รายงานการวิจัย

เรื่อง

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชวนชม

Effect of Plant Growth Regulators in Tissue Culture of Impala Lily, In *vitro*.

โดย

พัศนีย์ ศิริวรรณ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม

2544

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

งานวิจัยนี้

ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม

ประจำปีงบประมาณ 2542

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

คำนิยม

งานวิจัยเล่มนี้ สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความช่วยเหลือในการปฏิบัติการทดลองของเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม และนักศึกษาโปรแกรมวิชาชีววิทยา / 39 ที่ช่วยทำงานวิจัย ข้าพเจ้าขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณสถาบันราชภัฏพิบูลสงครามที่อนุมัติเงินเพื่อสนับสนุนในการทำวิจัย และคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏพิบูลสงครามที่อนุญาตให้ข้าพเจ้าได้ทำการวิจัยสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

นางสาวทัศนีย์ ศิริวรรณ

ตุลาคม 2543

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชวนชมในสภาพปลอดเชื้อพบว่าการเพาะเมล็ดในอาหาร ½ MS ได้ต้นอ่อนที่มีอัตราการงอกและความแข็งแรงของต้นอ่อนเหมาะสมที่สุด การใช้ส่วนเอ็นโดสเปริ์มเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และเติม BA ร่วมกับ 2 , 4 – D , NAA หรือ IBA ที่ความเข้มข้น 0.1 , 1.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่เกาะกันหลวม ๆ อ่อนนุ่ม เมื่อใช้ BA ร่วมกับ 2 , 4 – D 0.1 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และแคลลัสที่เกาะกันแน่น เมื่อใช้ BA ร่วมกับ NAA 0.1 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ส่วนใต้ใบเลี้ยง ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.1 , 1.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดแคลลัสที่สามารถพัฒนาเป็นยอดได้มากที่สุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ ที่ BA 1.0 ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และส่วนปลายยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA 1.0 , 3.0 และ 5.0 ร่วมกับ IBA 0, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดแคลลัสและพัฒนาเป็นยอดได้มากที่สุด 3 ยอดต่อแคลลัส ที่ BA 3.0 ร่วมกับ IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การเลี้ยงส่วนยอดชวนชม สามารถเกิดรากได้ 92.86, 85.71 , 69.23 และ 58.33 เปอร์เซ็นต์ในอาหารที่ลด NO_3 ลงครึ่งหนึ่งไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และเติม IBA 0.5 , 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับเป็นเวลา 3 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

ABSTRACT

Title : Effect of Plant Growth Regulators in Tissue Culture of Impala Lily, *In vitro*,

By : Tassanee Siriwan

B.S. (Agriculture) , **M.S.** (Agriculture)

In vitro culture of Impala lily on ½ **MS** medium seem to be optimal as growth rate and vigor seedling were observed. Endosperm were cultured on ½ macro nutrient **MS** medium supplemented with 60 % sugar, 15 % coconut milk , BA and 2, 4-D , NAA or IBA at the concentration 0.1 , 1.0 and 10.0 mg. / l. . The result showed that 0.1 – 1.0 mg. / l. BA and 0.1 – 1.0 mg. / l. 2 , 4 – D or NAA could promote friable and soft callus and compact callus.

Hypocotyl of seedling explants were cultured on ½ **NO, MS** medium supplemented with 0.1 , 1 – 0 และ 10.0 mg. / l. BA and **NAA. Of** the levels tested, 1.0 mg. / l. BA and 1.0 gm. / l. NAA was optimal for multiple shoot formation at 66.67 percents. And shoot explants were culured on ½ **NO, MS** medium supplemented with 1.0 – 3.0 and 5.0 mg. / l. BA and 0 , 1.0 and 2.0 mg. / l. IBA . The result showed that 3.0 mg. / l. BA and 1.0 mg. / l. IBA could promote optimal shoot formation (3 shoots per callus)

Shoots were able to formed roots 92.86 , 85.71 , 69.23 and 58.33 percents when cultured on ½ **NO, MS** medium non– supplemented with PGR and supplemented with IBA at the concentration 0.5 , 1.0 and 2.0 mg / l , respectively , for 3 weeks

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
อุปกรณ์และวิธีการ	6
ผลการทดลอง	11
วิจารณ์	28
สรุป	31
เอกสารอ้างอิง	32

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์ความงอก เปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ และลักษณะต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	11
2	การเกิดลักษณะ และสีแคลลัสของเอนโดสเปริ์มชวนชมที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS (ดัดแปลง) ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และเติม BA ร่วมกับ 2,4 – D ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์	14
3	การเกิด ลักษณะ สีแคลลัสของเอนโดสเปริ์มชวนชมที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่งเติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และเติม BA ร่วมกับ NAA ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์	15
4	การเกิด ลักษณะ สีแคลลัสของเอนโดสเปริ์มชวนชมที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่งเติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และเติม BA ร่วมกับ IBA ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์	16
5	การเกิดแคลลัส และเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด ของส่วนใต้ใบเลี้ยงชวนชมจากสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA ร่วมกับ NAA ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	19
6	การเกิดแคลลัสและจำนวนยอด จากการเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดชวนชมจากสภาพปลอดเชื้อ ในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA ร่วมกับ IBA ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	22
7	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และการเกิดแคลลัสของปลายยอดชวนชมจากสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่งเติม IBA และ NAA ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 3 สัปดาห์	26

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะต้นอ่อนชวนชมที่เพาะเมล็ดในอาหาร ½ MS เมื่ออายุ 3 สัปดาห์	12
2	การเกิด ลักษณะและสีแคลลัสของเอนโดสเปริ์มชวนชม ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และเติม BA 0.1 ร่วมกับ 2,4 – D 1.0 , BA 1.0 ร่วมกับ 2 , 4 – D 1.0 , BA 1.0 ร่วมกับ NAA 1.0 , BA 0.1 ร่วมกับ IBA 0.1 และ BA 1.0 ร่วมกับ IB 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์	17
3	การเกิดยอดของส่วนใต้ใบเลี้ยงชวนชมจากสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่งเติม BA 1.0 ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์	20
4	การเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดชวนชมจากสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA 1.0 , 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 4 สัปดาห์	23
5	การเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดชวนชมจากสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA 1.0 , 3.0 และ 5.0 ร่วมกับ 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์	24
6	การเกิดรากของส่วนปลายยอดชวนชม จากสภาพปลอดเชื้อ ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม IBA และ NAA 0 , 0.5 , 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	27

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

คำนำ

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชวนชม

Effect of Plant Growth Regulators in Tissue Culture of Impala Lily, In *vitro*.

ชวนชม เป็นไม้ประดับที่ได้รับความนิยม จากผู้ปลูกเลี้ยงตลอดมาเป็นเวลานาน ทั้งนี้เพราะความสวยงามของดอกที่มีสีสดใส รูปทรงต้นที่เหมาะในการจัดตกแต่งในการจัดสวน และความทนต่อสภาพแห้งแล้ง จึงทำให้เป็นที่ต้องการของตลาดมีผู้ปลูกเพื่อการค้าเป็นจำนวนมาก การนำพันธุ์เข้าจากต่างประเทศ และการผสมเกสรเพื่อให้ได้พันธุ์ลูกผสมใหม่ ๆ มีสีดอกสวยจะยิ่งทำให้มีราคาสูงขึ้น

การขยายพันธุ์ชวนชม สามารถทำได้หลายวิธีทั้งปักชำและเพาะเมล็ด ซึ่งการเพาะเมล็ดสามารถทำได้ง่ายมีปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว ทรงต้นสวยงามจากการที่มีโขด แต่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงพันธุ์ไปจากเดิม ทำให้ไม่สามารถได้ผลผลิตตามที่ต้องการ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชวนชมเป็นการขยายพันธุ์อีกวิธีหนึ่ง ที่สามารถผลิตพันธุ์ไม้ปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็วและได้ต้นที่ตรงตามพันธุ์ แต่ยังไม่มีผู้รายงานถึงวิธีการ ดังนั้นการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชวนชมครั้งนี้ จะทำให้ทราบสูตรอาหารและชิ้นส่วนที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง เพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของชวนชมที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสังเคราะห์เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส ได้แก่ เอนโดสเปริ์ม ยอด ส่วนใต้ใบเลี้ยง เมล็ด
2. ศึกษาความเหมาะสมของระดับความเข้มข้นและชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส การพัฒนาเป็นต้นอ่อน และการเกิดราก

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชวนชม เป็นไม้ดอกที่มีชื่อสามัญว่า **Desert Rose, Mock Azalea** และ **Impala Lily** ชื่อวิทยาศาสตร์ *Adenium obesum* (Forssk) **Roen & Schult.** อยู่ในวงศ์ **Apocyanaceae**

พืชในวงศ์นี้มีหลายชนิดที่รู้จักกันดี ได้แก่ ลั่นทม , แพงพวย, รำเพย เป็นต้น มีถิ่นกำเนิดในแอฟริกาตะวันออก แถบเคนยา ยูกันดา

ลักษณะทั่วไปของชวนชม (อฤชร , 2542)

ลำต้น เป็นไม้อวบน้ำ (เนื้ออ่อน) มีน้ำยางใส ๆ อยู่ในลำต้นเป็นพิษ มีทรงสูง 0.3 – 3 เมตร สีเขียวอมเทา ลำต้นมีหลายลักษณะแล้วแต่พันธุ์ เช่น พันธุ์ฮอลแลนด์ ลำต้นส่วนโคนมีลักษณะโป่งบวม เรียกว่า โขด ส่วนพันธุ์พื้นเมืองโคนไม่โป่งพอง และพันธุ์ยักษ์มีลำต้นสูงเหมือนไม้ยืนต้น

ใบ เป็นใบเดี่ยว เรียงเวียนสลับ ออกหนาแน่นตามปลายกิ่ง มีหลายรูปทรง คือ รูปไข่กลับ รูปหอกกลับ และรูปขอบขนานหรือรูปแถบแผ่นใบหนา และเหนียวคล้ายแผ่นหนัง สีเขียวอมเทา บางชนิดมีขนนุ่ม ๆ

ดอก ออกเป็นช่อเชิงหลั่น ดอกย่อยรูปกรวย โคนดอกเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 5 กลีบ รูปกลีบดอกแตกต่างกันตามแต่ละพันธุ์ คือ รูปกลม รูปไข่กลับ รูปไข่ รูปขอบขนานและรูปรี

ผล เป็นรูปเขา 1 คู่ รูปทรงกระบอกปลายเรียวแหลม ขนาดต่างกันแล้วแต่พันธุ์และความสมบูรณ์ เมื่อฝักแก่จะแตกตามตะเข็บ มีเมล็ดจำนวนมาก รูปทรงกระบอกสีน้ำตาล ปลาย 2 ข้างมีพู่ขน เมื่อฝักแตกพู่ขนจะพองออกเพื่อปลิวกระจายไปตามลม

งานวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เกี่ยวข้อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชถูกนำมาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ต่าง ๆ ในพืชหลายชนิด แต่เนื่องจากข้อมูลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชวนชมมีอยู่จำกัด จึงจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลของพืชอื่น ๆ เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษา ดังนี้

1. การชักนำให้เกิดแคลลัส

เฉลียว (ม.ป.พ.) ทดลองเลี้ยงส่วนยอด ตาข้างและใบอ่อนอ้อยในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อชักนำให้เนื้อเยื่อเกิดแคลลัส โดยใช้อาหารแข็ง MS พบว่าการใช้ 2, 4 – D เข้มข้น 3 ppm. มีแนว

มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง Lampang Rajabhat University

โน้มจะชักนำให้เนื้อเยื่อเกิดแคลลัสและยอดได้ เช่นเดียวกับ รงรองและพิสวรรณ (2532) ที่นำเนื้อเยื่อเจริญอ้อยเศรษฐกิจพันธุ์ต่าง ๆ เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4 – D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ภายใน 2 เดือน สามารถจะพัฒนาเป็นแคลลัสแลเกิดต้นได้ สนธิชัย (2532) ใช้ส่วนปลายยอดและใบอ่อนของอ้อยป่าและพันธุ์ใกล้เคียง เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2, 4 – D 3-4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4 – D 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและเกิดต้นได้ ส่วน กรึกและคณะ (2536) ชักนำให้อ้อยเกิดยอดจากการเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IAA 1 – 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 0.1 – 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะได้หน่อภายใน 3 สัปดาห์ และเมื่อแบ่งเลี้ยงเพื่อให้ต้นเจริญเติบโตในอาหาร MS ที่เติม 2 , 4 - D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์

เผดิม (2535) พบว่าอาหาร MS ที่เติม NAA 4 – 5 และ Kinetin 0.5 – 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชำนำให้ข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 , พันธุ์นาสมาติ 370 , พันธุ์ nu. 15 , พันธุ์นางมล 54 , พันธุ์ประดู่แดง และพันธุ์ปทุมธานี 60 เกิดแคลลัสได้ในปริมาณสูง

อรดี และทวีพงศ์ (2527) ศึกษาการขยายพันธุ์อินทผลัม โดยการใช้ส่วน ยอด ใบและ sin เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหาร MS ที่เติม 2 , 4 – D เข้มข้น 0 , 2 , 4 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ส่วนยอดเกิดแคลลัสได้ดีในอาหารที่เติม 2 , 4 – D 8 มิลลิกรัมต่อลิตร และรากเกิดแคลลัสได้ดีในอาหารที่เติม 2 , 4 – D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ถิรพงศ์ (2537) เพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมัน และนำเนื้อเยื่อใบอ่อน ราก และตายอดของต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2 , 4 – D 1 – 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สามารถชักนำให้ใบอ่อน ราก และ ตายอดเกิดแคลลัสได้ในอาหาร MS ที่เติม 2 , 4 – D 1 – 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และแคลลัสที่เกิดจากใบอ่อน มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่า

สุรพล (2531) การเพาะเลี้ยงส่วนยอด ใบเลี้ยง ส่วนใต้ใบเลี้ยง ราก เอนโดสเปิร์ม และเอมบริโอละหุ่ง ในอาหาร MS ที่เติม 2,4 - D หรือ NAA ร่วมกับ BA หรือ Kinetin 3 – 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถเกิดแคลลัสที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ อ่อนนุ่ม และเกาะกันแน่นได้

ชูติมา (2526) ศึกษาการเลี้ยงใบอ่อนของบอนสี บนอาหาร MS ที่เติม NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดภายใน 2 เดือน

กุหลาบ (2539) เพาะเลี้ยง ยอดและตาข้างของรักเร่ 5 พันธุ์ ในอาหาร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นให้ รักเร่พันธุ์ Double Cactus Mixed เกิดแคลลัสบริเวณโคนชิ้นส่วนได้

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

พินิจ (2536) เลี้ยงส่วนใบเลี้ยงมะม่วงหิมพานต์ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืดสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสีครีมปนชมพู

วิไลลักษณ์ (2528) เลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายยอด ลำต้นก้านใบ และใบอ่อนโกสนในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP และ NAA พบว่า ที่ BAP 5 ppm. ร่วมกับ NAA 0.1 **ppm.** สามารถชักนำให้แคลลัสจากปลายยอดและลำต้นได้

Mondal , et. al. (1994) พบว่าการใช้รากสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากกว่าก้านใบและแผ่นใบมะละกอ ที่เลี้ยงบนอาหาร MS ครึ่งสูตร ที่เติม **IBA** และ **BA** ความเข้มข้น 20 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ

2 การชักนำให้เกิดยอด

ชุติมา (2526) นำแคลลัสของใบอ่อนบอนสีเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA , NAA. BA. Kinetin และน้ำมะพร้าวอ่อน ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ในที่มีแสงเป็นเวลา 2 เดือน สามารถชักนำให้แคลลัสเกิดเป็นต้นจำนวนมากในอาหารที่เติม IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิไลลักษณ์ (ม.ป.พ.) พบว่าการนำแคลลัสโกสนเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ NAA ในระดับต่าง ๆ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น ของ BAP 5 **ppm.** ร่วมกับ NAA 0.1 **ppm.** แคลลัสจากปลายยอดและลำต้นสามารถพัฒนาเป็นยอดได้

กุหลาบ (2539) นำแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงตาข้างของรักเร่พันธุ์ **Double Cactus Mixed** เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA พบว่าอาหารที่เติม **BA 0.1** มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาเป็นต้นได้

ประนอม (2530) นำก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 – 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอดจากแคลลัสและมีการเจริญเติบโตดี

นัทธณีการ์ (2538) พบว่าตาข้างกุหลาบที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 35 วัน สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด

พินิจ (2536) เลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของมะม่วงหิมพานต์ในสภาพปลอดเชื้อบนอาหาร MS พบว่าการเลี้ยงตาข้างในอาหารที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนยอดมากที่สุด 3.8 ยอด

Ault (1994) ทำการเลี้ยงตาข้าง *Eriostemon myoperiodes* **DC.** บนอาหารสูตร **MS** ที่เติม **BA** 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ *Eriostemon stardust* บนอาหาร **MS** ที่เติม **BA** 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้ **stardust** เกิดยอดปริมาณมาก

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงครามPibulsongkram Rajabhat University

3. การกระตุ้นให้ยอดเกิดราก

กรึกและคณะ นำยอดอ้อยเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดราก

Ault (1994) นำยอด *Eriostemon* **stardust** เลี้ยงบนอาหาร **MS** ทีเติม **NAA 0.1** มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดรากได้ 95 เปอร์เซ็นต์

พินิจ (2536) เลี้ยงส่วนยอดมะม่วงหิมพานต์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อส่วนใบเลี้ยง กระตุ้นให้เกิดรากใบ อาหาร MS ที่เติม **IBA** และ NAA เข้มข้น **4** และ **8** มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดรากได้ 100 และ 50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ฝักชวนชมลูกผสมฮอลแลนด์
2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige และ Skoog (1962)

2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ 2 , 4 – dichlorophenoxy acetic acid (2 , 4 – D) , ∝ - naphthalene acetic acid (NAA) , 4 – indole – 3 yl butyric acid (IBA) และ 6 – benzylaminopurine (BAP)

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ Teepol , sodium hypochlorite (NaOCl) 2 เปอร์เซ็นต์ และเอทิลแอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์

3. เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ ที่ใช้สำหรับการเตรียมอาหาร ได้แก่ หม้อนึ่งความดันไอ เตาแก๊ส เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง เตาไฟฟ้า ขวดแก้ว หลอดแก้ว กระบอกตวง บีกเกอร์ และปิเปต

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับย้ายเนื้อเยื่อ ได้แก่ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ มีดผ่าตัด din คีบ จานแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.3 อุปกรณ์การถ่ายภาพ

4. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4.1 อุปกรณ์ภายในห้อง ประกอบด้วย ชั้นวางขวดที่ติดตั้งหลอดไฟเรืองแสงสีขาว (cool white) เครื่องปรับอากาศ

4.2 สภาพแวดล้อมภายในห้อง ปรับอุณหภูมิ 25 – 28 องศาเซลเซียส มีแสงสว่าง 24 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabat University

วิธีการ

ในการศึกษาครั้งนี้ แบ่งเป็น 4 การทดลอง คือ

1. การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ
2. การชักนำให้เกิดแคลลัส
3. การชักนำให้ชิ้นส่วนพืช (explant) ต่าง ๆ เกิดยอดจำนวนมาก
4. การชักนำให้ยอดเกิดราก

การทดลองที่ 1 การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

1. เตรียมฝักชวนชมพันธุ์ลูกผสมฮอลแลนด์ อายุประมาณ 60 – 70 วัน หลังจากดอกบาน (แก่แต่ยังไม่แตกปริ) ล้างด้วยน้ำไหล ฟอกด้วย Teepol 10 เปอร์เซ็นต์ จุ่มในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 30 วินาที นำเข้าตู้ย้ายเนื้อเยื่อ เขย่าในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 - 25 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ลนไฟแล้วทิ้งไว้ให้เย็น ผ่าฝักตามรอยตะเข็บ แกะเอาเมล็ดออก

2. การเตรียมต้นอ่อน โดยการนำเมล็ดที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อฝักแล้ว เพาะในอาหารวุ้นอย่างเดียว , ½ MS , MS , ½ MS + CM 15 % และ MS + CM 15 %

3. วางแผนการทดลองแบบ CRD แบ่งเป็น 5 ทรีตเมนต์ ทำ 30 ซ้ำ เลี้ยงในสภาพมืด 2 สัปดาห์ แล้วนำออกเลี้ยงในสภาพที่มีแสง 24 ชั่วโมง

4. บันทึกผลทุกสัปดาห์ และเก็บข้อมูล เปอร์เซ็นต์ความงอก เปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ และบันทึกภาพ

การทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงเอนโดสเปริ์ม เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส

ชิ้นส่วนของพืชได้จากการนำฝักที่แก่แต่ยังไม่แตกผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ แกะเอาส่วนเมล็ดแยกส่วนเอนโดสเปริ์มและเอมบริโอออก แบ่งเอนโดสเปริ์มเป็น 2 ส่วนตามความยาวของเมล็ด ชักนำให้เกิดแคลลัสโดยเลี้ยงเอนโดสเปริ์มในอาหาร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ปรับระดับสาร BA , 2 , 4 – D , NAA และ IBA โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลัก (macro nutrient element) ลงครึ่งหนึ่ง และเติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เติม BA 0.1 , 1.0 และ 10.0 ร่วมกับ 2 , 4 – D , NAA และ IBA 0.1 , 1.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นึ่งฆ่าเชื้อใน

มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร Rajabhat University

หม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

2. วางแผนการทดลองแบบ [redacted] อาหารแต่ละชุดแบ่งเป็น 27 ทรีตเมนต์ dl 5 ซ้ำ เลี้ยงในสภาพมืดเป็นเวลา 3 สัปดาห์ และในสภาพที่มีแสงสว่าง 24 ชั่วโมง อีก 3 สัปดาห์

3. บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุกสัปดาห์

การเก็บข้อมูล

ให้คะแนนการเกิดแคลลัส ดูลักษณะและสีของแคลลัสดังนี้

การเกิดแคลลัสให้คะแนน 4 = การเกิดแคลลัสมาก

3 = การเกิดแคลลัสค่อนข้างมาก

2 = การเกิดแคลลัสปานกลาง

1 = การเกิดแคลลัสน้อย

0 = ไม่เกิดแคลลัส

ลักษณะแคลลัส การเกาะตัวกันหลวม ๆ (friable callus) หรือเกาะกันแน่น (compact callus) หรือมีลักษณะฉ่ำน้ำ

สีแคลลัส

บันทึกภาพ

การทดลองที่ 3 การชักนำให้ชิ้นส่วนพืช (explant) เกิดยอดจำนวนมาก (multiple shoot)

นำต้นอ่อนที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ตัดแบ่งส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ปลายยอดและส่วนใต้ใบเลี้ยง ชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย ดังนี้

3.1 เลี้ยงส่วนใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ในอาหารสูตร MS ที่ลด NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 30 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ปรับระดับ BA และ NAA โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่งเติมน้ำตาล 30 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เติม BA 0.1 1.0 และ 10.0 ร่วมกับ NAA 1.0 , 1.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

2. วางแผนการทดลองแบบ CRD แบ่งออกเป็น 9 ทรีตเมนต์ ทำ 5 ซ้ำ เลี้ยงในสภาพที่แสงสว่าง 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์

3. บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุกสัปดาห์

การเก็บข้อมูล

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

ให้คะแนนการเกิดแคลลัส ดังนี้

การเกิดแคลลัสได้คะแนน 4 = การเกิดแคลลัสมาก

3 = การเกิดแคลลัสค่อนข้างมาก

2 = การเกิดแคลลัสปานกลาง

1 = การเกิดแคลลัสน้อย

0 = ไม่เกิดแคลลัส

นับจำนวนยอด

บันทึกภาพ

3.2 เลี้ยงส่วนปลายยอด ในอาหารสูตร MS ที่ลด NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 30 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ปรับระดับ BA และ IBA โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1. การเตรียมอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 30 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เติม BA 1.0 , 3.0 และ 5.0 ร่วมกับ IBA 0 , 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 เปอร์เซ็นต์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

2. วางแผนการทดลองแบบ CRD แบ่งออกเป็น 9 ทรีตเมนต์ ทำ 3 ซ้ำ เลี้ยงในสภาพที่แสงสว่าง 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์

3. บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุกสัปดาห์

การเก็บข้อมูล

ให้คะแนนการเกิดแคลลัส ดังนี้

การเกิดแคลลัสได้คะแนน 4 = การเกิดแคลลัสมาก

3 = การเกิดแคลลัสค่อนข้างมาก

2 = การเกิดแคลลัสปานกลาง

1 = การเกิดแคลลัสน้อย

0 = ไม่เกิดแคลลัส

นับจำนวนยอด

บันทึกภาพ

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

การทดลองที่ 4 การชักนำให้ยอดเกิดราก

นำยอดที่ได้ชักนำให้ออกรากในอาหารสูตร MS โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. เตรียมอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลดลงครึ่งหนึ่งเติม IBA หรือ NAA 0 , 0.5 , 10. และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. วางแผนการทดลองแบบ CRD แบ่งเป็น 7 ทรีตเมนต์ ทำ 10 ซ้ำ เลี้ยงในสภาพที่แสงสว่าง 16 ชั่วโมง สลับกับช่วงมืด 8 ชั่วโมง

3. บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงหลังจากทำการเลี้ยงได้นาน 4 สัปดาห์

เก็บข้อมูล

ให้คะแนนการเกิดแคลลัส ดังนี้

การเกิดแคลลัส ให้คะแนน 4 = การเกิดแคลลัสมาก

3 = การเกิดแคลลัสค่อนข้างมาก

2 = การเกิดแคลลัสปานกลาง

1 = การเกิดแคลลัสน้อย

0 = ไม่เกิดแคลลัส

จำนวนรากที่เกิดต่อต้น หาค่าเฉลี่ย

ความยาวราก หาค่าเฉลี่ย

บันทึกภาพ

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม

ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองเดือน สิงหาคม 2541 และสิ้นสุดการทดลอง เดือนกันยายน 2543

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การเพาะเมล็ดชวนชมในสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองนำเมล็ดชวนชมจากฝักแก่ที่มีอายุ 60 - 70 วัน เพาะในอาหารสูตรต่าง ๆ ได้แก่ วุ้นอย่างเดียว , ½ MS , MS , ½ MS + 15 % CM และ MS + 15 % CM ทำการทดลอง 30 ซ้ำ (ซ้ำละ 1 เมล็ด) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตรที่มีวุ้นเพียงอย่างเดียว เมล็ดงอกเร็วและมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด ถึง 96.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคืออาหาร ½ MS และ ½ MS + 15 % CM มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 90.6 และ 87 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนอาหาร MS และ MS + 15 % CM จะมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำเพียง 63.3 และ 38.7 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ตรวจสอบดูความสมบูรณ์ของต้นอ่อนที่พร้อมต่อการย้ายปลูกได้ พบว่าอาหาร ½ MS จะให้ต้นอ่อนที่มีความสมบูรณ์สูงสุด 81.25 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะลำต้นอ่อนแตกใบจริง 1 – 2 คู่ แตกรากแขนง ส่วนอาหารวุ้นอย่างเดียว อาหาร MS และ MS + 15 % CM จะได้ต้นที่มีความสมบูรณ์ต่ำ ลักษณะผอมยาวไม่แตกใบจริงและรากแขนง (ดังตารางที่ 1 , ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความงอก เปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ และลักษณะต้นอ่อน ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	% ความงอก	% ต้นอ่อนที่สมบูรณ์	ลักษณะต้นอ่อน
วุ้น	96.5		ต้นผอมยาวขนาด 1 – 1.5 นิ้ว ยังไม่แตกใบจริงและรากแขนง
½ MS	90.6	81.25	ต้นค่อนข้างอ้วนขนาด 1–1.5 นิ้ว แตกใบจริง 1-2 คู่ แตกรากแขนง
MS	63.3	16.6	ต้นอ้วนสั้นขนาด 0.5 – 1 นิ้ว
½ MS + 15 % CM.	87.1	45.2	ต้นอ้วนสั้น 0.5 – 1 นิ้ว มีรากแขนง
MS + 15 % CM.	38.7	-	ต้นผอมยาวไม่คลี่ใบเลี้ยง

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

ภาพที่ 1 ลักษณะต้นอ่อนชวนชมที่เพาะเมล็ดในอาหาร ½ MS เมื่ออายุ 3 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

การทดลองที่ 2 การชักนำให้เกิดแคลลัส

การเพาะเลี้ยงเอนโดสเปริ์มของชวนชมลูกผสมฮอลแลนด์ในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่งและเติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ BA 0.1 , 1.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2 , 4 – D , NAA หรือ IBA 0.1 , 1.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเอนโดสเปริ์มในอาหารบางทรีตเมนต์ เมื่อเริ่มมีการบันทึกดังนี้

สัปดาห์ที่ 1 อาหารที่เติม BA ร่วมกับ 2 , 4 – D เฉพาะทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + 2 , 4 – D 0.1 , BA 1.0 + 2 , 4 – D 0.1 และ BA 1.0 + 2 , 4 – D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อเอนโดสเปริ์มเขียวและเต่งขึ้น และอาหารที่เติม BA ร่วมกับ IBA ทุกทรีตเมนต์ไม่เปลี่ยนแปลง

สัปดาห์ที่ 2 อาหารที่เติม BA ร่วมกับ 2 , 4 – D เกิดแคลลัสที่ขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนทรีตเมนต์ที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในสัปดาห์แรกไม่เกิดแคลลัสเพิ่มขึ้น อาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA ในทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + NAA 0.1 และ BA 1.0 + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อขยายขนาดเพิ่มขึ้นเห็นชัดเจน ส่วนทรีตเมนต์อื่นเนื้อเยื่อเขียว อาหารที่เติม BA ร่วมกับ IBA ทุกทรีตเมนต์ไม่เปลี่ยนแปลง

สัปดาห์ที่ 3 อาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA เฉพาะทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + 2 , 4 – D 0.1 , BA 1.0 + 2 , 4 – D 0.1 และ BA 1.0 + 2 , 4 – D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสที่ขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + 2 , 4 – D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสยุบตัวลง อาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA และเฉพาะทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + NAA 0.1 และ BA 1.0 + NAA 0.1 และ BA 1.0 + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ขยายขนาดเพิ่มขึ้น ส่วนทรีตเมนต์อื่น ๆ ไม่เปลี่ยนแปลง

สัปดาห์ที่ 4 - 6 เกิดการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้น และการยุบตัวในบางทรีตเมนต์ ในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าทรีตเมนต์ที่เติม BA 1.0 + 2 , 4 – D 0.1 และ BA 1.0 + 2 , 4 – D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสมาก สีเขียวปนเหลือง ลักษณะขรุขระ เกาะกันหลวม ๆ ฉ่ำน้ำ ทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + 2 , 4 – D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสค่อนข้างมากสีเขียวปนเหลืองลักษณะเกาะกันหลวม ๆ ฉ่ำน้ำ ทรีตเมนต์ที่เติม BA 1.0 + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสค่อนข้างมากสีเหลืองปนน้ำตาล ลักษณะเกาะกันค่อนข้างแน่น (ดังตารางที่ 2 , 3 และ 4 ภาพที่ 2)

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ Chiang Rai Rajabhat University

ตารางที่ 2 การเกิดลักษณะและสีแคลลัสของเอนโดสเปริ์มชวนชม ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และเติม BA ร่วมกับ 2 , 4 – D ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ระดับ BA + 2 , 4 – D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดแคลลัส (คะแนน)	ลักษณะแคลลัส	สีแคลลัส
0.1 + 0.1	3	เกาะกันหลวม ๆ	เขียวปนเหลือง
0.1 + 1.0	0	-	-
0.1 + 10.0	0	-	-
1.0 + 0.1	4	เกาะกันหลวม ๆ	เขียวปนเหลือง
1.0 + 1.0	4	เกาะกันหลวม ๆ	เขียวปนเหลือง
1.0 + 10.0	0	-	-
10.0 + 0.1	0	-	-
10.0 + 1.0	0	-	-
10.0 +10.0	0	-	-

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

ตารางที่ 3 การเกิด ลักษณะและสีแคลลัสของเอนโดสเปริ์มชวนชม ที่เลี้ยงในอาหารสูตร **MS** ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล **60** เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และเติม **BA** ร่วมกับ NAA ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา **6** สัปดาห์

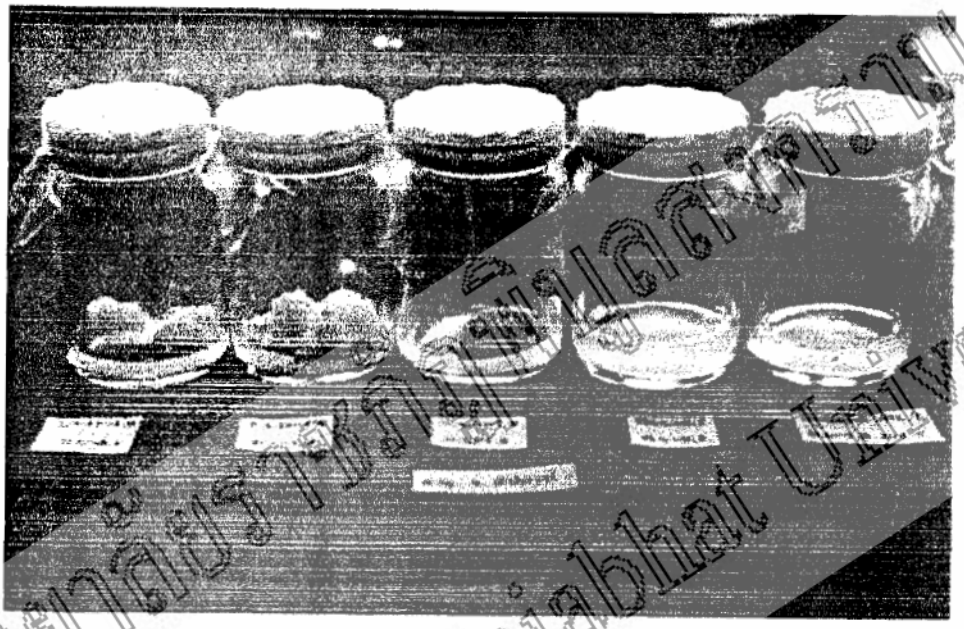
ระดับ BA + NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดแคลลัส (คะแนน)	ลักษณะแคลลัส	สีแคลลัส
0.1 + 0.1	0		
0.1 + 1.0	0		
0.1 + 10.0	0		
1.0 + 0.1	0		
1.0 + 1.0	3	เกาะกันค่อนข้างแน่น	สีเหลืองปนน้ำตาล
1.0 + 10.0	0		
10.0 + 0.1	0		
10.0 + 1.0	0		
10.0 +10.0	0		

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

ตารางที่ 4 การเกิด ลักษณะและสีแคลลัสของเอนโดสเปริ์มชวนชม ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และเติม BA ร่วมกับ IBA ในระดับ ต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ระดับ BA +IBA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดแคลลัส (คะแนน)	ลักษณะแคลลัส	สีแคลลัส
0.1 + 0.1	0	-	-
0.1 + 1.0	0	-	-
0.1 + 10.0	0	-	-
1.0 + 0.1	0	-	-
1.0 + 1.0	0	-	-
1.0 + 10.0	0	-	-
10.0 + 0.1	0	-	-
10.0 + 1.0	0	-	-
10.0 +10.0	0	-	-

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University



ภาพที่ 2 การเกิด ลักษณะ และสีแคลลัสของเอนโดสเปิร์มชวนชมที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และเติม BA 0.1 ร่วมกับ 2 ,4 - D 1.0 , BA 1.0 ร่วมกับ 2 ,4 –D 1.0 BA 1.0 ร่วมกับ NAA 1.0 , BA 0.1 ร่วมกับ IBA 0.1 และ BA 1.0 ร่วมกับ IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

การทดลองที่ 3 การชักนำให้ชิ้นส่วนพืช (explant) เกิดยอดจำนวนมาก (multiple shoot)

3.1 การเพาะเลี้ยงส่วนใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ของต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในอาหารสูตร MS (ดัดแปลง) ที่ลด NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA 0.1 , 1.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 , 1.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า

สัปดาห์ที่ 1 เกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดส่วนโคนของส่วนใต้ใบเลี้ยง ยกเว้น ทรีตเมนต์ที่เติม BA 10.0 + NAA 0.1 และ BA 10.0 + NAA 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สัปดาห์ที่ 2 แคลลัสที่เกิดมีการมีขนาดเพิ่มขึ้นปานกลาง ในทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + NAA 0.1 , BA 1.0 + NAA 10.0 , มิลลิกรัมต่อลิตร และเกิดแคลลัสเล็กน้อย ในทรีตเมนต์ที่เติม BA 0 .1 + NAA 10.0 , BA 1.0 + NAA 0.1 , BA 10.0 + NAA 1.0 และ BA 10.0 + NAA 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนทรีตเมนต์ที่เติม BA 10.0 + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนใต้ใบเลี้ยงยังไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

สัปดาห์ที่ 3 ทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + NAA 0.1 และ BA 0.1 + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสค่อนข้างมาก และเกิดยอดจำนวน 1 ยอด ทรีตเมนต์ที่เติม BA 1.0 + NAA 1.0 และ BA 1.0 + NAA 10.0 มิลลิกรัมต่อกรัม เกิดแคลลัสมาก ทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + NAA 10.0 , BA 1.0 + NAA 0.1 และ BA 10.0 + NAA 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสปานกลาง ส่วนทรีตเมนต์ที่เติม BA 10.0 + NAA 0.1 และ BA 10.0 + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสเล็กน้อย

สัปดาห์ที่ 4 ทรีตเมนต์ที่เติม BA 1.0 + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเกิดแคลลัสมาก และเกิดยอดจำนวน 1 ยอดต่อก้อนแคลลัส คิดเป็นเป็น 66.67 เปอร์เซ็นต์ ทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + NAA 0.1 และ BA 0.1 + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสค่อนข้างมาก และเกิดยอดจำนวน 1 ยอดต่อก้อนแคลลัสคิดเป็น 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรีตเมนต์ที่เติม BA 1.0 + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสปานกลาง และเกิดยอดจำนวน 1 ยอดต่อก้อนแคลลัสคิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ทรีตเมนต์ที่เติม BA 0.1 + NAA 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่เกิดยอด ส่วนทรีตเมนต์ที่เติม BA 10.0 + NAA 0.1 และ BA 10.0 + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสเล็กน้อย ไม่เกิดยอด

เมื่อทิ้งไว้ถึง 6 สัปดาห์ พบว่าทรีตเมนต์ที่เติม BA 1.0 + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดเป็นยอดที่มีความสมบูรณ์ได้ถึง 7 ยอด ต่อก้อนแคลลัส (ดังตารางที่ 5 ภาพที่ 3)

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

ตารางที่ 5 การเกิดแคลลัส และเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของส่วนใต้ใบเลี้ยงชวนชมในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA ร่วมกับ NAA ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ระดับ BA + NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดแคลลัส (คะแนน)	การเกิดยอด (เปอร์เซ็นต์)
0.1 + 0.1	3	25
0.1 + 1.0	3	50
0.1 + 10.0	2	
1.0 + 0.1	2	25
1.0 + 1.0	4	66.67
1.0 + 10.0	2	
10.0 + 0.1	1	
10.0 + 1.0	1	
10.0 +10.0	0	-

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

ภาพที่ 3 การเกิดยอดของส่วนใต้ใบเลี้ยงชวนชมจากสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่งเติม BA 1.0 ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

3.2 การเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดต้นที่เจริญจากสภาพปลอดเชื้อ ในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม **BA** 0 , 1.0 , 3.0 และ5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ **IBA** 0 , 1.0 , 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า

สัปดาห์ที่ 1 ทุกทรีตเมนต์เกิดการเปลี่ยนของเนื้อเยื่อส่วนฐานเป็นแคลลัสสีเขียว

สัปดาห์ที่ 2 ก้อนแคลลัสมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นมีลักษณะสีเขียว และสีเขียวอมเหลืองบางทรีตเมนต์ ส่วนยอดยืดยาวขึ้นเหนือก้อนแคลลัสมีใบ 2 – 3 ใบ ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่เติม **BA** 1.0 + **IBA** 1.0 , **BA** 1.0 + **IBA** 2.0 และ BA 5.0 + **IBA** 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สัปดาห์ที่ 3 ก้อนแคลลัสส่วนใหญ่หยุดการเจริญ บางทรีตเมนต์เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล , ส่วนยอดเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น มีใบ 1 – 4 ใบ ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่เติม **BA** 1.0 + **IBA** 1.0 , **BA** 1.0 + **IBA** 2.0 , **BA** 3.0 + **IBA** 2.0 **BA** 1.0 + **IBA** 0 , **BA** 3.0 + **IBA** 1.0 , **BA** 5.0 + **IBA** 0 และ **BA** 5.0 + **IBA** 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สัปดาห์ที่ 4 ก้อนแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มยุบตัว ทุกทรีตเมนต์ ส่วนยอดยืดยาวขึ้นมีใบ 2 – 7 ใบ บางทรีตเมนต์เกิดตุ่มสีเขียวและเกิดยอดเล็ก ๆ จากก้อนแคลลัส ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่เติม **BA** 3.0 + **IBA** 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอดเฉลี่ย 3 ยอด ทรีตเมนต์ที่เติม **BA** 1.0 + **IBA** 1.0 , **BA** 1.0 + **IBA** 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอดเฉลี่ย 2 ยอด ส่วนทรีตเมนต์ที่เติม **BA** 5.0 + **IBA** 0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดตุ่มเขียวเฉลี่ย 2 ตุ่ม (ดังตารางที่ 6 ภาพที่ 4,5)

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

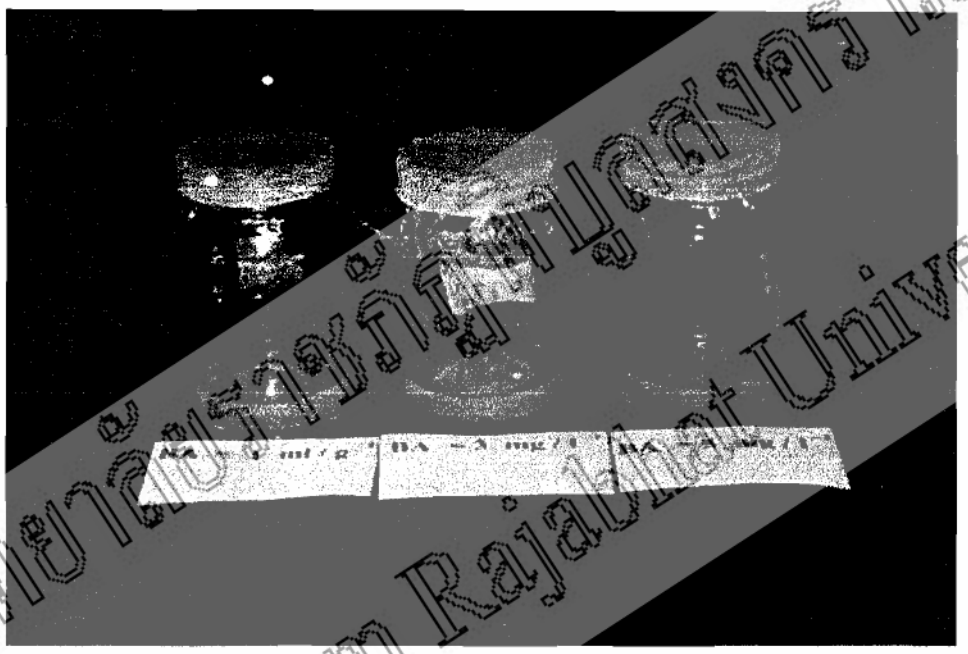
ว
631.5382
ท118ค
ฉ.1

138443

ตารางที่ 6 การเกิดแคลลัส และจำนวนยอด จากการเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดชวนชม จากสภาพปลอดเชื้อ ในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA ร่วมกับ ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ระดับ BA + IBA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดแคลลัส (คะแนน)	จำนวนยอด ต่อก้อนแคลลัส
1.0 + 0	1	1
1.0 + 1.0	4	2
1.0 + 2.0	3	2
3.0 + 0	3	1
3.0 + 1.0	2	3
3.0 + 2.0	1	1
5.0 + 0	3	2
5.0 + 1.0	2	1
5.0 + 2.0	3	1

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University



ภาพที่ 4 การเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดชวนชมจากสภาพปลอดเชื้อในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่งเติม BA 1.0 , 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

ภาพที่ 5 การเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดชวนชมจากสภาพกปลอดเชื้อในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่งเติม **BA** 1.0 , 3.0 และ 5.0 ร่วมกับ **IBA** 1.0 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

การทดลองที่ 4 การชักนำให้ยอดเกิดราก

จากการนำปลายยอดชวนชมจากการทดลองที่ 3 เลี้ยงในอาหารสูตร **MS** ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม IBA หรือ NAA 0 , 0.5 . 1.0 1151: **2.0** มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า

สัปดาห์ที่ 1 เกิดการเปลี่ยนแปลงในทรีตเมนต์ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และทรีตเมนต์ที่เติม IBA ทีระดับ **0.5**, 10 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มออกราก ส่วนทรีตเมนต์ที่เติม NAA 0.5 , 1.0 **a** 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดการเปลี่ยนแปลงที่เนื้อเยื่อส่วนโคน แต่ไม่ออกราก

สัปดาห์ที่ 2 ทรีตเมนต์ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและทรีตเมนต์ที่เติม IBA ทุกระดับความเข้มข้นเกิดรากมากขึ้นและยาวขึ้น และทรีตเมนต์ที่เติม IBA 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อส่วนโคนเล็กน้อย ส่วนทรีตเมนต์ที่เติม NAA ทุกระดับ แคลลัสเพิ่มมากขึ้น ไม่เกิดราก

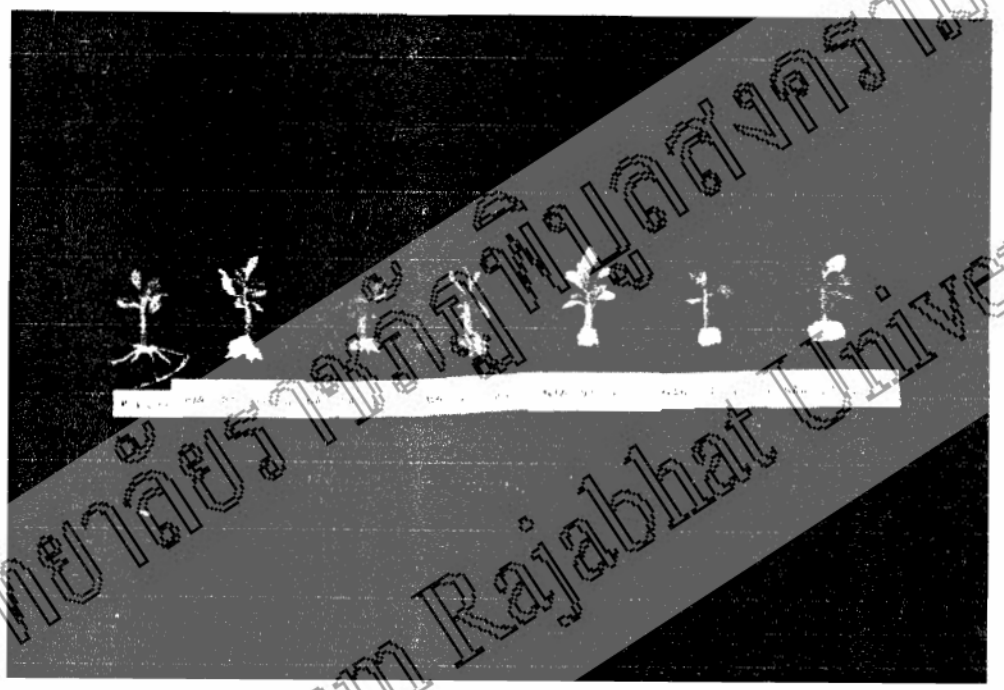
สัปดาห์ที่ 3 ทรีตเมนต์ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เกิดราก 92.86 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ย 5.50 ราก และความยาวรากเฉลี่ย 1.90 เซนติเมตร ทรีตเมนต์ที่เติม IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดราก 85.71 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ย 8.78 ราก และความยาวรากเฉลี่ย 0.74 เซนติเมตร และทรีตเมนต์ที่เติม IBA 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดราก 69.23 และ 58.33 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ย 8.30 และ 4.43 รากและความยาวรากเฉลี่ย 0.48 และ 0.47 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนทรีตเมนต์ที่เติม NAA 0.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสปานกลางถึงค่อนข้างมาก มีบางตัวอย่างเกิดราก 28.57 และ 7.69 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ย 1.14 และ 0.2 ราก และความยาวรากเฉลี่ย 0.3 และ 0.83 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 6)

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และการเกิดแคลลัสของปลายยอดชวนชมจากสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม IBA และ NAA ในระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 3 สัปดาห์

ระดับสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)	% การเกิดราก	จำนวนราก เฉลี่ย	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม.)	การเกิดแคลลัส (คะแนน
ไม่เติมสาร	92.86	5.50	1.90	0
IBA 0.5	85.71	8.78	0.74	0
IBA 1.0	69.23	8.30	0.48	1
IBA 2.0	58.33	4.43	0.47	1
NAA 0.5	28.57	1.14	0.30	2
NAA 1.0	0	0	0	3
NAA 2.0	7.69	0.2	0.83	3

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University



ภาพที่ 6 การเกิดรากของปลายยอดชวนชมจากสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ลดปริมาณ NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม IBA และ NAA 0 , 0.5 , 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

วิจารณ์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชวนชม

การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อนำต้นอ่อนที่สมบูรณ์ไปตัดแบ่งเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ เพื่อเพาะเลี้ยงต่อไป จากการเพาะเมล็ดในอาหารที่มีวุ้นเพียงอย่างเดียว และอาหาร ½ MS มีเปอร์เซ็นต์การงอกถึง 96.5 a 90.6 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อต้นอ่อนเจริญเติบโตต่อไปถึง 3 สัปดาห์ ในอาหาร ½ MS สามารถให้ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ถึง 81.25 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่อาหารวุ้นเพียงอย่างเดียวไม่สามารถให้ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้เนื่องจากขาดธาตุอาหารพืช

การนำเอาส่วนต่างๆ ของต้นอ่อนชวนชมที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง และเติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เติม BA ร่วมกับ 2 , 4 – D , NAA และ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 45 วัน พบว่า เอนโดสเปริ์มของชวนชมเกิดแคลลัสได้ดีบนอาหาร ที่เติม BA 0.1 – 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2 , 4 – D 0.1 -1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนที่เติม BA ร่วมกับ IBA ทุกระดับไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ทั้งนี้เนื่องจาก BA เป็นไซโตไคนินชนิดหนึ่งที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ เช่นเดียวกับ (Pierik และคณะ 1974) และการเพาะเลี้ยงโกโก้ของ Lee และ Rao (1981) พบว่าใบเลี้ยงโกโก้เกิดแคลลัสได้ดีบนอาหารครึ่ง MS ที่มี BAP 2 – 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Miller (1990) ได้ทดลองเลี้ยงใบเลี้ยงสตรอเบอรี่บนอาหารที่เติม 2 , 4 – D หรือ NAA จะเกิดแคลลัสได้มากกว่าเลี้ยงบน BA เพียงอย่างเดียว

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้ BA ร่วมกับ 2 , 4 – D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสชนิดที่เกาะกันหลวมๆ และอ่อนนุ่ม ส่วนการใช้ BA ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสชนิดที่เกาะกันค่อนข้างแน่นมากกว่า เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน เช่น 2 , 4 – D ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ และการขยายขนาดอย่างรวดเร็ว ทำให้เซลล์เกาะกันอย่างหลวม ๆ แต่การใช้ NAA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสชนิดเกาะกันแน่นด้วย เนื่องจากมีศักยภาพในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการขยายขนาดของเซลล์แตกต่างจาก 2 , 4 – D เช่นเดียวกับการทดลองของ สุรพล (2531) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของละหุ่งในอาหาร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ 2 , 4 – D หรือ NAA พบว่า การใช้ 2 , 4 – D ส่วนใหญ่ชักนำให้เกิดแคลลัสชนิดเกาะกันหลวม ๆ และการใช้ NAA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสชนิดเกาะกันแน่นด้วย

จากการทดลองนำส่วนใต้ใบเลี้ยงของชวนชม เลี้ยงในอาหาร MS ที่ลดปริมาณ NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA ร่วมกับ NAA ในความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าที่ BA 0.1 –

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย Chiang Rai Rajabhat University

1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 - 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสได้ค่อนข้างมากและที BA 1.0 ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสได้มากที่สุด เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงส่วนเอนโดสเปริ์ม และจากการทดลองเพาะเลี้ยงส่วนใต้ใบเลี้ยงของถะหุ่ง ในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เติม Kinetin และ NAA ที่ระดับ 0 , 3 , 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี (สุรพล , 2531) เมื่อย้ายแคลลัสลงในอาหารเดิมและเลี้ยงต่อไปถึง 9 สัปดาห์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ การใช้ BA 0.1 – 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ยอด และที่ BA 1.0 ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอดสูงสุด เช่นเดียวกับ กุหลาบ (2539) นำแคลลัสของ Double Cactus Mixed เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BAO.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารพัฒนาเป็นต้นได้ และประนอม (2530) เลี้ยงแคลลัสของช่อดอกอ่อนแกลดิโอลิส ในอาหารแข็ง MS ที่เติม BA 1 – 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดเป็นยอดจำนวนมาก และ วิไลลักษณ์ (มปพ.) เลี้ยงแคลลัส จากปลายยอดโกสนในอาหาร MS ที่เติม BAP 5 ppm ร่วมกับ NAA 0.1 ppm สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ ซึ่ง Skoog และ Miller (1957) เสนอว่า การเกิดเป็นยอดหรือรากขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่าง ออกซินและไซโตไคนิน เมื่อไซโตไคนิน มีความเข้มข้นสูงจะชักนำให้เกิดยอด และถ้าออกซินมีความเข้มข้นสูงการเกิดเป็นยอดจะลดลง

การชักนำให้เกิดยอดมากขึ้นจากการเลี้ยงส่วนปลายยอดในอาหาร MS ที่ลดปริมาณ NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง เติม BA และ IBA พบว่าอาหารที่ใช้ BA ร่วมกับ IBA โดยมีปริมาณ IBA สูงกว่ามีแนวโน้มชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่า เช่นเดียวกับมัทธณีการ์ (2538) พบว่าการทำให้เกิดยอดโดยการนำตาข้างกุหลาบเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ IBA พบว่าอาหารที่มี BA 2.0 ร่วมกับ IBA 0 และ BA 2 ร่วมกับ IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอด 2 ยอด เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงปอสาญี่ปุ่น โดยใช้ยอดเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี BA 1.0 ร่วมกับ IBA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าตาข้างของปอสาแตกตาได้ถึง 58.33 เปอร์เซ็นต์

การชักนำให้ยอดเกิดราก เมื่อนำยอดชวนชมเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณ NO_3 ลงครึ่งหนึ่งเติม IBA และ NAA ความเข้มข้น 0 , 0.5 , 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าในอาหารที่ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถเกิดรากได้ถึง 92.86 เปอร์เซ็นต์ ความยาวรากสูงสุดเฉลี่ย 1.90 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 5.50 ราก เมื่อใช้ IBA จากระดับความเข้มข้น 0.5 – 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า การเกิดรากลดต่ำลงจาก 85.71 - 58.33 เปอร์เซ็นต์ ความยากรากลดลงจาก 0.74 – 0.47 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ยลดลงจาก 8.78 – 4.43 sin และส่วนโคนที่มีการเกิดแคลลัสเพิ่มขึ้น ส่วน NAA ความเข้มข้น 0.5 – 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดแคลลัสค่อนข้างมาก การเกิดรากลดลงเมื่อความเข้มข้นของ NAA เพิ่ม

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ Chiang Mai Rajabhat University

ขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะว่า IBA เป็นออกซินที่มีคุณสมบัติในการเร่งรากได้ดีกว่าออกซินชนิดอื่น (พีรเดช , **2529)** เช่นเดียวกับ Vieitez และคณะ **(1978)** ที่รายงานว่าการเกิดรากของเกาลัด NAA ให้ผลในการเกิดรากน้อยกว่า **IBA** และการทดลองเลี้ยงยอดมะม่วงหิมพานต์ในอาหาร MS ที่เติม IBA และ NAA ความเข้มข้น 4 และ **8** มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดรากได้ 100 และ 50 เปอร์เซ็นต์ **(พินิจ,** 2536)

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Pibulsongkram Rajabhat University

สรุป

การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชวนชม สรุปได้ดังนี้

1. การเพาะเมล็ดชวนชมในสภาพปลอดเชื้อ จะมีอัตราการงอกสูงและได้ต้นอ่อนที่เจริญเติบโตสมบูรณ์ดี ในอาหารสูตร ½ MS

2. การเพาะเลี้ยงเอนโดสเปริ์มชวนชม สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 60 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม BA 0.1 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4 – D หรือ NAA 0.1 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. อาหารที่เติม BA ร่วมกับ 2 , 4 – D ส่วนใหญ่จะชักนำให้เกิดแคลลัสชนิดเกาะกันหลวม ๆ และอ่อนนุ่ม ส่วน NAA ทำให้เกิดแคลลัสชนิดเกาะกันแน่น

4. แคลลัสที่เลี้ยงในอาหาร MS Ban NO, ลงครึ่งหนึ่ง สามารถพัฒนาเป็นยอด ที่ระดับ BA 1.0 ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอดได้มากที่สุด 66.67 เปอร์เซ็นต์

5. การเลี้ยงตายอด สามารถเกิดยอดได้มากที่สุดในอาหาร MS ที่เติม BA 3 ร่วมกับ IBA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

6. ยอดชวนชมเกิดรากได้ดีในอาหาร MS Ban NO, ลงครึ่งหนึ่ง เติม IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

เอกสารอ้างอิง

กรึก นฤทุม และมณฑา สุริยะไชยากร. 2536. การปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์อ้อย โดยวิธีเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

กุหลาบ คงทอง. 2531. การเพาะเลี้ยงรักแร่ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

เฉลียว จันทร์รักษ์. มปพ. การเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ : อิทธิพลของสารเร่งการเจริญเติบโตต่อการเจริญและการพัฒนาของเนื้อเยื่อ . สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล , พิษณุโลก.

ชุติมา คุณาไทย. 2526. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

ถิรพงศ์ ญาติสารพันธ์. 2528. การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

ประนอม พฤฒพงษ์. 2530. การผลิตแกลดิโอลัสโดยวิธีการเลี้ยงก้านดอกอ่อน. สำนักฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ , กรุงเทพฯ.

เผดิม รติสุนทร. 2535. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในข้าวหอมพันธุ์ต่าง ๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พินิจ กรินท์ธัญญากิจ. 2536. การเพาะเลี้ยงมะม่วงหิมพานต์ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

พีรเดช ทองอำไพ. 2529. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ : แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. ไดนามิคการพิมพ์ , กรุงเทพฯ.

มัทธณีการ สามัคคี. 2538. การศึกษาสูตรอาหารที่ชักนำยอดกุหลาบพันธุ์ซูเปอร์สตาร์. ปริญญานิพนธ์ปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยรังสิต , กรุงเทพฯ.

รงรอง วิเศษสุวรรณและพิสวรรณ เจียมสมบัติ. 2532. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดกับการผลิตอ้อยปลอดเชื้อ โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

วิไลลักษณ์ สุวจิตตานนท์. 2528. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโกสน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University

สนธิชัย จันทร์เปรม. 2533. การเก็บรักษาและการรวบรวมพันธุ์อ้อยโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

qrwa ขุมทรัพย์. 2531. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อละหุ่ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

อรดี สหวัชรินทร์ และทวีพงศ์ สุวรรณโร. 2527. การขยายพันธุ์อินทผลัมโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

อฤชร พงษ์ไสว. 2542. คู่มือคนรักต้นชวนชม. บ้านและสวน. กรุงเทพฯ.

Ault , J. R. 1994. *In vitro* propagation of *Eriostemon myoproides* and *Eriostemon stardisi*. Hort. Science. 29 (6) : 686 - 688.

Lee, S. K. and A. N. Rao. 1981. Induction of callus and organogenesis in cocoa tissues, pp. 107 -112. In A. N. Rao (ed.) Tissue Culture of Economically Important Plants. Costed , Singapore.

Miller , A. R. 1990. Plant regeneration from excised cotyledons of mature strawberry achenes. Hort. Science. 25 : 569 - 571.

Mondal , et. al. 1994. Plant Cell Reproduction. 13 : 390 – 393.

Pierik , R. L. M. ; P. Van Leeuwen and G. C. C. M. Rigter. 1974. Regeneration of leaf explants of *Authurium andraeanum* Lind. *in vitro*. Neth. J. Agri. Sci. 27 : 221 - 226.

Skoog , F. and C. O. Miller. 1957. Chemical regenerations of growth and organ formation in plant tissue culture *in vitro*. Sym. Soc. Expt. Biol. 11 : 118 – 180.

Vieitez , A. M. ; M. L. Gonzalez and E. Vieitez. 1978. *In Vitro*. Culture of cotyledon tissue of *Castanea sativa*. Mill. Sci. Hort. 8 : 243 –247.

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม Pibulsongkram Rajabhat University