วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 5 ฉบับที่ 2 (เมษายน-มิถุนายน): 8-11, 2561
Songklanakarin Journal of Plant Science, Vol. 5, No. 2 (April-June): 8-11, 2018

Research article

การใช้คลอรีนไดออกไซด์แก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ลูกผสมสิงโตร่มเหลือง x ทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก (*Bulbophyllum auratum* x Bulb. Tee Strawberry Cheese Cake)

Application of Chlorine Dioxide to Decontamination for *In Vitro* Micropropagation of *Bulbophyllum auratum* x Bulb.Tee Strawberry Cheese Cake

โสภา ชูเพ็ง[1*] ศรายุทธ ปัดถาวะโร[1] และ กิ่งกาญจน์ บุญรังษี[2]
Choopeng, S.[1*] Patthawaro, S.[1] and Boonrangsri, K.[2]

[1] สาขาวิชาการจัดการพืชสวนและภูมิทัศน์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต จ.ภูเก็ต 83000
[1] Department of Horticulture and Landscape Management, Faculty of Agricultural Technology, Phuket Rajabhat University, Phuket 83000
[2] สาขาวิชาการจัดการพืชสวนประดับ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต จ.ภูเก็ต 83000
[2] Department of Ornamental Horticulture Management, Faculty of Agricultural Technology, Phuket Rajabhat University, Phuket 83000

** Corresponding author: sopa.c@pkru.ac.th*
Received 25 August 2017; Revised 02 January 2018; 30 March 2018

บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีการที่ผลิตพืชจำนวนมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว การทำให้ปลอดเชื้อถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การปนเปื้อนเชื้อที่เกิดระหว่างการวางเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้เกิดการสูญเสียทั้ง ต้นทุนและต้นพืช โดยเฉพาะกล้วยไม้ การศึกษาการใช้คลอรีนไดออกไซด์ (ClO_2) แก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ลูกผสมสิงโตร่มเหลือง x ทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก (*Bulbophyllum auratum* x *Bulb.* Tee Strawberry Cheese Cake) เพื่อหาความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ จากการวางเลี้ยงต้นกล้าบนอาหารที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอเปรียบเทียบกับการใช้คลอรีนไดออกไซด์ พบว่า ต้นกล้าปนเปื้อนเชื้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ มีการปนเปื้อน 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 1 สัปดาห์ หลังวางเลี้ยง การเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 75 ppm มีประสิทธิภาพในการแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ลูกผสมสิงโตร่มเหลือง x ทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก โดยต้นกล้ามีอัตรารอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบภาชนะระหว่างขวดแก้วกับถุงพลาสติกใส พบว่า การใช้ถุงพลาสติกใสให้ต้นกล้าที่มีอัตรารอดชีวิตสูงถึง 56.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถลดต้นทุนและลดแรงงานโดยการใช้ถุงพลาสติกใสได้
คำสำคัญ: คลอรีนไดออกไซด์, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, การลดการปนเปื้อนเชื้อ

Abstract

In vitro micropropagation of plant is an effective method in propagating numerous plants within limited period of time. Aseptic technique is one of the most important factors for success. Contamination during processes of plant tissue culture can cause losses of budgets and plants especially for orchid tissue culture. A study of the application of chlorine dioxide (ClO_2) to solve contamination problem for *in vitro* micropropagation of *Bulbophyllum* auratum x *Bulb.*Tee Strawberry Cheese Cake was done to specify the optimum concentration of chlorine dioxide to decontamination for *in vitro* micropropagation. After contaminated plantlets were sub-cultured to autoclaved medium and sterilized medium with chlorine dioxide, the results showed that the plantlets sub-cultured to autoclaved medium were 100% contaminated within 1 week after sub-culturing process. The supplement of 75 ppm chlorine dioxide for decontamination was the optimum concentration to effectively solve contamination problem for *in vitro* micropropagation of *Bulb. auratum* x *Bulb.*Tee Strawberry Cheese Cake. The plantlets have 100% survival rate. In addition, containers were compared between glass bottles and plastic bags. The

Published by Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University. All rights reserved.
For Permissions, please e-mail: nr-sjps@group.psu.ac.th.

results showed that plastic bag container gave the high survival rate at 56.33%. Using plastic bags could decrease budgets and labor costs of the process.

Keywords: Chlorine dioxide, plant tissue culture, decontamination

บทนำ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชปริมาณมากอย่างรวดเร็ว เทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique) ถือเป็นปัจจัยสำคัญต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หากมีการปนเปื้อนเชื้อระหว่างการวางเลี้ยงโอกาสที่จะได้ต้นกล้าที่แข็งแรง และมีอัตรารอดชีวิตหลังการย้ายปลูกยิ่งน้อยลง การสูญเสียต้นพืชจากการปนเปื้อนเชื้อเป็นการสูญเสียทั้งต้นทุน และอาจเสียโอกาสหากพืชนั้นมีต้นพันธุ์หรือชิ้นส่วนปริมาณน้อยหายาก หรือมีราคาแพง โดยเฉพาะกล้วยไม้ การสร้างลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ผ่านการผสมเกสร พัฒนาเป็นฝักและเมล็ดต้องนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็ก ไม่มีอาหารสะสมภายในเมล็ดทำให้การงอกของเมล็ดในสภาพธรรมชาติเกิดได้น้อย (จิตราพรรณ, 2536) การขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ต้องมีการถ่ายขวดเพื่อเพิ่มปริมาณหรือส่งเสริมการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มจากนั้นจึงย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตรส่งเสริมการพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ต้องใช้ระยะเวลาเลี้ยงในขวดสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลาประมาณ 1-2 ปี จึงสามารถออกปลูกได้ (จิตราพรรณ, 2536) สำหรับการศึกษานี้ ต้นกล้ากล้วยไม้สิงโตลูกผสม จากการผสมเกสรระหว่างกล้วยไม้ป่าสายพันธุ์แท้ คือ สิงโตร่มเหลือง (*Bulbophyllum mauratum*) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ลำลูกกล้วยรูปไข่ ดอกย่อยออกที่ปลายก้าน จำนวน 5-10 ดอกต่อช่อ ดอก บานเต็มที่กว้าง 0.5 ซม. ยาว 3-3.5 ซม. กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีเหลือง ผสมกับกล้วยไม้ลูกผสมสิงโตทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก (*Bulb.* Tee Strawberry Cheese Cake) ซึ่งเป็นลูกผสมระหว่าง *Bulb.* Daisy Chain กับ *Bulb. Mastersianum* ซึ่งกล้วยไม้ลูกผสมสิงโตทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก เป็นกล้วยไม้สิงโตลูกผสมพันธุ์การค้า ที่เลี้ยงง่าย กลีบดอกสีชมพูปนเหลือง สวยงามสะดุดตา ภายหลังการนำฝักกล้วยไม้ลูกผสมระหว่าง สิงโตร่มเหลือง x ทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก ฟอกฆ่าเชื้อที่ฝักและวางเลี้ยงเมล็ดบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แล้วถ่ายขวดเพื่อส่งเสริมการพัฒนาของโพรโทคอร์ม หลังวางเลี้ยงไปเป็นระยะเวลาหนึ่งพบว่าเกิดการปนเปื้อนเชื้อราภายในขวด แม้ย้ายไปยังอาหารขวดใหม่ ก็ไม่สามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ เมื่อพบปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ ต้องทิ้งขวดกล้วยไม้นั้นไป หรือรอให้ต้นกล้าปรับตัวพัฒนาแล้วค่อยนำต้นกล้าออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ส่วนใหญ่ต้นกล้าจะมีอัตรารอดต่ำ เนื่องจากต้นกล้าที่ได้ยังไม่สมบูรณ์และอ่อนแอจากการเข้าทำลายของเชื้อ (Gutiarrez-Miceli *et al*., 2008)

การแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อของชิ้นส่วนหรือต้นพืชขณะวางเลี้ยง จึงเป็นโจทย์ปัญหาที่น่าสนใจ มีรายงานการศึกษาการใช้คลอรีนไดออกไซด์ (ClO_2) เพื่อฆ่าเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อลดต้นทุนการผลิต เช่น รายงานการนำคลอรีนไดออกไซด์ลดการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเลี้ยงสับปะรดภูแลระบบไบโอรีแอคเตอร์ (วุฒิชัย และสมปอง, 2557) และการใช้คลอรีนไดออกไซด์เพื่อฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช (Deein *et al.*, 2013 และ Duan *et al.,* 2016) นอกจากนี้ มีการรายงานว่า พืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อคลอรีนไดออกไซด์แตกต่างกัน ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการใช้คลอรีนไดออกไซด์ เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ดังนั้น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ลูกผสมสิงโตร่มเหลือง x ทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก และภาชนะสำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อลดต้นทุนการผลิต

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

นำต้นกล้ากล้วยไม้ลูกผสมสิงโตร่มเหลือง x ทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก อายุประมาณ 6 เดือน ที่มีการปนเปื้อนเชื้อหลังการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร Vacin and Went medium (VW) แล้วทำการถ่ายขวดเพื่อส่งเสริมการพัฒนาของโพรโทคอร์มและต้นกล้าแต่พบว่าเกิดการปนเปื้อนเชื้อรา ศึกษาเปรียบเทียบภาชนะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงโดยย้ายต้นกล้าที่ปนเปื้อนเลี้ยงในขวดแก้วและถุงพลาสติกใส ขนาด 4x6 นิ้ว ที่บรรจุอาหารสูตร VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ซูโครส 20 กรัมต่อลิตร Benzyladenine (BA) เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นกรด-ด่าง 5.3 วุ้น 6.6 กรัมต่อลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยการเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 100 ppm ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 7 ถุงหรือขวดๆ 4 ต้น วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกผลการปนเปื้อนเชื้อ อัตรารอด ทุกสัปดาห์เปรียบเทียบกันระหว่างภาชนะบรรจุ และวิเคราะห์ผลโดยวิธี T-test

สำหรับการศึกษาความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ โดยย้ายต้นกล้าเลี้ยงในถุงพลาสติกใสบรรจุอาหารสูตร VW ทำให้ปลอดเชื้อโดยการเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 10 25 50 75 และ 100 ppm เปรียบเทียบกับอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เป็นชุดควบคุม ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 7 ถุงๆ 4 ต้น วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกผลการปนเปื้อนเชื้อ อัตราการรอดชีวิต ทุกสัปดาห์เปรียบเทียบกันระหว่างวิธีการฆ่าเชื้อนำสิ่งทดลองวางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25$\pm$2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาเปรียบเทียบภาชนะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อในกล้วยไม้ลูกผสมสิงโตร่มเหลือง x ทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก หลังวางเลี้ยงต้นกล้าที่ปนเปื้อนเชื้อบนอาหารสูตร VW ทำให้

ปลอดเชื้อโดยการเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 1 เดือน ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อในการวางเลี้ยงต้นกล้าบนอาหารในขวดแก้วและถุงพลาสติกใส โดยต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิต 50.02 และ 56.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการใช้ถุงพลาสติกใสแทนขวดแก้วสามารถลดต้นทุนและแรงงานได้ เนื่องจากถุงพลาสติกราคาถูกกว่าขวดแก้วและไม่ต้องเสียเวลา รวมทั้งค่าแรงงานสำหรับการล้างขวดด้วย

Table 1 Contamination and survival rates of *Bulb. auratum x Bulb.* Tee Strawberry Cheese Cake *in vitro* on culture medium sterilized with 100 ppm ClO_2

Containers	Contamination (%)	Survival rate (%)
Glass bottle	0	50.02[b]
Plastic bag	0	56.33[a]
T-test	-	*
C.V.(%)	-	1.37

* = significant difference at $p \leq 0.05$

Means followed by the same letter within each column are not significantly different according to DMRT.

การศึกษาการใช้คลอรีนไดออกไซด์แก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ลูกผสมสิงโตร่มเหลือง xทีสตอเบอรี่ชีทเค้กหลังวางเลี้ยง เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า การเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 100 ppm ในอาหารสามารถแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ต้นกล้ามีอัตรารอดชีวิต 58.33 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ การเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 75 ppm พบการปนเปื้อนเชื้อ 14.29 เปอร์เซ็นต์ แต่ต้นกล้ามีอัตรารอด 100 เปอร์เซ็นต์ (Figure 1 และ Table 2)

จากการศึกษานี้ พบว่า คลอรีนไดออกไซด์ทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ซึ่งมีน้ำมะพร้าวเป็นองค์ประกอบ แต่คลอรีนไดออกไซด์ความเข้มข้นต่ำไม่สามารถควบคุมการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเลี้ยงต้นกล้ากล้วยไม้ลูกผสมสิงโตร่มเหลือง x ทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก ที่มีการปนเปื้อนเชื้ออยู่แล้วได้ สอดคล้องกับ วุฒิชัย และสมปอง (2557) รายงานว่า คลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 100 ppm มีประสิทธิภาพในการกำจัดการปนเปื้อนเชื้อราในการเพาะเลี้ยงสับปะรดภูแลด้วยระบบโอรีแอคเตอร์ แต่คลอรีนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงมีผลทำให้การเจริญเติบโตของสับปะรดชะงักในระยะแรกและการเจริญเติบโตดีขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

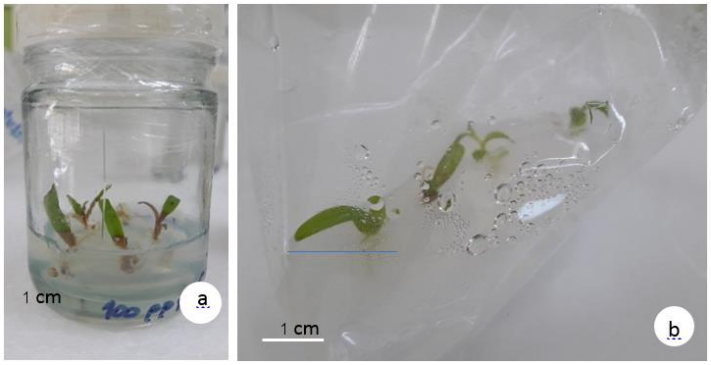

Figure 1 Micropropagation of *Bulb. auratum* x *Bulb.* Tee Strawberry Cheese Cake on culture medium sterilized with 100 ppm ClO_2 in glass bottle (a) and plastic bag (b)

มีรายงานการนำคลอรีนไดออกไซด์มาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อพืชชนิดอื่น เช่น Cardoso และ Silva (2012) รายงานการขยายพันธุ์และเพิ่มจำนวนยอดของเยอบีร่า (*Gerbera jamesonii* cv. AL101) บนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog medium) เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำให้อาหารปลอดเชื้อโดยการเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 0.0025 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้สูงสุด 5.63 ยอดต่อชิ้นส่วน

Table 2 Contamination and survival rate of *Bulb. auratum* x *Bulb.* Tee Strawberry Cheese Cake *in vitro* on culture medium autoclaved or sterilized with different concentrations of ClO_2

ClO_2	Contamination (%)		Contamination (%)				Survival rate
(ppm)	With explants	Without explants	1 week	2 week	3 week	4 week	(%)
sterilized	100[a]	0	100[a]	100[a]	100[a]	100[a]	0[c]
10	100[a]	0	100[a]	100[a]	100[a]	100[a]	0[c]
25	100[a]	0	100[a]	100[a]	100[a]	100[a]	0[c]
50	100[a]	0	100[a]	100[a]	100[a]	100[a]	0[c]
75	9.53[b]	0	0[b]	14.29[b]	0[b]	0[b]	100[a]
100	0[c]	0	0[b]	0[c]	0[b]	0[b]	58.33[b]
F-test	*	-	*	*	*	*	*
C.V.(%)	0.25	-	0.49	0.69	0.49	0.49	1.55

* : significant difference at $p \leq 0.05$

Means followed by the same letter within each column are not significantly different according to DMRT.

อย่างไรก็ตาม อรุณี (2558) รายงาน การศึกษาเปรียบเทียบความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ (1-25 มิลลิกรัมต่อลิตร) ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้าวหอมกระดังจากนอกหลอดทดลองเพื่อเพิ่มจำนวนยอด พบว่า หลังเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน เกิดการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรีย ในขณะที่ สามารถเพิ่มจำนวนยอดมากที่สุด 12 ยอด เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อในอาหารเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงบนอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่า สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้มากกว่าเป็น 2 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ เป็นการฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีผลทำให้องค์ประกอบของทางเคมีของอาหารเปลี่ยนแปลงไป เช่น สารอาหารบางส่วนสูญสลายจากการใช้ความร้อนสูงเพื่อทำให้ปลอดเชื้อ สอดคล้องกับ Cardoso และ da Silva (2012) รายงานการใช้คลอรีนไดออกไซด์ฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเยอบีร่าเปรียบเทียบกับอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ พบว่า เยอบีร่าเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนไดออกไซด์ เจริญเติบโตได้ดีหรือดีกว่าการเลี้ยงบนอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ คลอรีนไดออกไซด์มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย รา และไวรัส มีความเสถียรในสารละลายที่ความเป็นกรด-ด่าง 3.0-9.0 นอกจากนี้ การทำให้อาหารปลอดเชื้อด้วยคลอรีนไดออกไซด์นอกจากทำได้ง่าย สะดวก แล้วยังไม่ต้องใช้ขั้นตอนการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอซึ่งต้องใช้พลังงานไฟฟ้าและค่าเครื่องมือซึ่งมีราคาแพง

สรุป

การเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 75 ppm ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อของต้นกล้ากล้วยไม้ลูกผสมสิงโตร่มเหลือง x ทีสตรอเบอรี่ชีทเค้ก ในสภาพปลอดเชื้อได้ตลอดจนสามารถลดต้นทุนและลดแรงงาน โดยการเติมคลอรีนไดออกไซด์เพื่อฆ่าเชื้อในอาหารร่วมกับการใช้ถุงพลาสติกใสเป็นภาชนะแทนการใช้ขวดแก้ว

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณ คุณวรวุธ เครือจันทร์ เจ้าของฝักกล้วยไม้ลูกผสมสิงโตร่มเหลืองxทีสตอเบอรี่ชีทเค้ก สมาชิกชมรมกล้วยไม้ภูเก็ต ที่ให้ข้อคิดเห็นดีๆ สำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาวิชาการจัดการพืชสวนและภูมิทัศน์ ขอบคุณ คุณเสาวรส วงศ์ใหญ่ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต สำหรับการดูแลนักศึกษาในการใช้เครื่องมือ และขอบคุณ คุณพรหมพร วิวัฒนวงศา สำหรับการจัดเตรียมเอกสาร

เอกสารอ้างอิง

จิตราพรรณ พิลึก. 2536. การเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วุฒิชัย ศรีช่วย และสมปอง เตชะโต. 2557. ผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดภูแลด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์. แก่นเกษตร (พิเศษ) 42: 75-80.

อรุณี ยูโซะ. 2558. การขยายพันธุ์ข้าวหอมกระดังงาโดยการเพาะเลี้ยงปลายยอดภายใต้ระบบไบโอรีแอคเตอร์. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2(3): 12-16.

Cardoso, J. C., & da Silva, J. A. T. 2012. Micropropagation of gerbera using chlorine dioxide (ClO_2) to sterilize the culture medium. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant 48(3): 362-368.

Deein, W., Thepsithar, C., Thongpukdee, A., and Tippornwong, S. 2013. Growth of Chrysanthemum explants on MS medium sterilized by disinfectants and essential oils. International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics 3(6): 609.

Duan, Y., Zhao, F., Li, H., Zhou, Y., Zhu, X., Li, F. And Xue, J. 2016. Evaluation of aqueous chlorine dioxide for disinfecting plant explants. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant 52(1): 38-44.

Gutiarrez-Miceli, F. A., Ayora-Talavera, T., Abud-Archila, M., Salvador-Figueroa, M., Adriano-Anaya, L., Hernandez, M. A., and Dendooven, L. 2008. Acclimatization of micropropagated orchid *Guarianthe skinnerii* inoculated with *Trichoderma harzianum*. Asian Journal of Plant Sciences 7(3): 327-330.

SJPS-O-M02-25082017