคโนโลยีพืชผลหลังเก็บเกี่ยว สถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน ม.เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม 73140

บทคัดย่อ

ศึกษาการใช้สารไคโตซานในการแช่เมล็ดและไม่แช่เมล็ดข้าวหอมมะลิ 105 ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ต้นกล้าข้าวที่เจริญจากเมล็ดที่แช่สารไคโตซานมีลำต้นและใบสีเขียวเข้มกว่าต้นกล้าที่เจริญมาจากเมล็ดที่ไม่แช่สารไคโตซานหลังจากเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากสารเร่งการเจริญเติบโตเป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำต้นกล้าที่ได้จากการแช่และไม่แช่เมล็ดด้วยสารไคโตซานมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก./ล. ร่วมกับสารไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0, 5, 10, 15 และ 20 มก./ล. เป็นเวลา 1 เดือน เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการสร้างสารสำคัญทางโภชนาการ พบว่า ต้นกล้าจากเมล็ดที่แช่สารไคโตซาน มีการแตกยอดดีกว่าต้นกล้าจากเมล็ดที่ไม่แช่สารไคโตซานโดยเฉพาะในสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก./ล. ร่วมกับสารไคโตซาน 5 มก./ล. (11.14 ต้น/เมล็ด) จากนั้นเพิ่มปริมาณต้นกล้าข้าวที่ได้จากทุกการทดลองในอาหารสูตรเดิมเป็นเวลา 3 เดือน เพื่อนำไปวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยวิธี The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) Assay และคลอโรฟิลล์ เอ บี โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ค่า absorbance ที่ A663 และ A646 จากการทดลองพบว่า ต้นกล้าจากเมล็ดที่แช่ในสารไคโตซานและเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก./ล. ร่วมกับสารไคโตซานความเข้มข้นตั้งแต่ 5-15 มก./ล. มีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ คลอโรฟิลล์เอและบี มากกว่าต้นกล้าจากเมล็ดที่ไม่แช่และไม่ได้อาศัยในอาหารที่มีสารไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญ

บทนำ

เนื่องจากกระแสดความต้องการของผู้บริโภคที่เน้นอาหารสุขภาพเพื่อดูแลร่างกายให้แข็งแรง อายุยืนยาว การบริโภคอาหารเสริมเพื่อสุขภาพจึงมีความต้องการเพิ่มสูงขึ้น หากเพิ่มมูลค่าข้าวหอมมะลิโดยเน้นการเป็นอาหารสุขภาพตามกระแสดความนิยมของผู้บริโภคจะทำรายได้ให้กับประเทศเพิ่มมากยิ่งขึ้น นอกเหนือจากส่งเมล็ดข้าวไปขายต่างประเทศ

วัตถุประสงค์

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างสารสำคัญทางโภชนาการในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวหอมมะลิ โดยใช้สารไคโตซานร่วมกับสารเร่งการเจริญเติบโต

อุปกรณ์และวิธีการ

■ การใช้สารไคโตซานในการแช่เมล็ดข้าวหอมมะลิ 105



รูปที่ 1 เมล็ดข้าวหอมมะลิ 105 ที่ไม่แช่สารไคโตซาน



รูปที่ 2 เมล็ดข้าวหอมมะลิ 105 ที่แช่สารไคโตซานความเข้มข้น 1 มก./ล. เป็นเวลา 1 ชม. ก่อนฟอกฆ่าเชื้อ

■ การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวหอมมะลิ 105



รูปที่ 3 การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวหอมมะลิ 105 ด้วย clorox 20% และ 10% ตามลำดับ

■ การใช้สารเร่งการเจริญเติบโตร่วมกับสารไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารตัดลำต้นของต้นกล้าข้าวหอมมะลิ 105 จากเมล็ดที่แช่และไม่แช่ด้วยสารไคโตซานให้มีความสูง 1 ซม. เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก./ล. และสารไคโตซาน 0, 5, 10, 15 และ 20 มก./ล. เป็นเวลา 1 เดือน เพื่อศึกษาลักษณะของต้นกล้าและการแตกยอด

■ การผลิตต้นกล้าข้าวหอมมะลิจำนวนมากเพื่อการวิเคราะห์สารสำคัญทางโภชนาการนำกระจกต้นกล้าข้าวหอมมะลิจากทุกการทดลองเพิ่มปริมาณในอาหารเพื่อนำไปวิเคราะห์สารสำคัญ

ขั้นตอนการคั่นน้ำเพื่อนำไปวิเคราะห์สารสำคัญทางโภชนาการ



รูปที่ 4 (ก) ตัดลำต้นและใบอายุ 15-20 วัน ของต้นกล้าข้าวหอมมะลิ 105 (ข-ค) คั่นน้ำจากใบและลำต้น

เอกสารอ้างอิง

รจรอง หอมหวล มณฑา วงศ์มณีโรจน์ เนตรชนก เกียรติ์นันทพัทธ์ สุกขนา เบญจวรรณศิริพร วิทโค เจริญ ขุนพรม และชวนพิศ อรุณรังสิกุล. 2553. การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นกล้าและสร้างสารสำคัญทางโภชนาการในอณูพืชไทยโดยเทคโนโลยีชีวภาพ. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ (ฉบับร่าง) ทุนอุดหนุนวิจัย โครงการวิจัยมก. ปีงบประมาณ 2551-2553.

Chandrkrachang S. 2002. The applications of chitin and chitosan in Thailand, *In* K. Suchiva, S. Chandkrachang, P. Methacanon, M. G. Peter (Eds.), Advances in Chitin Science vol.5: 458-462 Bangkok.

Katsumi O., A.Toshiki and H.Takashi.2001. Effects of chitosan treatments on seedling growth, chitinase activity and flower quality in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. *Kairyoku Wakamurasaki*. J. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 76: 612-614.

Nge K. L., N. New, S. Chandkrachang and W. F. Stevens. 2006. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. Plant Science (170) pp. 1185-1190.

Abstracts

The use of chitosan for soaked-seeds and unsoaked-seeds in KDML 105 before seed culture were experimented. It showed that seedlings derived from chitosan-soaked seeds were more dark green leaves than seedlings derived from chitosan-unsoaked seeds after cultured within 14 days in MS (hormone-free) medium. Then, shoots in each treatment were transferred to MS media containing 2 mg/l TDZ combination with varied chitosan concentration from 0, 5, 10, 15 and 20 mg/l within 1 month for growth promotion and enhancement nutritious active substances observation in KDML105 tissue culture. The results showed that shoots derived from chitosan-soaked seeds were more proliferated than shoots derived from chitosan-unsoaked seeds, especially, onto MS containing 2 mg/l TDZ and 5 mg/l chitosan about 11.14 plants/seed. After that each treatment, shoots were multiplied in the same medium culturing for 3 months for nutritious active substances analysis. Antioxidant content was detected by the Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) Assay, chlorophyll a and b were analysed by Spectrophotometer at absorbance A663 and A646. The results showed that the plantlets derived from chitosan-soaked seeds and cultured onto MS medium with 5-15 mg/l chitosan showed significantly to establish more antioxidant content, chlorophyll a and b than plantlets derived from chitosan-unsoaked seeds cultured onto MS medium without chitosan.

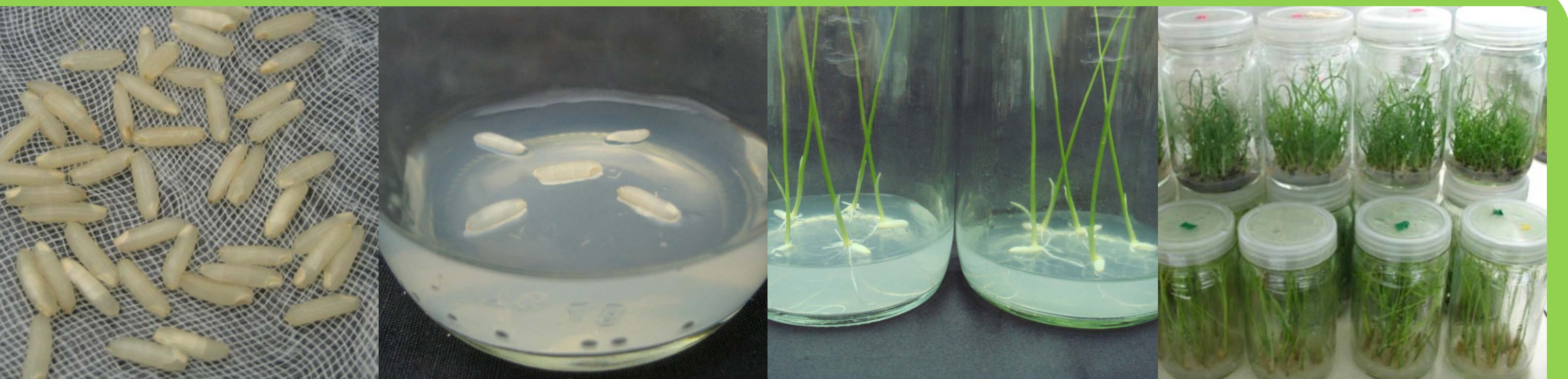
ผลและวิจารณ์

1. การใช้สารไคโตซานในการแช่เมล็ดข้าวหอมมะลิ 105

การแช่เมล็ดข้าวหอมมะลิ 105 ในสารไคโตซานมีส่วนในการเร่งหรือกระตุ้นการออกของเมล็ดให้เร็วขึ้น ต้นมีการเจริญเติบโต ใบสีเขียวเข้ม แสดงว่าสารไคโตซานมีส่วนส่งเสริมการสร้างคลอโรฟิลล์ในใบพืช

2. การเพาะเมล็ดข้าวหอมมะลิ 105

เมล็ด ที่แช่ในสารไคโตซานออกรากและต้นภายใน 5 วันเร็วกว่าเมล็ดที่ไม่ได้แช่สารไคโตซาน เมล็ดที่แช่และไม่แช่มีเปอร์เซ็นต์การงอกใกล้เคียงกันคือ 60%



รูปที่ 5 เพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวหอมมะลิที่แช่และไม่แช่ไคโตซานในอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 14 วัน และเพิ่มปริมาณจำนวนมากเพื่อส่งวิเคราะห์สารสำคัญทางโภชนาการ

3. การใช้สารเร่งการเจริญเติบโตร่วมกับสารไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ในอาหาร

จาก Table1 พบว่า ต้นกล้าจากเมล็ดที่ไม่แช่ไคโตซานเกิดจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุด 4.50 ต้น/เมล็ด ในอาหารสูตร MS เติม TDZ 2 มก./ล. และ สารไคโตซาน 15 มก./ล. ส่วนเมล็ดที่แช่สารไคโตซานสูตรที่แตกยอดดีที่สุดคือ MS ที่เติม TDZ 2 มก./ล. และไคโตซาน 5 มก./ล. เกิดต้นเฉลี่ย 11.14 ต้น/เมล็ด การแช่เมล็ดและเลี้ยงร่วมในอาหารที่มีสารไคโตซาน 5 มก./ล. ทำให้แตกยอดดีที่สุด และในกรณีที่ไม่แช่สารไคโตซานควรใช้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นแต่ไม่ควรเกิน 15 มก./ล.



ต้นกล้าหอมมะลิในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก./ล. และไคโตซาน 5 มก./ล.

4. การวิเคราะห์สารสำคัญทางโภชนาการ

Antioxidant วิเคราะห์ โดยใช้วิธี FRAP Assay และคลอโรฟิลล์ เอ บี วิเคราะห์ โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer เมล็ดที่แช่ไคโตซานก่อนเพาะเลี้ยงในอาหาร มีแนวโน้มต่อการสร้างสาร Antioxidant คลอโรฟิลล์ เอ และ บี ได้สูงกว่าเมล็ดที่ไม่แช่ไคโตซาน การเติมสารไคโตซาน 5 มก./ล. ในอาหารมีแนวโน้มกระตุ้นการสร้างสาร Antioxidant สูงสุด ทั้งในเมล็ดที่แช่ และไม่แช่ (Table 2) การเติมสารไคโตซานในอาหารควรใช้ความเข้มข้นระหว่าง 5-15 มก./ล. สนับสนุนการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ คลอโรฟิลล์ เอ และ บี ในข้าวหอมมะลิ

Table 2 Antioxidant content, chlorophyll a and b derived from leaf extract of KDML 105 from soaked-seed with and without chitosan on MS media containing 2 mg/l TDZ and varied combination chitosan (0, 5, 10, 15 and 20 mg/l).

Media	Antioxidant contents TAC mM/L*		Chlorophyll a*		Chlorophyll b*	
	With chitosan	Without chiosan	With chitosan	Without chiosan	With chitosan	Without chiosan
MS	-	22.79 ^c	-	118.55 ^d	-	41.47 ^c
2 mg/l TDZ+ 0 mg/l chitosan	28.03 ^b	21.10 ^{cd}	153.70 ^b	121.79 ^d	63.29 ^a	47.53 ^b
2 mg/l TDZ+ 5 mg/l chitosan	35.71 ^a	36.31 ^a	126.51 ^c	110.74 ^e	41.45 ^c	38.40 ^c
2 mg/l TDZ+ 10 mg/l chitosan	25.37 ^{bc}	21.54 ^{cd}	164.66 ^a	144.80 ^b	58.28 ^a	53.84 ^a
2 mg/l TDZ+ 15 mg/l chitosan	34.55 ^a	19.56 ^d	133.69 ^c	157.07 ^a	44.81 ^{bc}	55.36 ^a
2 mg/l TDZ+ 20 mg/l chitosan	23.42 ^c	31.68 ^b	145.67 ^b	135.37 ^c	49.20 ^b	48.70 ^b