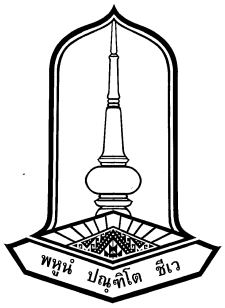


การขยายพันธุ์เกาลัดจีน (*Castanea mollissima* Blume) และมะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Corrêa) ในหลอดทดลอง

กสานติ์ หาญชนะ

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
มิถุนายน 2558
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Mahasarakham University

การขยายพันธุ์เกาลัดจีน (*Castanea mollissima* Blume) และมะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Corrêa) ในหลอดทดลอง

กสานติ์ หาญชนะ

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
มิถุนายน 2558
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Mahasarakham University

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนายกสานต์ หาญชนะ แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....	ประธานกรรมการ
(ผศ.ดร.อภิเดช แสงดี)	(อาจารย์บัณฑิตศึกษาประจำคณะ)
.....	กรรมการ
(ผศ.ดร.ปิยะพร แสนสุข)	(อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก)
.....	กรรมการ
(ผศ.ดร.สุรพล แสนสุข)	(อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม)
.....	กรรมการ
(อาจารย์ ดร.สุธิรา มณีฉาย)	(อาจารย์บัณฑิตศึกษาประจำคณะ)
.....	กรรมการ
(รศ.ดร.หนูเดือน เมืองแสน)	(ผู้ทรงคุณวุฒิ)

มหาวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

.....	.....
(ศ.ดร.วิเชียร มากตุ่น)	(ศ.ดร.ประดิษฐ์ เทอดทูล)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์	คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 30 เดือน ธ.ค. พ.ศ. 2558

Mahasarakham University

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะพร แสนสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพล แสนสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิเดช แสงดี ประธานกรรมการสอบ อาจารย์ ดร.สุธิรา มณีฉาย กรรมการสอบและรองศาสตราจารย์ ดร.หนูเดือน เมืองแสน กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ ตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ปลูกฝังผู้วิจัยให้มีความรับผิดชอบ รักในการทำงาน สนับสนุนให้กำลังใจและเป็นแบบอย่างที่ดีแก่ผู้ทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.นิภาพร ชุติมันต์ ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้คำแนะนำในการวิเคราะห์สถิติ

ขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ณ ภูค้อ ตำบลนางิ้ว อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างของต้นเกาลัดจีนและต้นมะตูมในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยาทุกท่าน ที่กรุณาอบรม สั่งสอน ให้ความรู้และความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งและประทับใจในความกรุณาของอาจารย์ในภาควิชาชีววิทยา ทุกท่านอย่างยิ่ง และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ คุณสุภาพร ทองสาดี ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยระหว่างรับราชการทหารเป็นระยะเวลา 6 เดือน และให้กำลังใจที่ดีเสมอมา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องอุปกรณ์ ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคามทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการเบิกสารเคมีและอุปกรณ์ต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยาที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ สาขาชีววิทยาทุกคนที่ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้รับทุนวิจัยจากเงินทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และขอขอบคุณทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยที่ให้ทุนการศึกษา

ท้ายที่สุดนี้ ขอขอบพระคุณบิดา มารดาและญาติพี่น้อง ที่เป็นกำลังใจที่สำคัญอย่างยิ่งในการศึกษาและให้การสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

กสานติ์ หาญชนะ

Mahasarakham University

ชื่อเรื่อง การขยายพันธุ์เกาลัดจีน (*Castanea mollissima* Blume) และมะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Corrêa) ในหลอดทดลอง
ผู้วิจัย นายกสานติ์ หาญชนะ
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต **สาขาวิชา** ชีววิทยา
กรรมการควบคุม ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร.ปิยะพร แสนสุข และผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร.สุรพล แสนสุข
มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม **ปีที่พิมพ์** 2558

บทคัดย่อ

เพาะเลี้ยงใบอ่อนเกาลัดจีน (*Castanea mollissima* Blume) บนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) (1962) ที่เติม Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.5 มก/ล ร่วมกับ Naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล สามารถชักนำให้ใบอ่อนเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 79.16% และเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย 1.06 ซม. นำชิ้นส่วนข้อเกาลัดจีนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.0 มก/ล เวลา 8 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส จากนั้นย้ายแคลลัสเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 มก/ล สามารถเพิ่มจำนวนแคลลัสได้ดีที่สุด 100% และเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 1.62 ซม.

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนของราก ใบ ใบเลี้ยง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดมะตูม (*Aegle marmelosn* (L.) Corrêa) บนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล และ BA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและพัฒนาไปเป็นยอดได้ดีที่สุด 100% ความยาวยอดเฉลี่ย 1.34 ซม. และจำนวนยอดเฉลี่ย 58.10 ยอดต่อแคลลัส จากนั้นนำยอดที่ได้จากแคลลัสย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม Indole-3-butyric acid (IBA), Indole-3-acetic-acid (IAA), NAA, BA และ Thidiazuron (TDZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเพื่อชักนำให้เกิดราก เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่ายอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 84.61% และจำนวนรากเฉลี่ย 5.00 ราก/ต้น จากนั้นนำต้นกล้ามะตูมออกปลูกในกระถางที่มีวัสดุปลูกแตกต่างกันเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้ามะตูมที่ปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำอัตราส่วน 1:1:1 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตได้ดีที่สุด 86.66%

คำสำคัญ : การขยายพันธุ์; การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ; แคลลัส; เกาลัดจีน; มะตูม

Mahasarakham University

TITLE *In vitro* propagation of Chinese chestnut (*Castanea mollissima* Blume) and Beal fruit tree (*Aegle marmelos* (L.) Corrêa)
AUTHOR Mr. Kasan Hanchana
DEGREE Master Degree of Science **MAJOR** Biology
ADVISORS Asst. Prof. Piyaporn Saensouk, Ph.D. and Asst. Prof. Surapon Saensouk, Ph.D.
UNIVERSITY Mahasarakham University **DATE** 2015

ABSTRACT

Young leaves of *Castanea mollissima* Blume were cultured on Murashige and Skoog (MS) (1962) medium supplemented with 0, 0.1 and 0.5 mg/l Benzyladenine (BA) in combination with 0, 0.1, 0.5 and 1.0 mg/l Naphthaleneacetic acid (NAA) for 8 weeks. The results showed that the highest percentage of callus induction was 79.16% and the average diameter of the callus was 1.06 cm when cultured the young leaves on MS medium supplemented with 0.1 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA. Nodes of *C. mollissima* were cultured on MS medium supplemented with 2.0 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA added for 8 weeks for callus induction. Then, the calli were transferred to MS medium supplemented with 0, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/l 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) for 4 weeks. The results showed that the percentage of callus increased up to 100% and the average diameter of the callus was 1.62 cm when cultured on MS medium plus 1.0 mg/l 2,4-D.

Roots, leaves, cotyledons, epicotyls and shoot tips of *Aegle marmelos* (L.) Corrêa were cultured on MS medium supplemented with 2.0 mg/l Zeatin in combination with 0.5 mg/l NAA and 0, 0.1, 0.5 and 1.0 mg/l BA as well as 0, 0.1 and 0.5 mg/l 2,4-D for 8 weeks. The results showed that the highest percentage of callus formation and shoot induction were 100%, the average shoot length was 1.34 cm and the average number of shoots was 58.10 shoots/callus, which were obtained from epicotyls that were cultured on MS medium supplemented with 0.5 mg/l BA and 0.1 mg/l 2,4-D. Then, the shoot explants derived from the callus were transferred to ½MS medium in combination with different concentrations of Indole-3-butyric acid (IBA), Indole-3-acetic acid (IAA), NAA, BA and Thidiazuron (TDZ) for 12 weeks. The best result for root formation was 84.61% and the average root number was 5.00 roots/plantlet when cultured on ½MS medium supplemented with 10 mg/l IBA and 1.5 mg/l NAA. When the plantlets were transferred to pots containing different types of plant

Mahasarakham University

materials under natural conditions for 16 weeks, the best survival rate was 86.66% in soil:sand:burned rice husk in a ratio of 1:1:1.

Key Words: Micropropagation; Tissue culture; Callus; *Castanea mollissima* Blume; *Aegle marmelos* (L.) Corrêa

Mahasarakham University

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ก
บทคัดย่อภาษาไทย ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ค
สารบัญตาราง ช
สารบัญภาพประกอบ ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย 3
1.4 สถานที่ทำการวิจัย 3
1.5 ระยะเวลาทำการวิจัย 4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4
บทที่ 2 ปริทัศน์เอกสารข้อมูล 5
2.1 โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) 5
2.2 เกาลัดจีน 6
2.3 มะตูม 7
2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 9
2.5 หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 9
2.6 ธาตุอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 9
2.7 รูปแบบการเจริญของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง 11
2.8 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 12
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 18
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ในการวิจัย 18
3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย 19
บทที่ 4 ผลการวิจัย 23
4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกาลัดจีน 23
4.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม 27
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 66
5.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกาลัดจีน 66
5.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม 67
5.3 ข้อเสนอแนะ 71

Mahasarakham University

หน้า

เอกสารอ้างอิง 73
ภาคผนวก 77
ประวัติย่อผู้วิจัย 95

Mahasarakham University

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของเกาลัดจีน 7

ตาราง 4.1 อิทธิพลของ NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำใบอ่อนเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 23

ตาราง 4.2 อิทธิพลของ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสที่เกิดจากข้อเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 26

ตาราง 4.3 การชักนำราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอดมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 30

ตาราง 4.4 อิทธิพลของ BA ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำลำต้นเหนือใบเลี้ยงมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 33

ตาราง 4.5 อิทธิพลของ IBA ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยงและปลายยอดมะตูมให้เกิดราก เมื่อเพาะเลี้ยง บนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 36

ตาราง 4.6 อิทธิพลของดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วนแตกต่างกัน เมื่อย้ายต้นกล้ามะตูมออกปลูกเป็นเวลา 16 สัปดาห์ 64

ตาราง ภาคผนวก 1 อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) ประกอบด้วยธาตุอาหารต่างๆ 78

ตาราง ภาคผนวก 2 เปรียบเทียบอิทธิพลของ NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำใบอ่อนเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 79

ตาราง ภาคผนวก 3 เปรียบเทียบอิทธิพลของ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสที่เกิดจากข้อเกาลัดจีนเมื่อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 81

ตาราง ภาคผนวก 4 เปรียบเทียบการชักนำราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอดมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 82

ตาราง ภาคผนวก 5 เปรียบเทียบอิทธิพลของ BA ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำลำต้นเหนือใบเลี้ยงมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 85

Mahasarakham University

หน้า

ตาราง ภาคผนวก 6 เปรียบเทียบอิทธิพลของ IBA ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดมะตูมให้เกิดราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 88

ตาราง ภาคผนวก 7 เปรียบเทียบอิทธิพลของดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วนต่างๆ ต่อการเพาะปลูกต้นกล้ามะตูมเป็นเวลา 16 สัปดาห์ 94

Mahasarakham University

สารบัญภาพประกอบ

หน้า

ภาพประกอบ 2.1 เกาลัดจีน 6
ภาพประกอบ 2.2 มะตูม 8
ภาพประกอบ 4.1 ลักษณะของแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนเกาลัดจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 1.0 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 23
ภาพประกอบ 4.2 ลักษณะของแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนเกาลัดจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ตามลำดับ) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 24
ภาพประกอบ 4.3 ลักษณะของแคลลัสที่เกิดจากข้อเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.0 มก/ล 25
ภาพประกอบ 4.4 ลักษณะของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 27
ภาพประกอบ 4.5 มะตูม 28
ภาพประกอบ 4.6 ยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 29
ภาพประกอบ 4.7 ยอดที่เกิดจากแคลลัสจากชิ้นส่วนต่างๆ ของมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 31
ภาพประกอบ 4.8 ยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างของมะตูมบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 31
ภาพประกอบ 4.9 ยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรMS ที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 33
ภาพประกอบ 4.10 อิทธิพลของ BA ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำลำต้นเหนือใบเลี้ยงมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 34
ภาพประกอบ 4.11 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของรากบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 39
ภาพประกอบ 4.12 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของรากบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 40
ภาพประกอบ 4.13 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของรากบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 41

Mahasarakham University

หน้า

ภาพประกอบ 4.14 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของรากบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 42
ภาพประกอบ 4.15 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของรากบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 43
ภาพประกอบ 4.16 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 44
ภาพประกอบ 4.17 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 45
ภาพประกอบ 4.18 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 46
ภาพประกอบ 4.19 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 47
ภาพประกอบ 4.20 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 48
ภาพประกอบ 4.21 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของปลายยอดบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 49
ภาพประกอบ 4.22 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของปลายยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 50
ภาพประกอบ 4.23 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของปลายยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 51
ภาพประกอบ 4.24 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของปลายยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 52
ภาพประกอบ 4.25 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของปลายยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 53

Mahasarakham University

หน้า

ภาพประกอบ 4.26 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างบน อาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 54
ภาพประกอบ 4.27 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างบน อาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 55
ภาพประกอบ 4.28 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างบน อาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 56
ภาพประกอบ 4.29 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างบน อาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 57
ภาพประกอบ 4.30 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างบน อาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 58
ภาพประกอบ 4.31 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 59
ภาพประกอบ 4.32 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 60
ภาพประกอบ 4.33 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 61
ภาพประกอบ 4.34 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 62
ภาพประกอบ 4.35 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 63
ภาพประกอบ 4.36 ต้นกล้ามะตูมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง 64
ภาพประกอบ 4.37 ต้นมะตูมที่ปลูกบนกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วนต่างๆ เป็นเวลา 16 สัปดาห์ 65

Mahasarakham University

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันสถานการณ์การตัดไม้ทำลายป่าในประเทศไทยมีแนวโน้มที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากข้อมูลของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พบว่าในส่วนของทรัพยากรป่าไม้ซึ่งจัดให้เป็นสิ่งแวดล้อมบนบกนั้นมีพื้นที่ป่าทั้งหมด 107,615,181 ไร่ หรือคิดเป็น 33.56% ของพื้นที่ประเทศ และเป็นพื้นที่ป่าอนุรักษ์ 64,826,658 ไร่ หรือคิดเป็น 20.22% ของพื้นที่ประเทศ และพบว่ายังคงถูกบุกรุกลักลอบตัดไม้ และถูกทำลายโดยไฟป่าอย่างต่อเนื่องทุกปี (ปิยรัษฎ์ ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์, 2554) ทำให้ความหลากหลายทางชีวภาพลดลง พรรณไม้บางชนิดเริ่มเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ จึงได้มีการจัดตั้งโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เพื่อเป็นการอนุรักษ์และวิจัยพรรณไม้ในประเทศไทย

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี จัดตั้งขึ้นในปี 2535 ครอบคลุมพื้นที่ทั่วภูมิภาคของประเทศไทย ซึ่งโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ณ ภูค้อ ตำบลนางิ้ว อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย เป็นโครงการที่อนุรักษ์พันธุกรรมพืชนำเข้าจากประเทศจีน ได้แก่ เกาลัดจีน มะตูม พุทราจีนและหนำเลี้ยบ เป็นต้น

เกาลัดจีน (*Castanea Mollissima* Blume) จัดอยู่ในวงศ์ Fagaceae (Umberto, 2000) เป็นพืชทรงพุ่มกึ่งตั้งตรง สูง 8-15 ม. ใบมีขนอ่อนจำนวนมาก ขอบใบหยัก เปลือกหุ้มเมล็ดมีหนาม สีเขียวหรือสีเขียวออกเหลืองเมื่อแก่ (จำรอง ดาวเรือง, 2546) เกาลัดจีนมีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนและปลูกกันมากทางภาคใต้ ซึ่งต้องการอากาศหนาวเย็นต่ำถึงปานกลาง ผลมีคุณภาพดีที่สุดและปริมาณการผลิตมากกว่าเกาลัดทุกสายพันธุ์ เกาลัดจีนเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญ มีประโยชน์ทั้งนำมาผลิตน้ำมัน สร้างที่อยู่อาศัย เพื่อความสวยงาม และที่สำคัญใช้เป็นอาหารซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ผลเกาลัดจีนมีปริมาณแป้งมากกว่าไขมัน (เสริมสกุล พจนการุณ และ เชวง แก้วรักษ์, 2546) ปัจจุบันประเทศไทยยังมีการปลูกเกาลัดจีนไม่แพร่หลาย จึงต้องมีการนำเข้าเมล็ดเกาลัดจีนจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและสหรัฐอเมริกา ปีละกว่า 100 ตัน (จำรอง ดาวเรือง, 2546) เมื่อนำเมล็ดสดมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์จึงมีราคาสูงถึง 300-400 บาทต่อกิโลกรัม การขยายพันธุ์เกาลัดจีนโดยวิธีธรรมชาติถ้าเกสรเพศผู้ผสมกับเกสรเพศเมียในต้นเดียวกัน จะทำให้รุ่นลูกออกมาเป็นหมัน (Self Sterile) จึงนิยมปลูกต้นเกาลัดจีน 2 ต้น ไว้ในบริเวณเดียวกัน หรือใช้วิธีการเสียบยอด (Grafting) แต่มักประสบปัญหาเนื่องจากปริมาณช่อดอกมีน้อยและยังไม่พร้อมที่จะผสมเกสร อีกทั้งผลของเกาลัดจีนเน่าเสียได้ง่าย เพราะมีความชื้นสูง (จำรอง ดาวเรือง, 2546) จึงเป็นอุปสรรคต่อการขยายพันธุ์เกาลัดจีน จึงจำเป็นที่จะต้องหาวิธีการที่เหมาะสมกับการขยายพันธุ์

มะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Corrêa) จัดอยู่ในวงศ์ Rutaceae (Umberto, 2000) เป็นไม้ยืนต้น สูง 10-15 ม. ใบประกอบแบบนิ้วมือ เรียงสลับ ใบย่อยรูปวงรีหรือรูปไข่แกมใบหอก

Mahasarakham University

กว้าง 2-7 ซม. ยาว 4-13 ซม. ขอบใบหยักมน ดอกช่อ ออกดอกที่ซอกใบและปลายกิ่ง กลีบดอกด้านนอกสีเขียวอ่อน ด้านในสีนวล ใบและดอกมีกลิ่นหอม ผลสด เนื้อในสีเหลือง (เสริมสิริ วินิจฉัยกุล และคณะ, 2541) มะตูมจะเจริญในสภาพป่าแล้งในคาบสมุทรอินเดีย ศรีลังกา ปากีสถาน และบังคลาเทศ แพร่กระจายพันธุ์มาสู่ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อินโดจีน โดยเฉพาะไทย ตอนเหนือของมาเลเซีย ชวาตะวันออก และตอนเหนือของเกาะซูลอน (พีรศักดิ์ วรสุนทโรสถ และคณะ, 2544)

ปัจจุบันจากการสำรวจโดยโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี พบว่าประชากรมะตูมในประเทศไทยเหลือจำนวนน้อย เนื่องจากการตัดไม้ทำลายป่า และมีการนำมะตูมมาใช้ประโยชน์อย่างต่อเนื่องทั้งด้านอุปโภค บริโภค และสมุนไพร ประกอบกับไม่มีการปลูกทดแทน ส่งผลให้มะตูมมีจำนวนลดลง (สุพินญา คำขจร, 2540) และการขยายพันธุ์มะตูมโดยธรรมชาติใช้วิธีการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ซึ่งใช้ระยะเวลาเพาะปลูกนาน และผลของมะตูมแตกและเน่าเสียได้ง่าย (พีรศักดิ์ วรสุนทโรสถ และคณะ, 2544) ส่วนการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยวิธีตอนกิ่งและปักชำยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร (สุพินญา คำขจร, 2540) จึงจำเป็นที่จะต้องมีการอนุรักษ์และหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์

ดังนั้นในการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมของต้นเกาลัดจีนและมะตูม จึงต้องหาวิธีการที่เหมาะสม จึงได้นำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture) ซึ่งเป็นหนึ่งในเทคโนโลยีชีวภาพที่มีศักยภาพในการขยายพันธุ์พืชให้ได้ปริมาณมากๆ ในระยะเวลาอันสั้น โดยปราศจากเชื้อจุลินทรีย์มาช่วยในการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมเกาลัดจีนและมะตูม แต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง จึงต้องมีการศึกษาสูตรอาหาร ฮอร์โมนพืช ตลอดจนวิธีการออกปลูก เพื่อสนองพระราชดำริ ในการอนุรักษ์และปกปักพันธุกรรมพืชของประเทศไทยให้ยั่งยืนสืบไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชที่เหมาะสม ในการชักนำใบและข้อของเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัส และเพิ่มจำนวนแคลลัส

1.2.2 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชที่เหมาะสม ในการชักนำ ราก ใบ ใบเลี้ยง ตาข้างลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดของมะตูมให้เกิดยอดและราก

1.2.3 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชที่เหมาะสม ในการชักนำยอดที่ได้จากลำต้นเหนือใบเลี้ยง ราก ใบเลี้ยง ตาข้างและปลายยอดของมะตูมให้เกิดราก

1.2.4 ศึกษาวัสดุที่ใช้ในการย้ายมะตูมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในเรือนเพาะชำ

Mahasarakham University

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 เก็บตัวอย่างเกาลัดจีนและมะตูม ณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ภูค้อ ตำบลนางิ้ว อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย

1.3.2 ศึกษาการชักนำใบอ่อนของเกาลัดจีนเพื่อให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมฮอร์โมน NAA (Naphthaleneacetic Acid) ร่วมกับ BA (Benzyladenine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

1.3.3 ศึกษาการเพิ่มจำนวนแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงข้อเกาลัดจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

1.3.4 ศึกษาชิ้นส่วนที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ของมะตูมในหลอดทดลองได้แก่ ราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล

1.3.5 ศึกษาการชักนำลำต้นเหนือใบเลี้ยงให้เกิดแคลลัสและยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

1.3.6 ศึกษาการชักนำตาข้างให้เกิดยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก/ล ร่วมกับ IAA 1 มก/ล

1.3.7 ศึกษาการชักนำยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยง และปลายยอดมะตูมให้เกิดรากบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

1.3.8 ศึกษาการย้ายต้นอ่อนมะตูมออกปลูกในเรือนเพาะชำในกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบ

1.4 สถานที่ทำการวิจัย

1.4.1 โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารี ภูค้อ ตำบลนางิ้ว อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย

1.4.2 ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (SC1-306) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม

Mahasarakham University

1.5 ระยะเวลาทำการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินงาน	พ.ศ. 2555-2558				
	ต.ค 55-มี.ค 56	เม.ย 56-ก.ย 56	ต.ค 56-มี.ค 57	เม.ย 57-ก.ย 57	ต.ค 57-พ.ค 58
1. ศึกษา ค้นคว้า หาข้อมูลและรวบรวมเอกสาร	←	—	—	—	→
2. เก็บตัวอย่างและทดลองในห้องปฏิบัติการ	←	—	—	→	
3. สรุปและวิเคราะห์ผลการทดลอง		←	—	→	
4. เขียนต้นฉบับเพื่อส่งตีพิมพ์				← →	
5. จัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์					← →

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ทราบชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชที่เหมาะสมในการชักนำใบและข้อของเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัสและเพิ่มจำนวนแคลลัส

1.6.2 ทราบชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชที่เหมาะสมในการชักนำราก ใบ ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดของมะตูมให้เกิดยอดและราก

1.6.4 ทราบชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชที่เหมาะสมในการชักนำยอดที่ได้จากราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดของมะตูมให้เกิดราก

1.6.5 ทราบชนิดวัสดุปลูกที่เหมาะสมในการนำต้นกล้ามะตูมในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ

Mahasarakham University

บทที่ 2

ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

2.1 โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)

1. ความเป็นมา

พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชมหาราช ทรงมีสายพระเนตรยาวไกล ทรงเห็นความสำคัญของการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช ในปี พ.ศ. 2503 ทรงอนุรักษ์ต้นยางนา ในปี พ.ศ. 2504 ทรงให้นำพรรณไม้จากทุกภูมิภาคมาปลูกไว้ในสวนจิตรลดา เพื่อเป็นแหล่งศึกษา และทรงมีโครงการพระราชดำริที่เกี่ยวกับการอนุรักษ์พัฒนาทรัพยากร พัฒนาแหล่งน้ำ การอนุรักษ์และพัฒนาดิน อนุรักษ์ทรัพยากรป่าไม้ เป็นการอนุรักษ์และพัฒนาทรัพยากรธรรมชาติ ต่อมาในปี พ.ศ. 2535 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ได้ทรงสืบทอดพระราชปณิธานต่อโดยมีพระราชดำริกับนายแก้วขวัญ วัชโรทัย เลขาธิการพระราชวังให้ดำเนินการอนุรักษ์พืชพรรณของประเทศโดยพระราชทานให้โครงการส่วนพระองค์ฯ สวนจิตรลดา ฝ่ายวิชาการ เป็นผู้ดำเนินการจัดตั้งธนาคารพืชพรรณขึ้น ในปี พ.ศ. 2536-2549 โดยรับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (กปร.) และเป็นหน่วยงานขึ้นตรงกับเลขาธิการพระราชวัง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539 และต่อมาในปี พ.ศ. 2550 สำนักพระราชวังดำเนินการจัดสรรงบประมาณและให้ อพ.สธ. ดำเนินการแยกจากโครงการส่วนพระองค์ฯ สวนจิตรลดา ตั้งแต่นั้นเป็นต้นมา

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

2.1 เพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมพืชและความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศโดยดำเนินการเป็นธนาคารพืชพรรณ

2.2 เพื่อนำพืชที่ได้สำรวจขึ้นทะเบียนรหัสต้นของพืชที่มีอยู่เดิมและหายากใกล้สูญพันธุ์เพื่อไปปลูกรักษาพันธุกรรมไว้ในพื้นที่ที่ปลอดภัย

2.3 เพื่อนำความรู้จากการศึกษาวิจัยพืชพรรณและความหลากหลายทางชีวภาพ การศึกษาทรัพยากรกายภาพ การสำรวจและบันทึกวัฒนธรรมและภูมิปัญญาของประเทศไทย เพื่อสร้างฐานองค์ความรู้ทางวิทยาการที่จะนำไปสู่การอนุรักษ์และพัฒนาอย่างยั่งยืนสู่เศรษฐกิจพอเพียง

2.4 เพื่อจัดทำศูนย์ข้อมูลพันธุกรรมพืชรวมทั้งทรัพยากรชีวภาพ ทรัพยากรกายภาพ ทรัพยากรวัฒนธรรมและภูมิปัญญา โดยเชื่อมโยงข้อมูลระหว่างหน่วยงานที่เข้าร่วมสนองพระราชดำริ เช่น ศูนย์ข้อมูลพรรณพฤกษชาติ หอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช กับศูนย์ข้อมูลพันธุกรรมพืช สวนจิตรลดา และข้อมูลเกี่ยวกับพันธุกรรมพืชของหน่วยงานต่าง ๆ สื่อถึงกันในระบบเดียวกัน (ปิยรัษฎ์ ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์, 2554)

Mahasarakham University

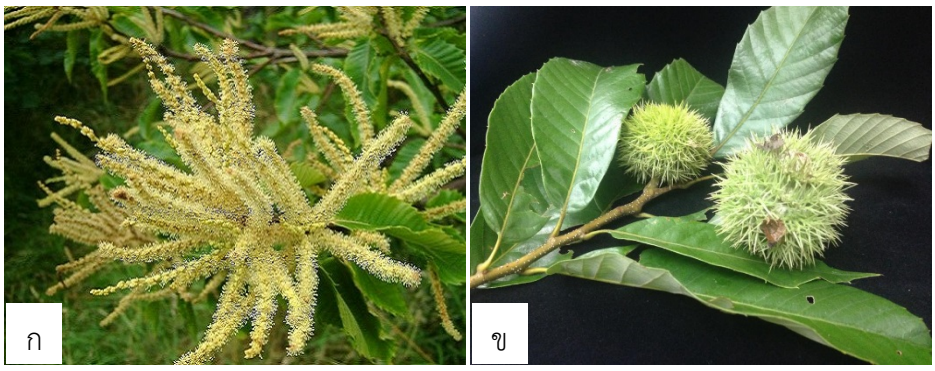
2.2 เกาลัดจีน

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เกาลัดจีนเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ก่อ (Fagaceae) ไม้ต้น ผลัดใบ สูงได้ถึง 120 ม. เปลือกสีดำหรือน้ำตาลปนดำ แตกเป็นร่องลึกตามยาวลำต้น กิ่งอ่อนมีขนสีเทานุ่ม กิ่งแก่เกลี้ยงและมีช่องอากาศกระจายอยู่ทั่วไป ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปรีแกมรูปขอบขนานหรือรูปขอบขนานแกมรูปใบหอก กว้าง 3.5-7.0 ซม. ยาว 10-22 ซม. ปลายเรียวแหลม โคนมนถึงป้าน ขอบจักฟันเลื่อย ปลายจักเป็นหนาม แผ่นใบด้านบนสีเขียว ด้านล่างสีนวลและมีขนสั้นๆ เส้นแขนงใบข้างละ 10-21 เส้น เส้นขั้นบันไดพอเห็นได้ทางด้านบน ก้านใบเรียว ยาว 1.0-2.5 ซม. มีขนประปราย หูใบรูปหอกปลายแหลม ยาวประมาณ 1 ซม. มีขนนุ่มสั้นๆ ทั้ง 2 ด้าน

ช่อดอกแบบช่อเชิงลด ตั้งตรง ออกเป็นช่อเดี่ยวๆ ตามง่ามใบตอนปลายกิ่งยาว 4-17 ซม. ดอกเพศผู้อยู่ตอนกลางหรือปลายช่อ ไม่มีกลีบดอก กลีบเลี้ยงโคนติดกัน ปลายแยกเป็น 6 แฉก มีขนสั้นสีน้ำตาลแดงทางด้านนอกและมีขนยาวด้านใน เกสรเพศผู้สีน้ำตาลอมเหลือง มี 10-12 อัน ก้านชูอับเรณูยาวเรียว ดอกเพศเมียอยู่ตามโคนช่อ ออกเป็นกระจุก กระจุกละ 2-3 ดอก มีเกล็ดแหลมแข็งหลายอันหุ้ม ต่อมาเจริญเป็นเปลือกผลหุ้ม ไม่มีกลีบดอก กลีบเลี้ยงโคนติดกันปลายแยกเป็น 6 แฉก และเชื่อมติดกับรังไข่ รังไข่อยู่ใต้วงกลีบ รูปรี มีขน มี 4-6 ช่อง แต่ละช่องมีออวุล 2 เมล็ด ผลแบบผลเปลือกแข็งเมล็ดเดียว มีกาบเป็นหนามแข็งหุ้ม เส้นผ่านศูนย์กลางรวมทั้งหนามยาว 8 ซม. หนามแยกเป็นง่าม 1-2 ง่าม เมื่อแก่จัดกาบเปลือกแตกออก เผยให้เห็นผล 1-3 ผล สีน้ำตาลเป็นมัน ถ้ามีผลเดียวรูปป้อมปลายแหลม ถ้ามี 2-3 ผล ผลแบนข้างเดียวหรือทั้ง 2 ข้าง ปลายผลมีก้านยอดเกสรเพศเมียติดอยู่ 1 เมล็ด เมล็ดเนื้อนุ่ม มีแป้งมาก (ภาพประกอบ 1)

เกาลัดจีนเป็นพรรณไม้เขตอบอุ่นเหนือ ขึ้นบนพื้นที่ระดับน้ำทะเลจนถึงสูงประมาณ 1,200 ม. นำเข้ามาปลูกในประเทศไทยตามที่สูงภาคเหนือ ออกดอกตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงกันยายน ผลแก่จัดในช่วงเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน ในต่างประเทศพบที่จีน เกาหลี อินเดียตอนเหนือและไต้หวัน เมล็ดทำให้สุกรับประทานได้ รสหวานมัน เป็นที่นิยม (จำลอง เพ็งคล้าย และคณะ, 2546)



ภาพประกอบ 2.1 เกาลัดจีน ก. ดอก ข.ผล

Mahasarakham University

2. การนำไปใช้ประโยชน์

2.1 ด้านอาหาร

เมล็ดของเกาลัดนิยมนำมาบริโภคเนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง อีกทั้งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากกว่าไขมัน จึงนิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลาย (ตาราง 2.1)

ตาราง 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของเกาลัดจีน (Paul, 2000)

รูปแบบการบริโภค	คุณค่าทางโภชนาการ (%)			
	น้ำ	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต
เมล็ดสด	44	4	1	49
เมล็ดแห้ง	9	7	2	80
ต้มเมล็ด	62	3	1	34
คั่วเมล็ด	40	4	1	52

2.2 ด้านสมุนไพร

สรรพคุณบำรุงร่างกาย บำรุงไต กล้ามเนื้อ ม้าม กระเพาะอาหาร บำรุงลม บรรเทาอาการไอ ละลายเสมหะ อาเจียน คลื่นไส้ ห้ามเลือด ช่วยระบบการไหลเวียนโลหิต บรรเทาอาการถ่ายเป็นเลือดและเลือดกำเดาไหล (ไทยรัฐออนไลน์, 2553)

2.3 มะตูม

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มะตูมเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ส้ม (Rutaceae) ไม้ต้น ผลัดใบ ขนาดเล็กถึงกลาง สูงประมาณ 6-13 ม. เรือนยอดกลม ลำต้นสั้นและแตกกิ่งก้านต่ำลู่ห้อยลงมา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น 25-50 ซม. เปลือกบริเวณใกล้โคนต้นและตามกิ่งก้านมีหนามแข็งออกเดี่ยวหรือเป็นคู่ยาว 1-2 ซม. เปลือกต้นสีน้ำตาลอ่อนหรือเทาอมขาวแตกเป็นร่องตื้นและหลุดลอกออกเป็นแผ่นห้อยลงมา เปลือกชั้นในสีน้ำตาลหรือสีส้ม มีน้ำยางเป็นเมือกใส ใบประกอบแบบขนนกปลายคี่ เรียงสลับ ยาว 10-20 ซม. มีใบย่อย 3 ใบเรียงตรงข้าม ใบเดี่ยวตรงปลายมีขนาดใหญ่ที่สุด ปลายใบแหลม โคนใบสอบมน ขอบใบเรียบหรือหยักมนเล็กน้อย ใบอ่อนสีเขียวอ่อนออกชมพู ใบแก่สีเขียวเข้ม เกลี้ยงและเป็นมัน มีกลิ่นฉุน ดอกออกเป็นช่อแบบช่อแยกแขนง ออกตามซอกใบใกล้ปลายกิ่ง สีเขียวอ่อนหรือเหลือง กลิ่นหอม กลีบเลี้ยงมี 4-5 กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ เกสรเพศผู้จำนวนมาก รังไข่สีเขียว มองเห็นชัดเจน ดอกบานเต็มที่ 1.5-2.0 ซม. ผลสดกลมหรือกลมรี เกลี้ยง เปลือกแข็งหนา ภายในมี 8-15 ช่อง มีเนื้อสีส้มและเป็นยางเหนียว แต่ละช่องมี 6-10 เมล็ด รูปรีและแบน มีเส้นใยคล้ายขนปกคลุม (พยัคฆ์ มณีอเนกคุณ และคณะ, 2548) (ภาพประกอบ 2) มะตูมเป็นไม้ที่มีลักษณะทนทาน ขึ้นอยู่ในสภาพพื้นที่กันดาร รวมถึงมีอุณหภูมิต่ำหรือสูงจัด เช่นในพื้นที่ราบที่มีอุณหภูมิลดลงถึง –7°C ในฤดูหนาว และสูงถึง 49°C ในฤดูร้อน พบในป่า

Mahasarakham University

เบญจพรรณและชายป่าเปิดในพื้นที่แห้ง ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 50-700 ม. (พีรศักดิ์ วรสุนทรโรสถ และคณะ, 2554)

ภาพประกอบ 2.2 มะตูม ก. ดอก ข. ผล (อุทยานธรรมชาติวิทยาสิรีรุกขชาติ, 2553)

2. การนำไปใช้ประโยชน์

2.1 ด้านอาหาร

ผลสุกรับประทานได้หรือแปรรูปเป็นเครื่องดื่มหรือไอศครีมรสผลไม้ น้ำหวาน แยม ผิวส้ม เมล็ดในผลดิบใช้เป็นกาว (พีรศักดิ์ วรสุนทรโรสถ และคณะ, 2554) ยอดอ่อนมะตูมนิยมรับประทานเป็นผักสด ผลอ่อนหั่นเป็นชิ้น ตากแดด สามารถนำมาต้มเป็นน้ำมะตูมได้ ผลแก่นำมาเชื่อมเป็นของหวาน (สุทธิรา ขุมกระโทก และคณะ, 2548)

2.2 ด้านยาสมุนไพร

ราก รักษาพิษฝี พิษไข้ สติเผลอ น้ำดี หืดหอบ ไอ ตัวร้อน ลมอัดแน่นในอก เสมหะ ปวดหัวและขับปัสสาวะ เปลือกราก รักษาไข้จับสั่น ขับลมในลำไส้ เปลือกลำต้น รักษาไข้จับสั่น ขับลมในลำไส้ และรักษาบิด แก่นไม้ แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ จุกเสียด ใบ รักษาเยื่อตาอักเสบ หลอดลมอักเสบ ไข้หวัด หอบ หืดและบำรุงธาตุ ผล ขับลม ขับเสมหะ แก้กระหายน้ำ บำรุงธาตุไฟ รักษาโรคกระเพาะ รักษาโรคลำไส้ และสมานแผล หนาม แก้พิษฝี แก้ไข้ ถ้าผสมทั้งหมดจะช่วยลดความดันโลหิตสูงและเจริญอาหาร (เสริมสิริ วินิจฉัยกุล และคณะ, 2541)

2.3 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ ฆ่าพยาธิ ฆ่าแมลง ยับยั้งการเคลื่อนไหวของลำไส้ ยับยั้งการหดเกร็งของลำไส้ คลายกล้ามเนื้อเรียบ ต้านฮีสตามีน ลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยเพิ่มปริมาณอินซูลิน ลดระดับไขมันในเลือด ลดความดันโลหิต รักษาแผลในกระเพาะอาหาร เร่งการสมานแผลและในการทดสอบความเป็นพิษพบว่า เมื่อฉีดสารสกัดผลหรือรากด้วย 50% เอทานอลเข้าช่องท้องหนูขนาดสูงสุดที่สัตว์ทนได้คือ 1 กรัม สารสกัดใบจากเอทานอล 50% เมื่อฉีดเข้าใต้ผิวหนังหรือให้รับประทานขนาด 10 กรัม ไม่พบความเป็นพิษ แต่ถ้าสกัดสารจากผลด้วยน้ำเมื่อฉีดเข้าใต้ผิวหนังหรือให้รับประทานขนาด 10 กรัม พบว่าสัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 และถ้านำผลของมะตูมผสมอาหารในอัตราส่วนร้อยละ 25 และให้หนูรับประทานเป็นเวลา 10 วัน พบว่าจะเกิดพิษต่อตับและไต (เสริมสิริ วินิจฉัยกุล และคณะ, 2541)

Mahasarakham University

2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เริ่มจากการที่ Gottieb Haberlandt (1902) นักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมันได้ทำการแยกเซลล์พืชมาเลี้ยงเพื่อศึกษาคุณสมบัติของเซลล์ แต่ประสบความสำเร็จเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ในปี ค.ศ. 1930 ได้มีการพัฒนาการเลี้ยงเซลล์ที่แยกมาจากรากของพืชหลายชนิด โดยเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ต่อมาในปี ค.ศ. 1938 สามารถเพาะเลี้ยงอวัยวะ (organ) และแคลลัส (callus) ของพืชได้หลายชนิดและนับแต่นั้นเป็นต้นมา เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีการพัฒนาไปอย่างกว้างขวางและมีการค้นพบเทคนิคใหม่ ปัจจุบันนี้สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์เดี่ยวและโปรโทพลาสต์ (protoplast) ของพืชได้หลายชนิดรวมทั้งการใช้เทคนิคทางชีวภาพ เช่น การตัดต่อยีน การถ่ายยีนเข้ามาร่วมด้วยเพื่อสร้างพืชสายพันธุ์ใหม่ (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2536)

อรดี สหวัชรินทร์ (2539) ได้ให้ความหมายของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึง การนำเอาชิ้นส่วนใดชิ้นส่วนหนึ่งของพืช ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์หรือเซลล์ที่ไม่มีผนังเซลล์ที่เรียกว่าโปรโทพลาสต์มาเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์และอยู่ในสภาวะควบคุมสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ แสง ซึ่งชิ้นส่วนของพืชจะมีการเจริญเติบโตและพัฒนาไปในรูปแบบต่างๆ เช่น เกิดเป็นยอด ราก เอ็มบริโอ หรือเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า "แคลลัส" ที่สามารถชักนำให้เกิดเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์จำนวนมากได้

2.5 หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

หลักการที่สำคัญของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือต้องใช้เทคนิคปลอดเชื้อ ตัดเอาชิ้นส่วนของพืชที่สะอาด นำมาเลี้ยงในขวดแก้วที่บรรจุอาหารวิทยาศาสตร์ ซึ่งได้ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว เมื่อเซลล์จากชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชที่นำมาเลี้ยงได้รับแร่ธาตุ วิตามิน สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและน้ำตาลจากอาหารวิทยาศาสตร์ที่ใช้เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ จะมีการเจริญเติบโตเป็นต้นโดยตรงหรือเป็นกลุ่มของเซลล์ที่เรียกว่าแคลลัสหรือเกิดเป็นคัพภะที่เรียกว่าโซมาติกเอ็มบริโอและเมื่อตัดออกมาเป็นชิ้นแล้วเปลี่ยนอาหาร สามารถเพิ่มปริมาณได้ไม่มีที่สิ้นสุด ผลสุดท้ายจะได้ต้นที่มีลักษณะเหมือนกันทุกประการเป็นจำนวนมาก เหมาะที่จะนำไปใช้ขยายพันธุ์ ไม้ดอก ไม้ประดับ ผัก ไม้ผล พืชไร่ รวมทั้งสมุนไพรเป็นต้น (อรดี สหวัชรินทร์, 2539)

2.6 ธาตุอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิดด้วยกันโดยมีชื่อสูตรอาหารตามชื่อนักวิทยาศาสตร์ที่คิดค้นสูตรนั้นขึ้นมา เช่น สูตรอาหารของ Murashige และ Skoog เป็นต้น ในแต่ละสูตรมีส่วนประกอบและปริมาณของธาตุอาหารที่แตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นกับความเหมาะสมต่อชนิดของพืช สายพันธุ์ ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืช (Explants) ที่จะนำมาเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตามที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุดคืออาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส ซึ่งเป็น

Mahasarakham University

กลุ่มของเซลล์ที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนา (Differentiated) มีช่องว่างในเซลล์จำนวนมาก (Highly Vacuolated) และเซลล์ยังไม่มีการจัดรูปร่างที่แน่นอน (unorganized) ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัส (Callus Culture) และเซลล์แขวนลอย (Cell Suspension Culture) ของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากชิ้นส่วนของพืช แคลลัสเหล่านี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารกึ่งแข็ง (Semi-solid Medium) ที่อย่างน้อยที่สุดประกอบด้วยเกลือของธาตุอาหารที่ต้องการครบคือ สารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic Substances) และสารประกอบอินทรีย์ (Organic Substances) ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง

แม้พืชทั้งต้นจะมีความต้องการขั้นพื้นฐานในการเจริญเติบโตไม่ซับซ้อนมากนักก็ตาม แต่การนำชิ้นส่วนของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์นั้น มีความต้องการธาตุอาหารและสารที่จำเป็นที่มีความซับซ้อนมากกว่า กล่าวคือต้องการทั้งมหธาตุ (Macro Elements/nutrients) และจุลธาตุ (Micro Elements/Nutrients) ที่ใช้ตามปกติที่เลี้ยงพืชในสารละลาย (hydroponic culture) นอกจากนั้นยังต้องการธาตุอาหารอีกหลายชนิด เช่น แหล่งของธาตุคาร์บอนและวิตามิน ปกติแล้วเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชที่แยกมาเลี้ยงจะต้องการวิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโต (Growth Regulators) ซึ่งปกติสังเคราะห์ได้เองจากส่วนหนึ่งส่วนใดของต้น เพื่อไปสะสมยังบริเวณอื่นของต้นพืช แล้วเคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่นๆ เพื่อใช้ในกระบวนการเมแทโบลิซึม (Metabolism) อย่างไรก็ตามผลของแต่ละสารประกอบที่จำเป็นนี้ยังไม่ทราบแน่ชัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารทุติยภูมิที่ได้จากกระบวนการเมแทโบลิซึม (Secondary Matabolism) เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารที่ใช้มักถูกดัดแปลงไปตามความมุ่งหมาย เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงพัฒนาเพื่อกำเนิดอวัยวะ (Organogenesis) หรือการกำเนิดเอ็มบริโอ (Embryogenesis) จึงทำให้ยากต่อการหาข้อสรุปพื้นฐานที่สอดคล้องไปในทางเดียวกันได้โดยง่าย อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปแล้วสามารถจำแนกสารเหล่านี้เป็นกลุ่มได้ดังนี้

1. ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์ (Inorganic Substances) ประกอบด้วย

1.1 ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณมาก (Macro Elements/Nutrients) ได้แก่ คาร์บอน (Carbon, C) ไฮโดรเจน (Hydrogen, H) ออกซิเจน (Oxygen, O) ไนโตรเจน (Nitrogen, N) ฟอสฟอรัส (Phosphorus, P) โพแทสเซียม (Potassium, K) แคลเซียม (Calcium, Ca) แมกนีเซียม (Magnesium, Mg) และ กำมะถัน (Sulfur, S)

1.2 ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณน้อย (micro elements/nutrients) ได้แก่ เหล็ก (Iron, Fe), แมงกานีส (Manganese, Mn), ทองแดง (Copper, Cu), สังกะสี (Zinc, Zn), โบรอน (Boron, B), คลอรีน (Chlorine, Cl) และ โมลิบดีนัม (Molybdenum, Mo)

2. ธาตุอาหารพวกอินทรีย์ (organic substances) ประกอบด้วย

2.1 วิตามิน (vitamin) ที่ใช้กันมากได้แก่ thiamine, nicotinic acid, pyridoxine, inosital, biotin, panthothenic acid, folic acid, choline chloride, riboflavin และ ascorbic acid

2.2 ฮอร์โมนและสารควบคุมการเจริญเติบโต (plant hormones และ plant growth regulators) ได้แก่

Mahasarakham University

2.2.1 สารในกลุ่มออกซิน (auxins) เช่น Indole-3-acetic acid (IAA), Indole butyric acid (IBA), Naphthaleneacetic acid (NAA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) เป็นต้น

2.2.2 สารในกลุ่มไซโตนิน (cytokinins) เช่น N_6-Benzyladenine (BA), Kinetin, Zeatin, N_6-Isopentenyl adenine (2iP), Thidiazuron (TDZ) เป็นต้น

2.2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆ เช่น Giberellic acid (GA_3), Paclobutrazol, Abscissic acid (ABA), Daminozide และ Picloram

2.3 สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (Cabon Sources) ได้แก่ สารประกอบพวกน้ำตาลต่างๆ เช่น กลูโครส (Glucrose) ซูโครส (Sucrose) ฟรุคโตส (Fructose) และแมนนิทอล (Mannitol)

2.4 กรดอะมิโน (Amino Acid) ได้แก่ กลูตามีน (Glutamine) แอสพาราจีน (Asparagines) อะดีนีน (Adenine) ไกลซีน (Glycine) และเคซีน ไฮโดรไลเซต (Casein Hydrolysate)

2.5 สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว (Coconut Water) สารสกัดจากยีสต์ (Yeast Extract) น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำคั้นมะเขือเทศ (Tomato Juice) กล้วยหอมบด (Banana) และมอลต์สกัด (Malt Extract) (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ, 2541)

2.7 รูปแบบการเจริญของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง

ชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงมีการเจริญได้ 3 แบบใหญ่ ๆ คือ

1. เกิดแคลลัส (Caulogenesis) แคลลัส คือ กลุ่มเซลล์พาเรงคิมา (Parenchyma) ที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นรากหรือลำต้น อาจอยู่กันหลวมๆ หรือเกาะกันแน่น มีได้หลายสี เช่น ขาว เหลือง ม่วง แดง เขียว โดยขึ้นกับรงค์วัตถุต่างๆ ภายในเซลล์ จากแคลลัสเจริญไปเป็นลำต้นได้โดยการเปลี่ยนสัดส่วนความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนินให้เหมาะสม ต้นที่เจริญมาจากแคลลัสนี้มีจุดกำเนิด 2 แบบ คือ เจริญจากเซลล์เพียงเซลล์เดียว โดยที่หนึ่งเซลล์นั้นมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นส่วนต่างๆ เช่น ราก ลำต้น ใบ หรือเจริญมาจากกลุ่มเซลล์ข้างเคียงกัน โดยที่กลุ่มเซลล์เหล่านั้นมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นส่วนต่างๆ แล้วเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์

2. เกิดออร์แกโนเจเนซีส (Organogenesis) คือ การเกิดยอด ราก หรืออวัยวะที่เจริญเติบโต เป็นต้นใหม่โดยสมบูรณ์

3. เกิดเอ็มบริโอเจเนซีส (Embryogenesis) กลายเป็นเอ็มบริออยด์ (Embryoid) เอ็มบริออยด์มีความหมายเหมือนกับเอ็มบริโอ มีพัฒนาการเหมือนเอ็มบริโอแต่ต่างกันตรงจุดกำเนิด กล่าวคือ เอ็มบริโอได้จากการที่ละอองเรณู (Pollen Grain) เข้าผสมกับออวุล (Ovule) ได้เป็นไซโกต (Zygote) แล้วเจริญเป็นเอ็มบริโอ หลังจากนั้นเอ็มบริโอจะมีการพัฒนาเป็นขั้นตอนต่างๆ ดังนี้คือ จากเอ็มบริโอเป็นรูปกลม รูปหัวใจ รูปทอร์ปิโดและต้นกล้า ตามลำดับ แต่เอ็มบริออยด์นั้นมีจุดกำเนิดจากเซลล์ร่างกาย ไม่ได้เกิดจากการผสมเกสร (คำนูณ กาญจนภูมิ, 2542)

Mahasarakham University

2.8 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีบทบาทอย่างมากทั้งในด้านวิทยาศาสตร์พื้นฐาน เกษตรกรรม การแพทย์และอุตสาหกรรม ซึ่งจำแนกได้อย่างกว้างๆ ดังนี้

1. การขยายพันธุ์พืชปริมาณมากและในระยะเวลาอันสั้น โดยอาศัยสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อพืชแต่ละชนิดสามารถเพิ่มจำนวนต้นพืชเป็นทวีคูณ จากตัวอย่างการเลี้ยงพืชเพียงต้นเดียวและย้ายเนื้อเยื่อเดือนละครั้ง หากสามารถเพิ่มจำนวนได้เป็น 10 ต้นแล้ว ในระยะเวลาเพียง 6 เดือน จะสามารถผลิตต้นพืชได้ถึง 1,000,000 ต้น (1×10^6)

2. การผลิตพืชที่ปราศจากโรค ปัญหาสำคัญประการหนึ่งในการผลิตพืชคือ การเกิดโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไมโคพลาสมา ที่ติดมากับเมล็ดหรือส่วนขยายพันธุ์ต่างๆ ต้นพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อโรคเหล่านี้หากไม่แสดงอาการให้เห็นและทราบได้ต่อเมื่อเกิดอาการเป็นโรคบนต้นพืชที่ปลูกไปแล้ว เมื่อถึงเวลานั้นก็ยากที่จะแก้ไขหรือป้องกันกำจัด นอกจากกำจัดหรือทำลายพืชนั้นทิ้งไป การใช้สารเคมีคลุมเมล็ดหรือส่วนขยายพันธุ์ก่อนปลูก แม้จะช่วยลดปริมาณเชื้อที่อาจติดมากับผิวของวัสดุปลูกได้ แต่ไม่อาจใช้ได้ผลดีในกรณีการปนเปื้อนของเชื้อโรคที่ติดมาภายในเซลล์พืชได้ การผลิตพืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะให้ต้นพืชที่ปราศจากโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับเชื้อราและแบคทีเรีย เพราะหากมีเชื้อเหล่านี้แล้วจะแสดงอาการปนเปื้อน ในอาหารที่ใช้เลี้ยงทันที เนื่องจากแบคทีเรียและราเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในอาหารที่ใช้เลี้ยง ทำให้สามารถขจัดทิ้งได้ ส่วนในกรณีเชื้อไวรัสซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กมากและดำรงชีวิตอยู่ในเซลล์พืช จึงมักไม่แสดงอาการปนเปื้อนให้เห็นแม้โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชก็ตาม ในทางปฏิบัติจะต้องคัดเลือกและตรวจสอบเนื้อเยื่อก่อนการเลี้ยงจนแน่ใจว่าปลอดจากเชื้อไวรัส ชิ้นส่วนที่ปลอดจากเชื้อไวรัสมากที่สุดคือ เนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอด (Apical Meristem) และเนื้อเยื่อเจริญของคัพภะ (Embryonic Tissue) ที่อยู่ในเมล็ด เนื่องจากเนื้อเยื่อดังกล่าวไม่มีส่วนของเนื้อเยื่อท่อลำเลียง (Vascular Tissue) ซึ่งได้แก่ ไซเล็ม (Xylem) และโฟลเอ็ม (Phloem) ที่ติดต่อกับส่วนอื่นๆ ของต้นพืชที่เชื้อไวรัสจะสามารถเคลื่อนย้ายมาปนเปื้อนได้

3. การปรับปรุงพันธุ์พืช ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนทาน (tolerant plant) หรือสายพันธุ์ที่ต้านทาน (Resistant Plant) ได้จากการจัดเงื่อนไขของอาหารและสภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยงหรือชักนำการกลายพันธุ์ (Induced Mutation) โดยใช้รังสีหรือสารเคมี เช่น การคัดเลือกสายพันธุ์พืชทนเค็มจากการเลี้ยงเซลล์หรือเนื้อเยื่อในอาหารที่มีส่วนผสมของเกลือ การคัดเลือกสายพันธุ์ทนดินเปรี้ยวจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสภาพเป็นกรด การคัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อนโดยเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิสูง การสร้างสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อสารพิษของโรค แมลง และสารเคมีกำจัดวัชพืช นอกจากนั้นจากความก้าวหน้าของเทคโนโลยีการตัดต่อดีเอ็นเอ (DNA Recombination) และการส่งถ่ายยีน (Gene Transformation) ยังเปิดโอกาสให้ใช้ประโยชน์ในการสร้างพืชสายพันธุ์ใหม่ (transgenic plant) ที่ต้องการในพืชบางชนิด

4. การผลิตยาและสารเคมีจากพืช พืชบางชนิดให้สารที่มีคุณสมบัติเป็นยาหรือสารเคมีที่มีประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรม แต่ในบางกรณีเนื้อเยื่อที่นำมาสกัดสารดังกล่าวมีปริมาณน้อยมาก

Mahasarakham University

จึงต้องใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวน และชักนำให้มีการสังเคราะห์สารที่ต้องการในปริมาณมากขึ้น

5. การศึกษาทางชีวเคมี สรีรวิทยา และพันธุศาสตร์ พืชที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สามารถติดตามการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงในด้านเหล่านี้ได้ง่าย ชัดเจน และถูกต้องแม่นยำทั้งในระดับเซลล์ เนื้อเยื่อ อวัยวะ และพืชทั้งต้น เช่น การศึกษาการตอบสนองของเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืช สารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืช สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชที่เกิดการกลายพันธุ์ เป็นต้น เนื่องจากการควบคุมตัวแปรต่างๆ ทำได้ดีกว่าในสภาพการปลูกปกติ

6. การเก็บรักษาพันธุ์พืช ในปัจจุบันพืชพรรณหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุ์พืชที่หายากและมีคุณค่าทางประวัติศาสตร์หลายชนิดได้สูญพันธุ์ไปหรือกำลังจะสูญพันธุ์ไปในไม่ช้า สาเหตุสำคัญอาจมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม หรือเกิดจากการกระทำของมนุษย์เอง นอกจากนั้นพืชบางชนิดยังยากที่จะขยายพันธุ์หรือเก็บรักษาพันธุ์ได้โดยวิธีปกติ ซึ่งอาจต้องใช้ระยะเวลาที่นานและไม่คุ้มค่า นักเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงได้คิดค้นวิธีเก็บรักษาพืชพรรณต่างๆ ไว้ในสภาพหลอดทดลองโดยเลี้ยงไว้ในอาหารที่มีส่วนผสมของสารบางชนิดที่มีผลต่อการชะลอการเจริญเติบโตหรือมีสารที่ทำให้เกิดสภาพขาดน้ำ (Water Stress) เพื่อชักนำให้พืชมีการเจริญเติบโตในอัตราที่ช้ามากๆ เป็นการประหยัดเวลาแรงงาน ค่าใช้จ่าย และสามารถคงสภาพและมีชีวิตได้ยาวนาน เนื่องจากไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนอาหารบ่อยครั้งเช่นปกติ อีกหนึ่งวิธีที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายคือเก็บรักษาเซลล์หรือเนื้อเยื่อในไนโตรเจนเหลวที่มีอุณหภูมิต่ำถึง -196°C เมื่อต้องการปลูกหรือเพิ่มปริมาณสามารถนำมาเลี้ยงในสูตรอาหารปกติของพืชชนิดนั้นๆ (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ, 2541)

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกาลัดจีน

Shigeru และคณะ (1989) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกาลัดญี่ปุ่น (*Castanea Crenata* Sieb and Zucc) โดยนำเมล็ดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม Kinetin, BA และ 2iP เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 25.0 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 100% และมีจำนวนยอดมากที่สุด 3.8 ยอด/เมล็ด จากนั้นนำตาข้างไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 1 ไมโครโมล ร่วมกับ IBA 0.025 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด

Rod และคณะ (1990) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกาลัดอเมริกา (*Castanea dentate* Borkh) โดยนำชิ้นส่วนของยอดที่ได้จากการเพาะเมล็ดขนาด 4-7 ซม. ตัดแบ่งเป็น 2-3 ชิ้น นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร Woody Plant Medium (WPM, Lloyd and McCown, 1980) ที่เติม NAA 0.54 ไมโครโมล ร่วมกับ BA 1.3 ไมโครโมล และน้ำตาลซูโครส 2% เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่ายอดมีขนาดยาวขึ้นประมาณ 6 ซม. จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM หรือ ½WPM ที่เติม BAP ร่วมกับ

Mahasarakham University

น้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร ½WPM สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 80% ในขณะที่อาหารที่เติม IBA 369 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 93.3% และน้ำตาลซูโครส 4% สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 80%

Carraway และ Merkle (1997) นำชิ้นส่วนของออวุล เมล็ดและใบเลี้ยงของเกาลัดอเมริกามาเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร WPM ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารเหลวสูตร WPM ที่เติม 2,4-D 3.0 มก/ล ร่วมกับ BA 0.25 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอได้ดีที่สุด

Corredoira และคณะ (2003) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกาลัดยุโรป (*Castanea sativa* Mill) โดยนำชิ้นส่วนของใบมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 1 มก/ล เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอ จากนั้นนำโซมาติกเอ็มบริโอที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอทุติยภูมิและแคลลัสได้ดีที่สุด 63.3% จากนั้นนำโซมาติกเอ็มบริโอไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสและน้ำตาลมอลโทสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลมอลโทส 6% สามารถชักนำโซมาติกเอ็มบริโอให้เกิดรากและยอดได้ดีที่สุด ความยาวยอดเฉลี่ย 8.8 มม. และความยาวรากเฉลี่ย 19.8 มม.

Sauer และ Wilhelm (2005) นำชิ้นส่วนของรังไข่ ออวุลและไซโกตของเกาลัดยุโรปมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร P24 (Teasdale, 1992) ที่เติม 2,4-D 5 ไมโครโมล ร่วมกับ BA 0.5 ไมโครโมล เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร P24 ที่เติม BA 0.89 ไมโครโมล เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าสามารถชักนำรังไข่ ออวุลและไซโกตให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอได้ 19.1%, 7.8% และ 57.1% ตามลำดับ จากนั้นนำโซมาติกเอ็มบริโอไปเลี้ยงบนอาหารสูตร P24 ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เมื่อโซมาติกเอ็มบริโอเจริญเติบโตเต็มที่ มีรากและยอดที่สมบูรณ์ จึงนำไปปรับสภาพและออกปลูกในโรงเรือน

Zhang และคณะ (2007) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออวุลของเกาลัดจีน พบว่าอาหารสูตร WPM ที่เติม 2,4-D 6.0 มก/ล ร่วมกับ BA 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอได้ดีที่สุด และอาหารสูตร WPM ที่เติม 2,4-D 4 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด

Liu และคณะ (2008) นำชิ้นส่วนของใบอ่อนและลำต้นอ่อนของเกาลัดจีน มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.2 มก/ล สามารถชักนำใบอ่อนและลำต้นอ่อนให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด และลำต้นอ่อนสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี 65% เมื่อเทียบกับใบอ่อน

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม

สุพินญา คำขจร (2540) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม โดยนำชิ้นส่วนของตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลองพบว่าสารละลายคลอรอกซ์ 10% ฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 10 นาที และตามด้วยคลอรอกซ์ 5% ฟอกฆ่าเชื้อนาน 5 นาที ตาข้างสามารถรอดจากการทำลายของคลอรอกซ์และแตกยอดได้ 50% จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหาร

Mahasarakham University

สูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 7.8 ยอด/ข้อ ความยาวยอดเฉลี่ย 1.2 ซม. จากนั้นนำยอดที่ได้ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก/ล สามารถเกิดยอดได้ดีที่สุด 14.2 ยอด/ยอด ความยาวยอดเฉลี่ย 1.75 ซม. จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด จำนวนรากเฉลี่ย 4.2 ราก/ยอด และความยาวยอดเฉลี่ย 3.07 ซม. จากนั้นนำต้นมะตูมออกปลูกในกระถางโดยคลุมถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้นในระยะเวลาที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่าต้นมะตูมที่คลุมด้วยถุงพลาสติก 4 สัปดาห์ มีโอกาสในการรอดชีวิตสูงสุด 70%

วิภารัตน์ รัตนะ (2542) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม โดยนำเมล็ดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เมื่อต้นกล้าอายุได้ 30 วัน นำชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าได้แก่ ยอด ลำต้น ใบเลี้ยงและรากมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อหาอวัยวะที่เหมาะสมในการเกิดยอด จากผลการทดลองพบว่า ใบเลี้ยงที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 28.75 ยอด จากนั้นนำยอดที่ได้จากใบเลี้ยงนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 20.5 ยอด/ยอด จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก/ล ร่วมกับ IBA 1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 85%

Hossain และคณะ (1993) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนของนิวเซลลัส (nucellus) มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, NAA และ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4.4 ไมโครโมล ร่วมกับ NAA 2.7 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 34.7% และจำนวนยอดเฉลี่ย 29 ยอด/นิวเซลลัส จากนั้นนำไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.44 ไมโครโมล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้ยอดมีความยาวเพิ่มขึ้น จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 4.9 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด

Hossain และคณะ (1994) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม โดยนำชิ้นส่วนของนิวเซลัสมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 40 ก/ล และเคซีน ไฮโดรไลเซต 400 มก/ล ร่วมกับ IAA, NAA และ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 40 ก/ล และเคซีน ไฮโดรไลเซต 400 มก/ล ร่วมกับ NAA 5 มก/ล และ Kinetin 1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 95.2% จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, NAA และ GA_3 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก/ล NAA 0.1 มก/ล และ GA_3 1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 93% จำนวนยอดเฉลี่ย 38.7 ยอด/แคลลัส และความยาวยอดเฉลี่ย 6.8 ซม. จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 0.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด

Mahasarakham University

Prematilake และคณะ (2006) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนต่างๆ ของมะตูมได้แก่ ใบเลี้ยง ใบอ่อน ลำต้นใต้ใบเลี้ยงและราก มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin, NAA, BAP, IAA และ Zeatin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะไม่มีแสงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าใบเลี้ยงที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 90% จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชเป็นเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดยอดแล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1.0 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 30%

Pranati และ Behera (2007) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม โดยนำชิ้นส่วนใบเลี้ยงมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, Kinetin และ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 6.6 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA 1.14 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 86.6% จำนวนยอดเฉลี่ย 487.5 ยอด จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IAA, NAA และ IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 14.7 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 70% จำนวนรากโดยเฉลี่ย 1.8 ราก/ยอด ความยาวรากโดยเฉลี่ย 2.0 ซม. จากนั้นนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดไปปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำ ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่าต้นกล้าที่ปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วน 1:1:1 ตามลำดับ สามารถทำให้ต้นกล้ามะตูมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตได้ดีที่สุด 80.00%

Rajesh และคณะ (2008) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนของตาข้างมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP, Kinetin ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 8.84 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA 5.7 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด จำนวนยอดเฉลี่ย 9.67 ยอด/ข้อ ความยาวยอดเฉลี่ย 3.1 ซม. จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ ½MS ที่เติม IBA ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน พบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 49.0 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA 5.7 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 100% จำนวนรากเฉลี่ย 2.33 ราก/ยอด ความยาวยอดเฉลี่ย 4.07 ซม. และเส้นผ่าศูนย์กลางของรากเฉลี่ย 1.88 มม.

Hazeena และ Sulekha (2008) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม โดยนำชิ้นส่วนของใบเลี้ยงมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, 2,4-D และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.2 ไมโครโมล ร่วมกับ 2,4-D 2.26 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 100% น้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ย 3.5 กรัม จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, 2,4-D, NAA, IAA และ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 8.8 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA 2.85 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 100% จำนวนยอดเฉลี่ย 41.17 ยอด/แคลลัส ความยาวยอดเฉลี่ย 2.45 ซม. จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA, IAA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหาร

Mahasarakham University

สูตร MS ที่เติม IBA 12.3 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 67% จำนวนรากเฉลี่ย 3.3 ราก/ยอด ความยาวรากเฉลี่ย 1.16 ซม.

Kuldeep และ Narender (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนของปล้องมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP, Kinetin, 2,4-D, IAA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.0 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 80% จำนวนยอดเฉลี่ย 8 ยอด/ปล้อง ความยาวยอดเฉลี่ย 4.2 ซม. และสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 80% จากนั้นนำแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.0 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 80% จำนวนยอดเฉลี่ย 8.0 ยอด/แคลลัส และความยาวยอดเฉลี่ย 5.4 ซม. จากนั้นนำยอดที่ได้จากแคลลัสและยอดที่ได้จากปล้องมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ ½MS ที่เติม IBA, NAA และ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติม IAA 1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 60%

Puspashree และ Shiba (2012) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนของตาข้างมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 86.6% จำนวนยอดเฉลี่ย 10 ยอด/ตา ความยาวยอดเฉลี่ย 0.87 ซม. จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ Kinetin และ GA_3 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ Kinetin 0.1 มก/ล และ GA_3 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้ยอดมีความยาวเพิ่มขึ้นได้ดีที่สุด 87% ความยาวยอดเฉลี่ย 2.8 ซม. และจำนวนยอดเฉลี่ย 2.67 ยอด/ยอด จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA ร่วมกับผงถ่าน (activated charcoal) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 2.5 มก/ล ร่วมกับถ่าน 0.5% สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 31.1% ความยาวรากเฉลี่ย 1.4 ซม.

Mahasarakham University

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ในการวิจัย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้องทำงานในห้องปฏิบัติการ จึงควรมีการออกแบบห้องปฏิบัติการให้เป็นสัดส่วน ดังนั้นอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ควรจัดให้อยู่ในบริเวณที่เหมาะสมและสะดวกในการใช้งาน

1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
   - 1.1 เตาอบความร้อน (Hot Air Oven)
   - 1.2 แท่งแม่เหล็ก (Magnetic)
   - 1.3 อะลูมิเนียมฟลอยด์ (Aluminium Foil)
   - 1.4 ผ้าสะอาด
   - 1.5 เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน (Hot Plate and Magnetic Stirrer)
   - 1.6 ตู้เย็น (Refrigerator)
   - 1.7 เครื่องชั่ง (Balance)
   - 1.8 ขวดรูปชมพู่ (Flask)
   - 1.9 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter)
   - 1.10 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
   - 1.11 ช้อนตักสารเคมี (Spatula)
   - 1.12 ฝาพลาสติกทนความร้อน (Autoclavable Plastic Cap)
   - 1.13 กระดาษชั่งสาร (Weighing Papers)
   - 1.14 ปิเปต (Pipete)
   - 1.15 ขวดแก้ว (Bottle) ขนาด 4 ออนซ์ และ 8 ออนซ์
   - 1.16 บีกเกอร์ (Beaker)
   - 1.17 กระบอกตวง (Cylender)
   - 1.18 ถุงพลาสติกทนความร้อน
2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อพืช
   - 2.1 ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar Air-flow Cabinet)
   - 2.2 ปากคีบ (Forceps)
   - 2.3 ผ้าสะอาด (Cloth Sterilize)
   - 2.4 มีดผ่าตัด (Scalpels)
   - 2.5 ตะเกียง (Turnel)
   - 2.6 จานแก้ว (Petri Dish)
   - 2.7 ไม้ขีดไฟ (Matches)

Mahasarakham University

2.8 ตะแกรงโลหะ (Metal Screen)

2.9 กระดาษสะอาด (Paper Sterilize)

2.10 แอลกอฮอล์ (Alcohol) 70%

2.11 กระบอกตวง (Cylinder)

3. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

3.1 ชั้นวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

3.2 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Air Condition)

3.3 เครื่องควบคุมเวลา (Timer)

3.4 หลอดยูวีฆ่าเชื้อ (UV Lamp)

3.5 หลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent Lamp)

4. สารเคมี (Chemical)

4.1 อาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และ WPM (Lloyd and McCown, 1980) (ตาราง 8)

4.2 โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (Sodium Hypochlorite, Clorox)

4.3 แอลกอฮอล์ 70%

4.4 น้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ (Distilled Water Sterilize)

4.5 วุ้น (Agar)

4.6 น้ำสบู่เหลว (Tween 20)

4.7 1 N NaOH

4.8 1 N HCl

4.9 น้ำตาลซูโครส (Sucrose)

4.10 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)

4.11 Naphthaleneacetic Acid (NAA)

4.12 Benzyladenine (BA)

4.13 Indole-3-butyric Acid (IBA)

4.14 Indole-3-acetic Acid (IAA)

4.15 Zeatin

4.16 Thidiazuron (TDZ)

3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกาลัดจีน

1. การเพาะเลี้ยงใบอ่อน

1.1 การชักนำใบอ่อนของเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัส

นำใบอ่อนของเกาลัดจีนสายพันธ์วาวีเบอร์ 2 มาล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้ง แล้วฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.6% หยดน้ำสบู่เหลว จำนวน 1-2 หยด แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที และแช่ต่อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความ

Mahasarakham University

เข้มข้น 0.3% แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 10 ครั้งๆ ละ 5 นาที เพื่อล้างน้ำยางให้หมด จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก/ล ทำการทดลอง 40 ซ้ำ โดยได้รับแสงฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±1^{O}C เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ลักษณะ สีและเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส

2. ข้อเกาลัด

2.1 การชักนำข้อเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัส

นำข้อของเกาลัดจีนมาล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้ง แล้วฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.9% หยดน้ำสบู่เหลว จำนวน 1-2 หยด แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที และแช่ต่อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6% แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 10 ครั้งๆ ละ 5 นาที จากนั้นตัดข้อออกเป็นชิ้นๆ ให้มีความยาว 1 ซม. แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.0 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

2.2 การเพิ่มปริมาณแคลลัส

นำแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงข้อมาตัดให้มีขนาด 1 ตร.ซม. แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มก/ล ทำการทดลอง 10 ซ้ำ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโตชนิดของแคลลัส สีและเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม

1. การชักนำเมล็ดมะตูมให้เกิดเป็นต้นกล้าในหลอดทดลอง

นำเมล็ดมะตูมมาล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้ง แล้วฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.9% หยดน้ำสบู่เหลว จำนวน 1-2 หยด แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที และแช่ต่อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6% แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที จากนั้นนำเปลือกหุ้มเมล็ดออก แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์

2. การทดสอบชิ้นส่วนที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดจากชิ้นส่วนต่างๆ ของ มะตูมในหลอดทดลอง

2.1 การชักนำราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอดให้เกิดแคลลัสและยอด

นำต้นกล้ามะตูมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในหลอดทดลองมาตัดเป็นชิ้นส่วนต่างๆ ขนาด 1 ซม. ได้แก่ ราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอด จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล ทำการทดลอง 15 ซ้ำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโตเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ลักษณะ สีและเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด ความยาวยอดเฉลี่ยและจำนวนยอดเฉลี่ย (จำนวนยอดนับจากยอดที่มีความสูง 0.5 ซม. ขึ้นไป)

2.2 การชักนำตาข้างให้เกิดยอด

นำตาข้างที่ได้จากการเพาะเมล็ดในหลอดทดลองมาตัดให้มีขนาด 1 ซม. จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.5 มก/ล ร่วมกับ IAA 1 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Mahasarakham University

2.3 การชักนำลำต้นเหนือใบเลี้ยงให้เกิดแคลลัสและยอด

นำลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่ได้จากการเพาะเมล็ดในหลอดทดลองมาตัดให้มีขนาด 1 ซม. จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.5 มก/ล ทำการทดลอง 20 ซ้ำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ลักษณะ สีและเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด ความยาวยอดและจำนวนยอดเฉลี่ย

3. การชักนำยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดให้เกิดราก

นำยอดความสูง 3 ซม. ที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอด ที่มีความสูง 4 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 10 มก/ล ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มก/ล ทำการทดลอง 15 ซ้ำ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดราก ความยาวรากและจำนวนรากเฉลี่ย

4. การย้ายออกปลูก

นำต้นกล้าของมะตูมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองความยาวยอด 5 ซม. ที่มีรากสมบูรณ์ แข็งแรง นำไปปรับสภาพในอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำออกจากหลอดทดลอง ล้างวุ้นออกให้หมดด้วยน้ำสะอาด และนำไปปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบในอัตราส่วนที่แตกต่างกันและนำถุงพลาสติกใสที่เจาะรูมาคลุมไว้เป็นเวลา 4 สัปดาห์ นำไปวางไว้ในเรือนเพาะชำ ทำการทดลอง 20 ซ้ำ เป็นเวลา 16 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและความสูงเฉลี่ย

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ (statistical analysis)

1. วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี One-Way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (Version 11.5 for Windows) ในการทดลองเรื่อง

1.1 อิทธิพลของ NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำใบอ่อนเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

1.2 อิทธิพลของ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสที่เกิดจากข้อเกาลัดจีนเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

1.3 การชักนำชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นอ่อนมะตูมในหลอดทดลองให้เกิดแคลลัสและยอด

1.4 อิทธิพลของ BA ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำลำต้นเหนือ ใบเลี้ยงของมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

1.5 อิทธิพลของดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วนต่างๆ ต่อการเพาะปลูกต้นกล้ามะตูมเป็นเวลา 16 สัปดาห์

2. วางแผนการทดลองแบบเชิงตัวประกอบรูปแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Factorial Experiment in Randomized Complete Block Design) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี Two-Way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (Version 11.5

Mahasarakham University

for Windows) ในการทดลองเรื่องอิทธิพลของ IBA ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดให้เกิดราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Mahasarakham University

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกาลัดจีน

1. การเพาะเลี้ยงใบอ่อน

1.1 อิทธิพลของ NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำใบอ่อนเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนเกาลัดจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0, 0.1 และ 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก/ล เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าใบอ่อนเกาลัดจีนเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล มีขนาดใหญ่ขึ้นและเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดตรงแผ่นใบที่สัมผัสกับอาหาร แคลลัสที่ได้มีลักษณะเป็นแคลลัสแบบเกาะกันหลวมๆ (friable callus) และเกาะกันแน่น (compact callus) สีเหลืองอ่อน เขียว ส้มและสีขาว (ภาพประกอบ 3) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าใบอ่อนเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 0.1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 79.16% เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย 1.06 ซม. (ตาราง 2) โดยแคลลัสที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้นและบริเวณที่ใบอ่อนเกาลัดจีนสัมผัสกับอาหารพบว่ามีการหลั่งสารสีดำหรือสีน้ำตาลรอบๆ อาหารที่เพาะเลี้ยง (ภาพประกอบ 4 ข-ช) ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ (ภาพประกอบ 4 ก) จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 4.1)

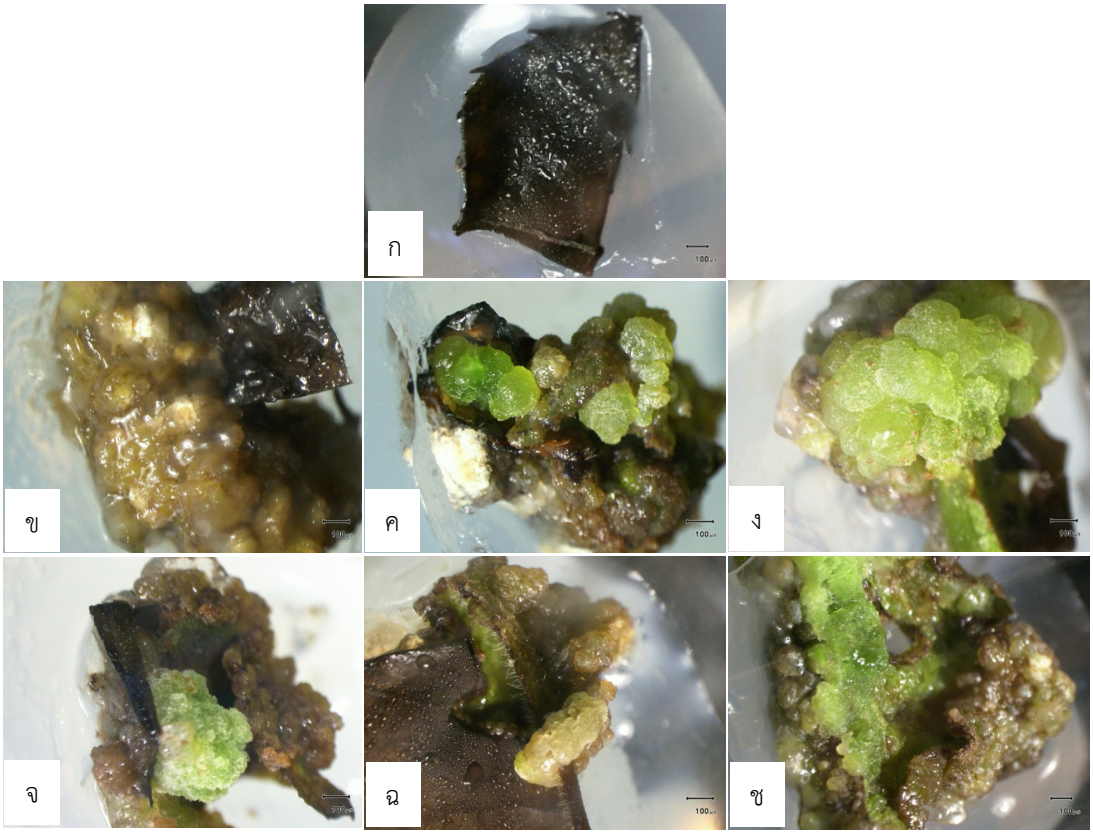
ตาราง 4.1 อิทธิพลของ NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำใบอ่อนเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

NAA (มก/ล)	BA (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย (ซม.) Mean±SE
0	0	0	0^{c}
0.1	0.1	79.16	1.06 ± 0.13^{ab}
0.1	0.5	61.90	1.12 ± 0.10^{ab}
0.1	1.0	65.58	1.34 ± 0.14^{a}
0.5	0.1	72.91	0.98 ± 0.07^{b}
0.5	0.5	68.42	1.14 ± 0.08^{ab}
0.5	1.0	73.07	1.28 ± 0.0^{ab}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

Mahasarakham University

ภาพประกอบ 4.1 ลักษณะของแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนเกาลัดจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 1.0 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพประกอบ 4.2 ลักษณะของแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนเกาลัดจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ตามลำดับ) เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 0.1 มก/ล

ค. NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 0.5 มก/ล

ง. NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 1.0 มก/ล

จ. NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 0.1 มก/ล

ฉ. NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 0.5 มก/ล

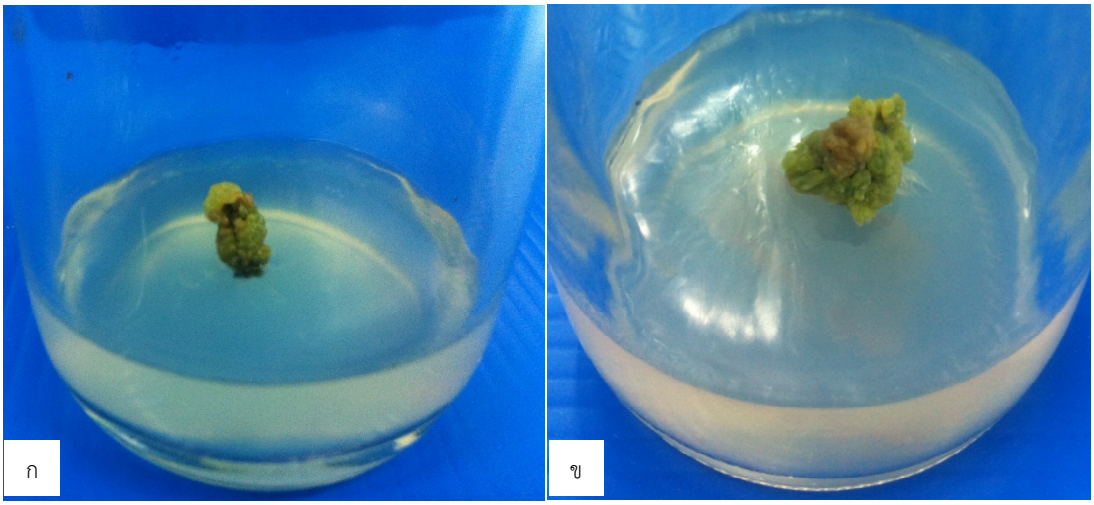
ช. NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 1.0 มก/ล

Mahasarakham University

2. การเพาะเลี้ยงข้อ

2.1 การชักนำข้อเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.0 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์

เพาะเลี้ยงข้อเกาลัดจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.0 มก/ล เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงข้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าข้อเกาลัดจีนเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีดำหรือน้ำตาลและเนื้อเยื่อข้อด้านบนบริเวณที่ไม่ได้สัมผัสกับอาหารสามารถชักนำให้เกิดแคลลัส แคลลัสที่ได้มีลักษณะเป็นแคลลัสแบบเกาะกันหลวมๆ มีสีเขียว น้ำตาลและขาวขุ่น แต่บริเวณที่ข้อเกาลัดจีนสัมผัสกับอาหารไม่เกิดแคลลัส (ภาพประกอบ 5 ก) และมีการหลั่งสารสีดำหรือน้ำตาลออกมารอบๆ เนื้อเยื่อ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าข้อเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.0 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส 82.09% และแคลลัสมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น (ภาพประกอบ 4.3 ข)



ภาพประกอบ 4.3 ลักษณะของแคลลัสที่เกิดจากข้อเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.0 มก/ล

ก. แคลลัสที่เกิดจากข้อเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ข. แคลลัสที่เกิดจากข้อเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

Mahasarakham University

2.2 อิทธิพลของ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสที่เกิดจากข้อเกาลัดจีนเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

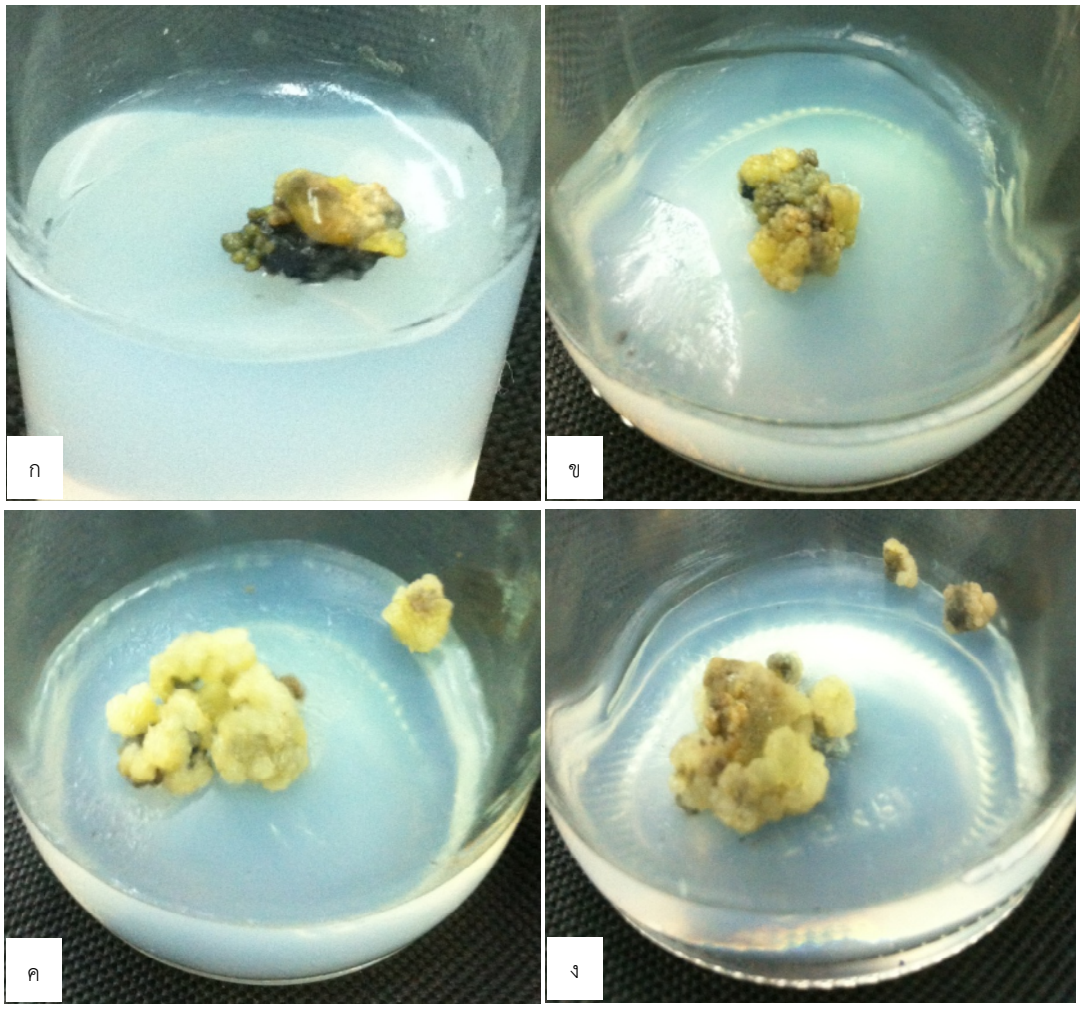
เมื่อนำแคลลัสมาปรับสภาพบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและสีดำ จากนั้นนำแคลลัสไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มก/ล เพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2 มก/ล เกิดแคลลัส 100% และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 มก/ล มีเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด 1.62 ซม. (ตาราง 3) แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ทุกความเข้มข้น เป็นแคลลัสที่มีลักษณะแบบเกาะกันหลวมๆ มีสีเขียว สีน้ำตาลและสีขาวขุ่น บริเวณที่แคลลัสสัมผัสกับอาหารมีการหลั่งสารสีดำหรือสีน้ำตาลออกมาบริเวณรอบๆ เนื้อเยื่อ (ภาพประกอบ 4.4) จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 10)

ตาราง 4.2 อิทธิพลของ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสที่เกิดจากข้อเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

2,4-D (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย (ซม.) Mean±SE
0	100	1.07 ± 0.01^{c}
0.5	100	1.40 ± 0.05^{b}
1.0	100	1.62 ± 0.05^{a}
2.0	100	1.41 ± 0.05^{b}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.4 ลักษณะของแคลลัสเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. 2,4-D 0.5 มก/ล

ค. 2,4-D 1.0 มก/ล

ง. 2,4-D 2.0 มก/ล

Mahasarakham University

4.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม

1. การเพาะเลี้ยงเมล็ดมะตูมให้เกิดเป็นต้นอ่อนในหลอดทดลอง

เมื่อนำเมล็ดมะตูมมาชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนในหลอดทดลอง นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เมล็ดมะตูมมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีรากแรกเกิดสีขาวขุ่นงอกออกจากเมล็ด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนมียอดและรากที่สมบูรณ์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1-3 ยอด/เมล็ด สูงประมาณ 5 ซม. ลำต้นและใบมีสีเขียว จำนวนใบเฉลี่ย 2 ใบ/ยอด จำนวนรากเฉลี่ย 1-2 ราก/ต้น ความยาวรากเฉลี่ย 3-4 ซม. รากสีขาวขุ่น (ภาพประกอบ 4.5)

ภาพประกอบ 4.5 มะตูม

ก. เมล็ดที่นำมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

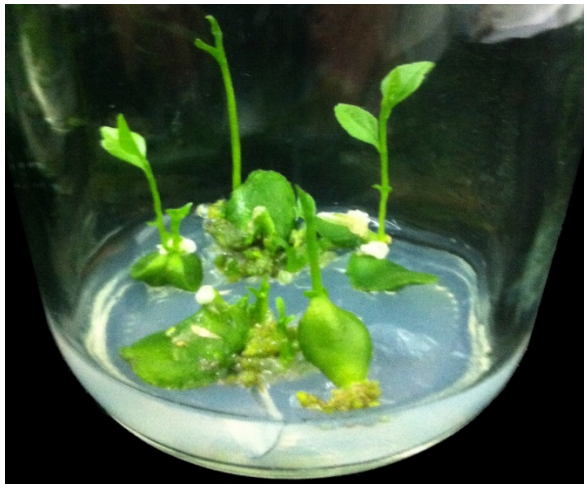
ข. ต้นอ่อนที่เจริญจากเมล็ดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์

2. การชักนำชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นอ่อนมะตูมในหลอดทดลองให้เกิดแคลลัสและยอด

เมื่อนำชิ้นส่วนของราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอดที่ได้จากการเพาะเมล็ดในหลอดทดลองมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอดมีขนาดใหญ่ขึ้น เกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดและบริเวณที่สัมผัสกับอาหาร เป็นแคลลัสที่เกาะกันหลวมๆ และเกาะกันแน่น สีเขียว ขาว และสีเหลือง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนของปลายยอดสามารถพัฒนายอดและแคลลัสได้ และแคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนของราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอดพัฒนาเป็นยอดบนอาหารสูตรเดิม (ภาพประกอบ 8) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนของปลายยอดสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ดีที่สุด 87.09% จำนวนยอดเฉลี่ย 4.96 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และความยาวยอดเฉลี่ย

Mahasarakham University

2.51 ซม. ยอดที่ได้มีสีเขียว ลำต้นเล็ก ผอม ใบมีขนาดเล็กและยอดที่เกิดขึ้นเป็นกระจุกเบียดชิดกัน (ภาพประกอบ 9 ง) แต่ชิ้นส่วนของราก ใบและใบเลี้ยงไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 4) ในขณะที่ชิ้นส่วนของราก ใบเลี้ยงและปลายยอดมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสได้ดีที่สุดคือ 100% เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย 0.98, 1.11 และ 0.86 ซม. ตามลำดับ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงใบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสน้อยที่สุด 84.78% เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย 0.39 ซม. แคลลัสจากชิ้นส่วนของใบเลี้ยงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดได้ดีที่สุด 93.18% จำนวนยอดเฉลี่ย 5.21 ยอด/แคลลัส ความยาวยอดเฉลี่ย 1.90 ซม. (ตาราง 4.3) โดยยอดที่ได้จากแคลลัสของรากและใบเลี้ยงมีสีเขียว ลำต้นปานกลาง ใบแผ่กว้างและยอดที่เกิดขึ้นไม่เป็นกระจุก ในขณะที่ยอดที่ได้จากแคลลัสของใบมีสีเขียว ลำต้นอวบ ใบมีขนาดเล็กและยอดที่เกิดขึ้นเป็นกระจุกเบียดชิดกัน และยอดที่ได้จากแคลลัสของปลายยอดมีสีเขียว ลำต้นเล็ก ผอม ใบมีขนาดเล็กและยอดที่เกิดขึ้นเป็นกระจุกเบียดชิดกัน (ภาพประกอบ 4.7 ก-ง) จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย จำนวนยอดต่อแคลลัสเฉลี่ยและความยาวยอดเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง ภาคผนวก 11)



ภาพประกอบ 4.6 ยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์

3. การชักนำตาข้างมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

เมื่อนำชิ้นส่วนของตาข้างมะตูมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.5 มก/ล ร่วมกับ IAA 1 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ตาข้างมีขนาดใหญ่ขึ้น เกิด แคลลัสบริเวณรอยตัดและบริเวณที่สัมผัสกับอาหาร เป็นแคลลัสชนิดเกาะกันหลวมๆ สีเขียวขาวขุ่นและสีเหลือง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสพัฒนาเป็นยอดบนอาหารสูตรเดิม (ภาพที่ 10 ก) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสพัฒนาเป็นยอดเพิ่มมากขึ้น ยอดที่ได้มีสีเขียว ลำต้นเล็ก ผอม ใบมีขนาดเล็กและยอดที่เกิดขึ้นเป็นกระจุกเบียดชิดกัน (ภาพประกอบ 10 ข)

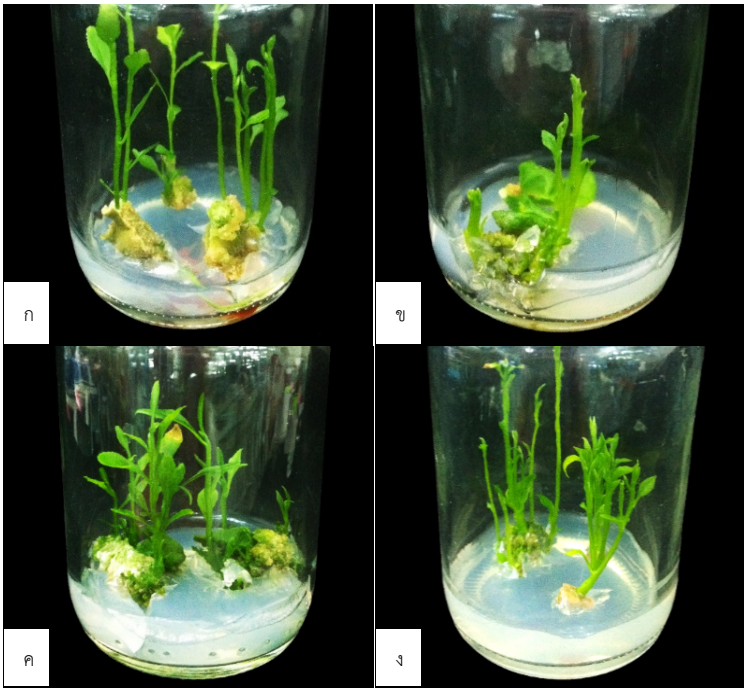
Mahasarakham University

ตาราง 4.3 การชักนำราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอดมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์

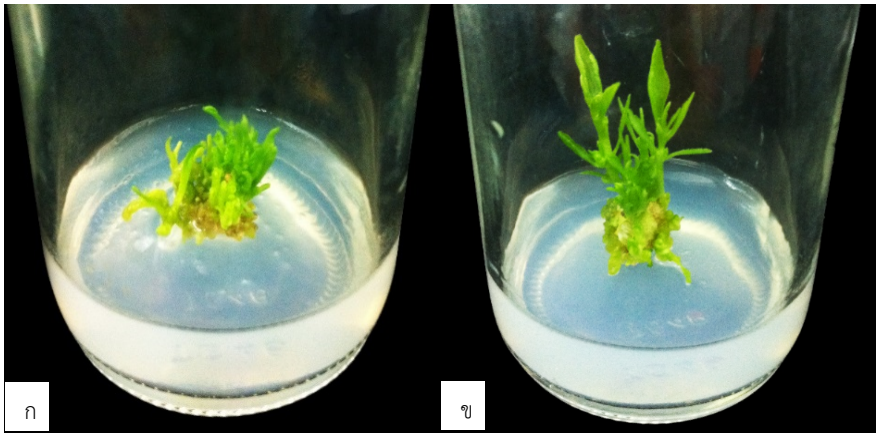
ชิ้นส่วนพืช	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดจากชิ้นส่วนพืช	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช) Mean±SE	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.) Mean±SE	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย (ซม.) Mean±SE	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดจากแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/แคลลัส) Mean±SE	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.) Mean±SE
ราก	0	0^{b}	0^{b}	100	0.98 ± 0.05^{ab}	76.36	3.90 ± 0.40^{ab}	1.47 ± 0.09^{a}
ใบ	0	0^{b}	0^{b}	84.78	0.39 ± 0.05^{c}	19.56	3.44 ± 1.29^{ab}	1.59 ± 0.18^{a}
ใบเลี้ยง	0	0^{b}	0^{b}	100	1.11 ± 0.08^{a}	93.18	5.21 ± 0.66^{a}	1.90 ± 0.08^{a}
ปลายยอด	87.09	4.96 ± 0.58^{a}	2.51 ± 0.05^{a}	100	0.86 ± 0.06^{b}	51.61	2.68 ± 0.47^{b}	1.45 ± 0.21^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.7 ยอดที่เกิดจากแคลลัสจากชิ้นส่วนต่างๆ ของมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์
ก. ราก ข. ใบ
ค. ใบเลี้ยง ง. ปลายยอด



ภาพประกอบ 4.8 ยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างของมะตูมบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์
ก. ยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างอายุ 4 สัปดาห์
ข. ยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างอายุ 8 สัปดาห์

Mahasarakham University

4. อิทธิพลของ BA ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำลำต้นเหนือใบเลี้ยงมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

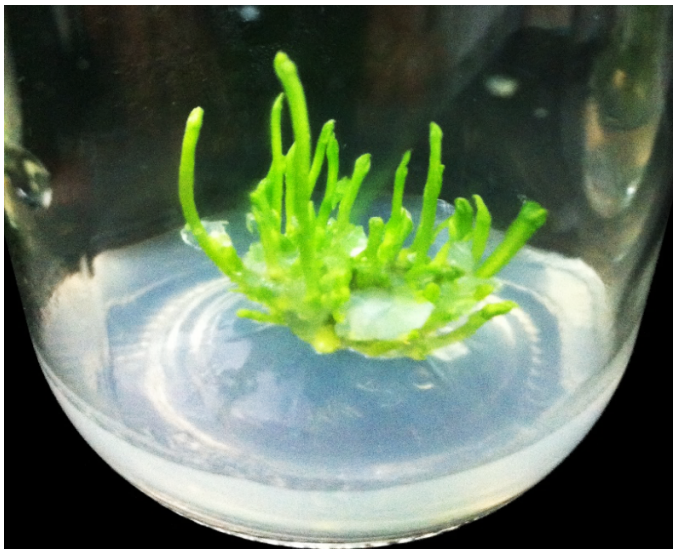
จากการเพาะเลี้ยงลำต้นเหนือใบเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ลำต้นเหนือใบเลี้ยงมีขนาดใหญ่ขึ้น เกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดและบริเวณที่สัมผัสกับอาหาร แคลลัสที่ได้มีลักษณะเกาะกันหลวมๆ และเกาะกันแน่น สีเขียว ขาวขุ่นและสีเหลือง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสพัฒนาเป็นยอดบนอาหารสูตรเดิม (ภาพประกอบ 11) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ 2,4-D ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100% (ตาราง 5 และภาพประกอบ 12 ข-ช) โดยแคลลัสที่เกิดจากลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มก/ล สามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ดีที่สุด 100% จำนวนยอดเฉลี่ย 58.10 ยอด/แคลลัส ความยาวยอดเฉลี่ย 1.35 ซม. (ตาราง 5) โดยยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มก/ล และ BA 1.0 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.5 มก/ล ลักษณะยอดที่ได้มีสีเขียว ลำต้นเล็ก ผอม ใบมีขนาดเล็กและยอดที่เกิดขึ้นเป็นกระจุกเบียดชิดกัน (ภาพที่ 12 ข และ ช) ในขณะที่ยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มก/ล และ BA 1.0 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มก/ล ลักษณะยอดที่ได้มีสีเขียว ลำต้นอวบ ใบมีขนาดเล็กและยอดที่เกิดขึ้นเป็นกระจุกเบียดชิดกัน (ภาพที่ 12 ค และ ง) และลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.5 มก/ล และ BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.5 มก/ล ไม่สามารถชักนำแคลลัสให้พัฒนาไปเป็นยอดได้ ซึ่งลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนพบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ แต่สามารถชักนำให้เกิดยอดจากลำต้นเหนือใบเลี้ยงได้โดยตรง ยอดที่ได้มีจำนวน 1 ยอด/ชิ้นส่วนพืช สีเขียว ลำต้นผอม ใบแผ่กว้าง (ภาพที่ 12 ก) จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย จำนวนยอดต่อแคลลัสเฉลี่ยและความยาวยอดเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางภาคผนวก 12)

Mahasarakham University

ตาราง 4.4 อิทธิพลของ BA ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำลำต้นเหนือใบเลี้ยงมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

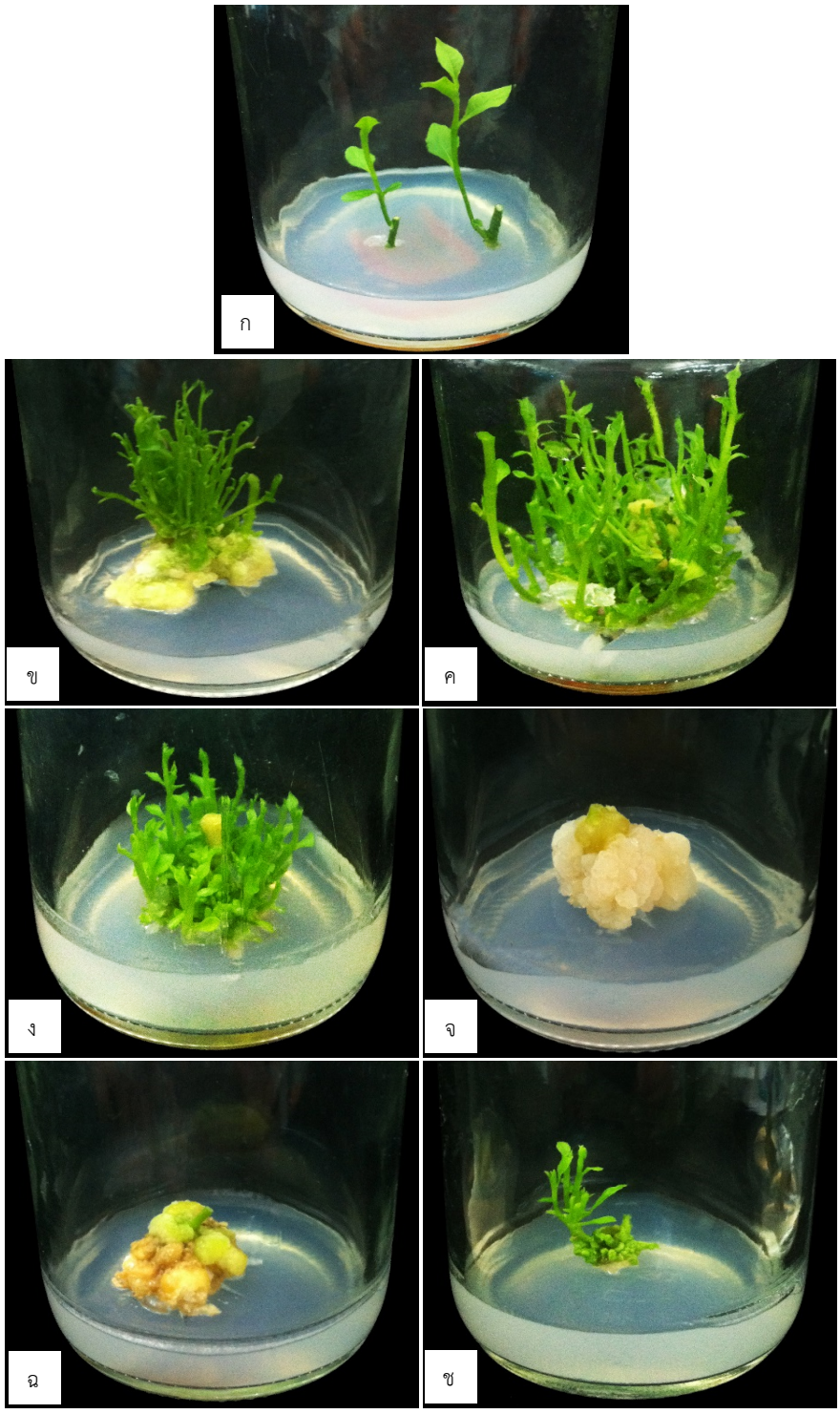
BA (มก/ล)	2,4-D (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย (ซม.) (Mean±SE)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดจากแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/แคลลัส) (Mean±SE)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)
0	0	0	0^{b}	0	0^{c}	0^{c}
0.1	0.1	100	1.11 ± 0.06^{a}	100	21.46 ± 2.81^{b}	1.61 ± 0.05^{a}
0.5	0.1	100	1.19 ± 0.05^{a}	100	58.10 ± 12.67^{a}	1.34 ± 0.02^{a}
1.0	0.1	100	1.12 ± 0.13^{a}	92.85	21.76 ± 5.97^{b}	0.72 ± 0.04^{b}
0.1	0.5	100	1.45 ± 0.09^{a}	0	0^{c}	0^{c}
0.5	0.5	100	1.29 ± 0.16^{a}	0	0^{c}	0^{c}
1.0	0.5	100	1.19 ± 0.16^{a}	54.54	2.83 ± 0.70^{c}	0.37 ± 0.04^{bc}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT



ภาพประกอบ 4.9 ยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.10 อิทธิพลของ BA ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำลำต้นเหนือใบเลี้ยงมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ก. MS ข. BA 0.1 มก/ล + 2,4-D 0.1 มก/ล ค. BA 0.5 มก/ล + 2,4-D 0.1 มก/ล ง. BA 1.0 มก/ล + 2,4-D 0.1 มก/ล จ. BA 0.1 มก/ล + 2,4-D 0.5 มก/ล ฉ. BA 0.5 มก/ล + 2,4-D 0.5 มก/ล ช. BA 1.0 มก/ล + 2,4-D 0.5 มก/ล

Mahasarakham University

5. อิทธิพลของ IBA ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดมะตูมให้เกิดรากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

เนื่องจากยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต่ำจึงไม่นำมาทำการทดลอง เมื่อนำยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 10 มก/ล ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มก/ล เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ายอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ IAA และ NAA ทุกความเข้มข้น บริเวณรอยตัดที่สัมผัสกับอาหารมีขนาดใหญ่ขึ้น เกิดรากสีเขียว ขนาดเล็กเรียวยาว บริเวณปลายรากเป็นสีขาวขุ่น ในขณะที่ยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA ร่วมกับ BA และ TDZ ทุกความเข้มข้น เกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดที่สัมผัสกับอาหาร แคลลัสที่ได้เป็นแคลลัสชนิดเกาะกันหลวมๆ สีเขียว เหลืองและขาวขุ่น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่ายอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 84.61% จำนวนรากเฉลี่ย 5.00 ราก/ต้น ความยาวรากเฉลี่ย 0.60 ซม. (ตาราง 6 และภาพประกอบ 35 ค) ในขณะที่ยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ BA และ TDZ ทุกความเข้มข้น พบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดราก (ตาราง 6) โดยยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IAA สามารถชักนำให้เกิดรากได้ทุกความเข้มข้น รากที่ได้เกิดบริเวณรอยตัดที่สัมผัสกับอาหาร สีเขียว ขนาดเล็กเรียว ปลายรากสีขาวขุ่นและใบร่วงจำนวนมากซึ่งยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม NAA สามารถชักนำให้เกิดรากได้ทุกความเข้มข้น รากที่ได้เกิดบริเวณรอยตัดที่สัมผัสกับอาหาร สีเขียวและขาวขุ่น อวบ ปลายรากสีขาวขุ่นและใบร่วง ในขณะที่ยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม BA ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ แต่เกิดแคลลัสและพัฒนาไปเป็นยอดบนอาหารสูตรเดิมจำนวนมาก ยอดที่ได้มีสีเขียว ลำต้นผอม ใบมีขนาดเล็ก ลำต้นเบียดชิดติดกันเป็นกระจุก และยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม TDZ ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ แต่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดที่สัมผัสกับอาหาร โดยแคลลัสที่ได้มีสีเหลืองและขาวขุ่น เป็นแคลลัสชนิดเกาะกันแบบหลวมๆ และเกาะกันแน่นใบร่วงจำนวนมาก(ภาพประกอบ 13-37) จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนรากเฉลี่ยและความยาวรากเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 13)

Mahasarakham University

ตาราง 4.5 อิทธิพลของ IBA ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดมะตูมให้เกิดราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

แหล่งที่มาแคลลัส	IBA (มก/ล)	IAA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	BA (มก/ล)	TDZ (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ต้น) (Mean±SE)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.) (Mean±SE)
ราก			½MS			0	0^{g}	0^{i}
	10					33.33	1.25 ± 0.25^{efg}	1.16 ± 0.53^{bcdefgh}
	10	0.5				26.66	2.00 ± 0.57^{cdef}	0.75 ± 0.20^{cdefghi}
	10	1.0				40.00	2.85 ± 0.91^{bcdef}	1.38 ± 0.23^{bcd}
	10	1.5				25.00	4.00 ± 1.52^{abc}	1.04 ± 0.26^{cdefgh}
	10		0.5			60.00	3.00 ± 0.33^{bcdef}	0.48 ± 0.04^{fghi}
	10		1.0			53.33	2.62 ± 0.49^{bcdef}	0.53 ± 0.06^{fghi}
	10		1.5			33.33	2.60 ± 0.05^{bcdef}	0.48 ± 0.05^{fghi}
	10			0.5		0	0^{g}	0^{i}
	10			1.0		0	0^{g}	0^{i}
	10			1.5		0	0^{g}	0^{i}
	10				0.5	0	0^{g}	0^{i}
	10				1.0	0	0^{g}	0^{i}
	10				1.5	0	0^{g}	0^{i}
ใบเลี้ยง	½MS					0	0^{g}	0^{i}
	10					15.78	2.00 ± 1.00^{cdef}	1.11 ± 0.30^{bcdefgh}
	10	0.5				47.61	1.30 ± 0.15^{efg}	1.83 ± 0.51^{b}
	10	1.0				57.69	2.06 ± 0.24^{cdef}	1.24 ± 0.12^{bcdef}
	10	1.5				62.91	1.70 ± 0.22^{defg}	1.02 ± 0.17^{cdefgh}
	10		0.5			46.66	4.00 ± 0.75^{abc}	0.47 ± 0.04^{fghi}
	10		1.0			53.33	2.50 ± 0.42^{bcdef}	0.60 ± 0.07^{efghi}
	10		1.5			66.66	2.90 ± 0.31^{bcdef}	0.52 ± 0.05^{fghi}
	10			0.5		0	0^{g}	0^{i}
	10			1.0		0	0^{g}	0^{i}
	10			1.5		0	0^{g}	0^{i}
	10				0.5	0	0^{g}	0^{i}
	10				1.0	0	0^{g}	0^{i}
	10				1.5	0	0^{g}	0^{i}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

Mahasarakham University

ตาราง 4.5 (ต่อ)

แหล่งที่มาแคลลัส	IBA (มก/ล)	IAA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	BA (มก/ล)	TDZ (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ต้น) (Mean±SE)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.) (Mean±SE)
ตาข้าง	½MS					0	0^{g}	0^{i}
	10					15.38	1.00 ± 0.00^{fg}	0.56 ± 0.70^{bc}
	10	0.5				26.66	1.50 ± 0.28^{defg}	1.01 ± 0.02^{cdefgh}
	10	1.0				14.28	2.00 ± 0.00^{bcdef}	0.60 ± 0.16^{efghi}
	10	1.5				17.64	1.66 ± 0.66^{defg}	1.22 ± 0.23^{bcdefg}
	10		0.5			76.92	3.10 ± 0.54^{bcde}	0.62 ± 0.06^{defghi}
	10		1.0			53.84	2.28 ± 0.48^{bcdef}	0.44 ± 0.03^{hi}
	10		1.5			50.00	4.14 ± 1.07^{ab}	0.53 ± 0.06^{fghi}
	10			0.5		0	0^{g}	0^{i}
	10			1.0		0	0^{g}	0^{i}
	10			1.5		0	0^{g}	0^{i}
	10				0.5	0	0^{g}	0^{i}
	10				1.0	0	0^{g}	0^{i}
	10				1.5	0	0^{g}	0^{i}
ลำต้น			½MS			0	0^{g}	0^{i}
เหนือใบเลี้ยง	10					0	0^{g}	0^{i}
	10	0.5				26.82	1.45 ± 0.24^{defg}	1.19 ± 0.16^{bcdefgh}
	10	1.0				50	1.52 ± 0.25^{defg}	0.91 ± 0.08^{ccdefgh}
	10	1.5				9.09	2.25 ± 0.94^{bcdef}	2.81 ± 0.62^{a}
	10		0.5			53.33	2.50 ± 0.42^{bcdef}	0.93 ± 0.17^{cdefgh}
	10		1.0			64.82	3.50 ± 0.84^{abcd}	0.73 ± 0.08^{defghi}
	10		1.5			84.61	5.00 ± 1.00^{a}	0.60 ± 0.07^{efghi}
	10			0.5		0	0^{g}	0^{i}
	10			1.0		0	0^{g}	0^{i}
	10			1.5		0	0^{g}	0^{i}
	10				0.5	0	0^{g}	0^{i}
	10				1.0	0	0^{g}	0^{i}
	10				1.5	0	0^{g}	0^{i}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

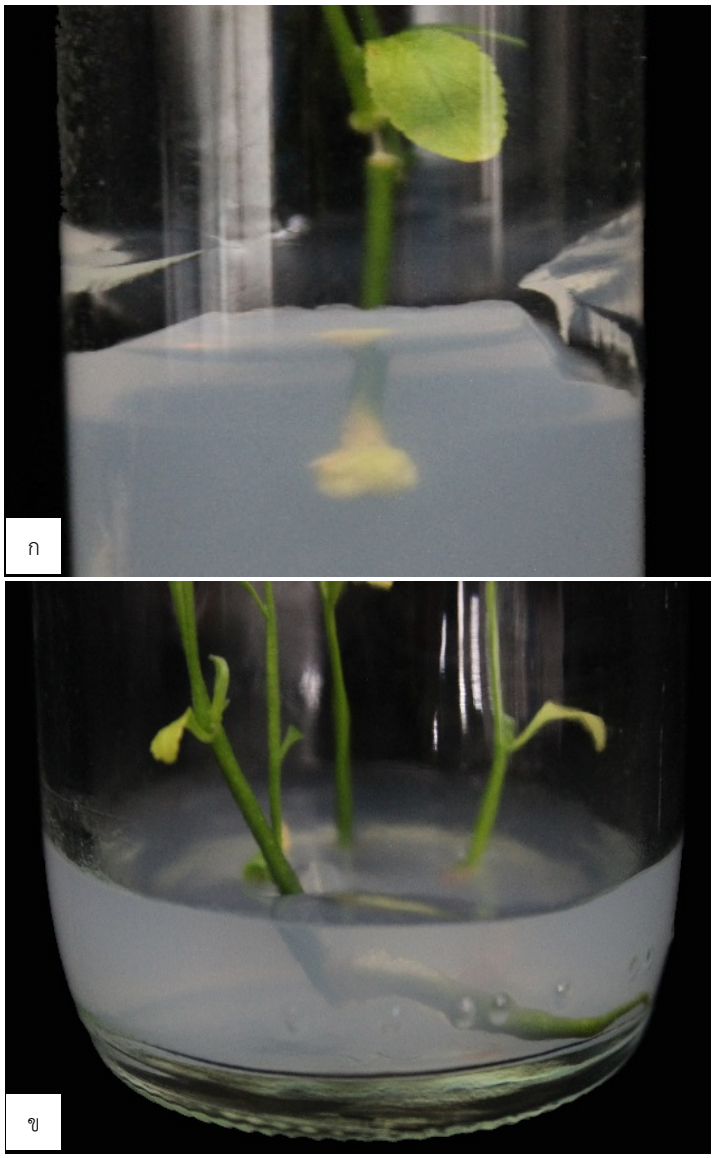
Mahasarakham University

ตาราง 4.5 (ต่อ)

แหล่งที่มาแคลลัส	IBA (มก/ล)	IAA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	BA (มก/ล)	TDZ (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ต้น) (Mean±SE)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.) (Mean±SE)
ปลายยอด	½MS					0	0^{g}	0^{i}
	10					27.50	1.54 ± 0.36^{defg}	0.46 ± 0.06^{ghi}
	10	0.5				51.51	1.80 ± 0.22^{defg}	1.23 ± 0.31^{bcdefg}
	10	1.0				45	2.44 ± 0.23^{bcdef}	1.18 ± 0.11^{bcdefgh}
	10	1.5				44.11	1.66 ± 0.15^{defg}	0.62 ± 0.06^{defghi}
	10		0.5			50	3.42 ± 0.84^{abcd}	1.36 ± 0.20^{bbde}
	10		1.0			46.66	2.00 ± 0.21^{cdef}	0.47 ± 0.05^{fghi}
	10		1.5			30.76	1.75 ± 0.75^{defg}	0.78 ± 0.16^{cdefgh}
	10			0.5		0	0^{g}	0^{i}
	10			1.0		0	0^{g}	0^{i}
	10			1.5		0	0^{g}	0^{i}
	10				0.5	0	0^{g}	0^{i}
	10				1.0	0	0^{g}	0^{i}
	10				1.5	0	0^{g}	0^{i}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

Mahasarakham University

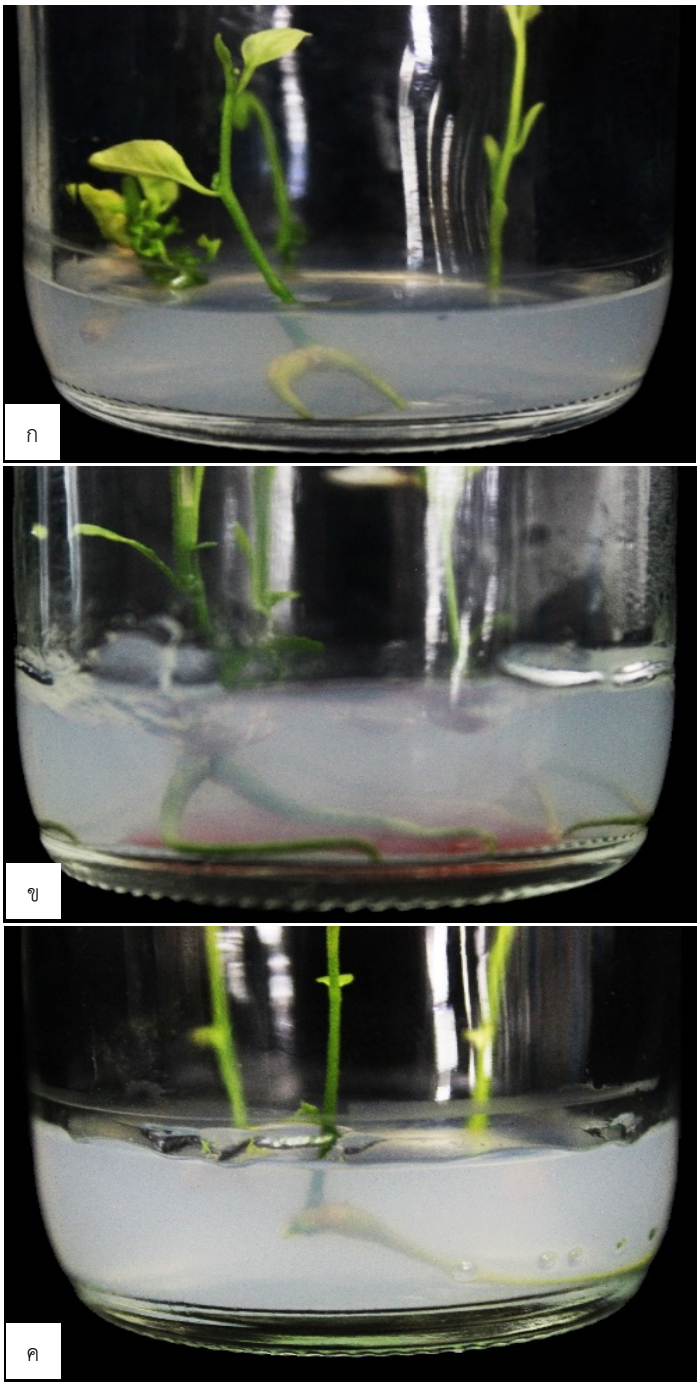


ภาพประกอบ 4.11 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของรากบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. อาหารสูตร ½MS

ข. อาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล

Mahasarakham University



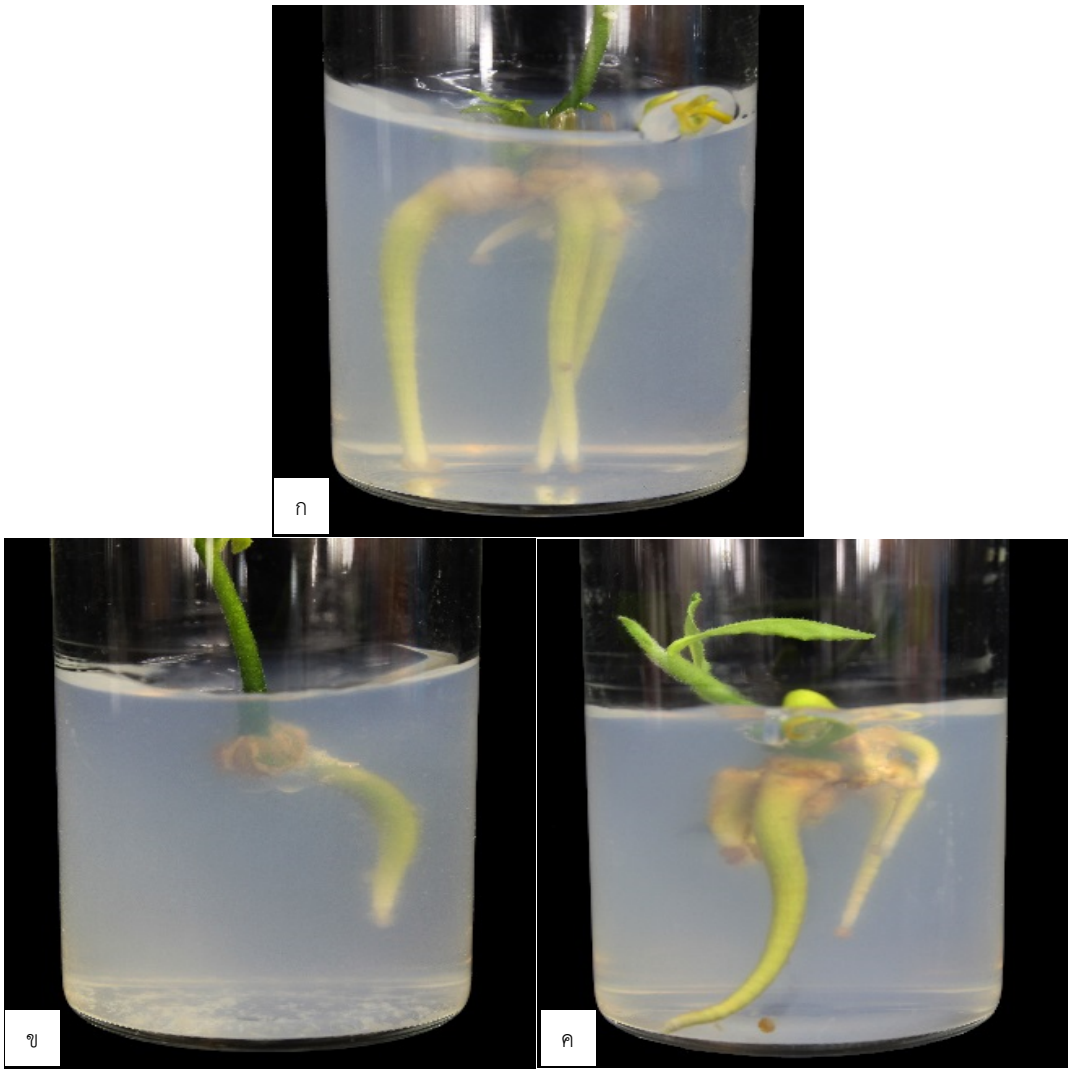
ภาพประกอบ 4.12 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของรากบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. IAA 0.5 มก/ล

ข. IAA 1.0 มก/ล

ค. IAA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



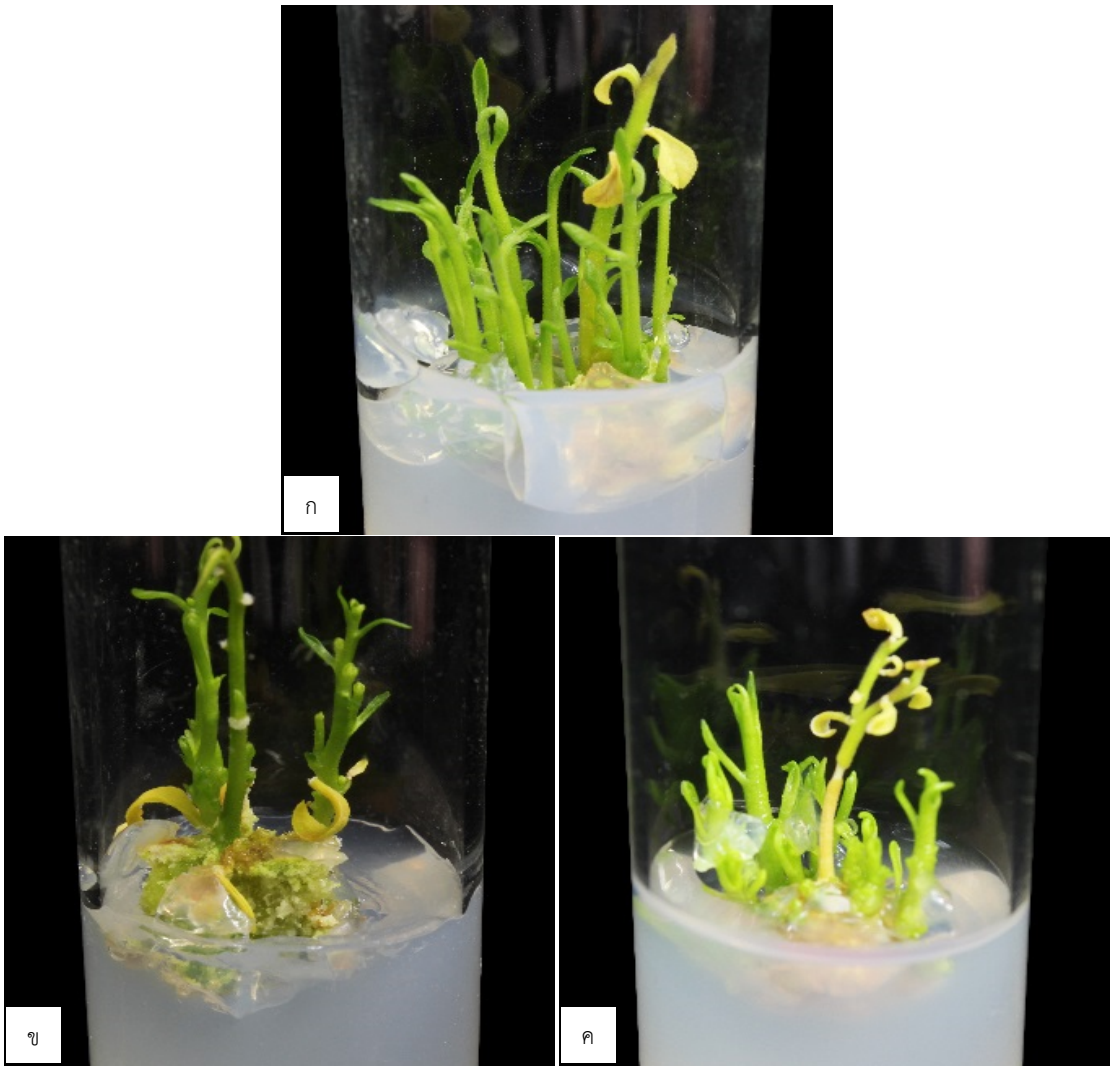
ภาพประกอบ 4.13 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของรากบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. NAA 0.5 มก/ล

ข. NAA 1.0 มก/ล

ค. NAA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



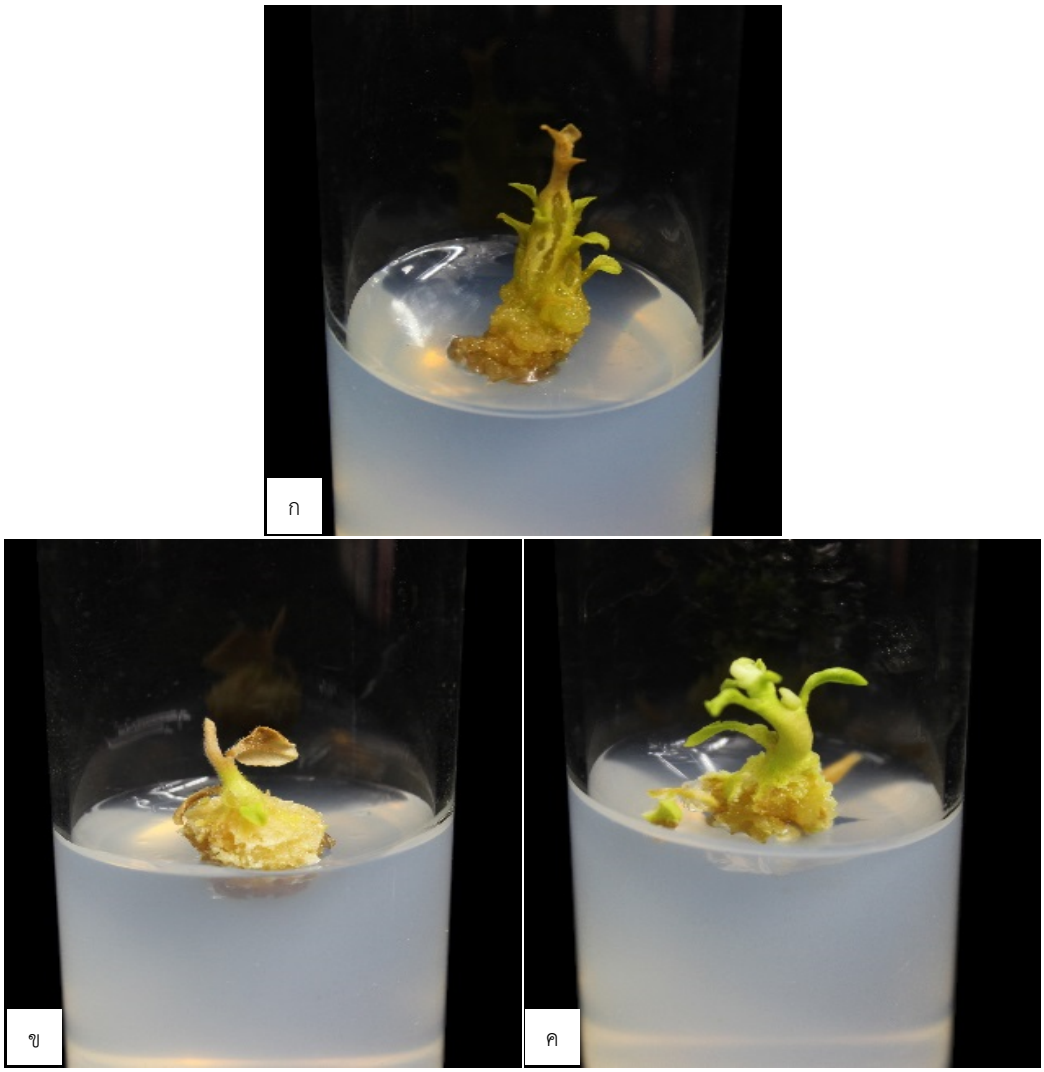
ภาพประกอบ 4.14 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของรากบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. BA 0.5 มก/ล

ข. BA 1.0 มก/ล

ค. BA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



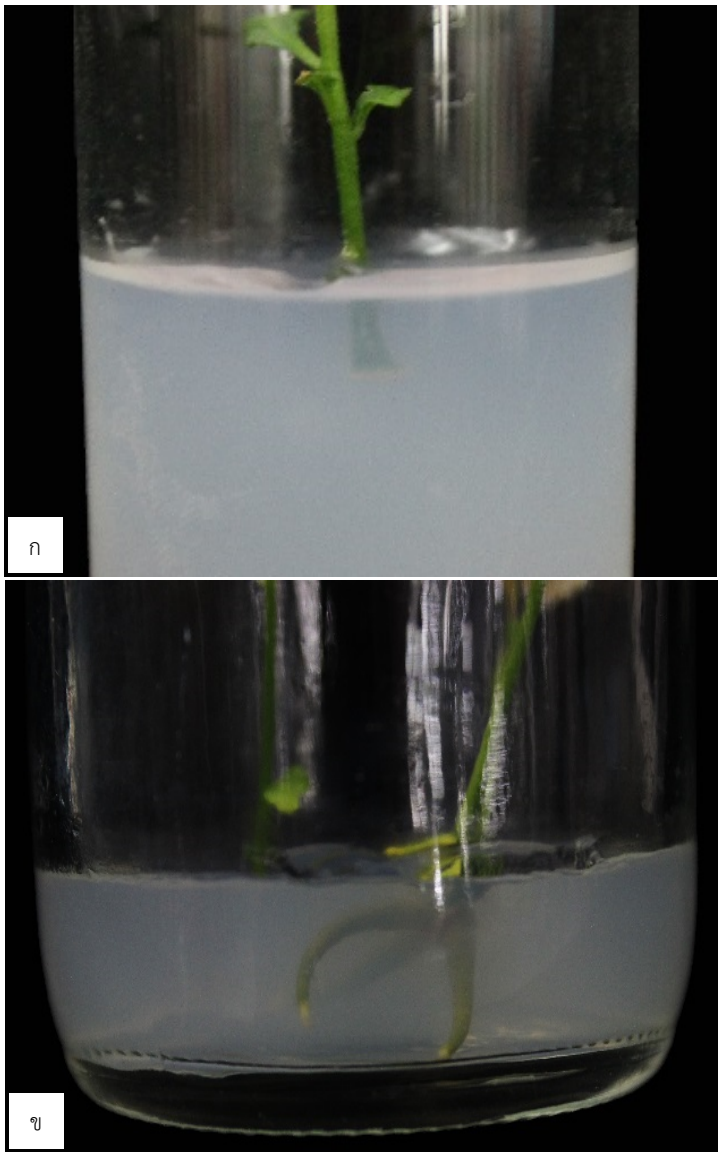
ภาพประกอบ 4.15 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของรากบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. TDZ 0.5 มก/ล

ข. TDZ 1.0 มก/ล

ค. TDZ 1.5 มก/ล

Mahasarakham University

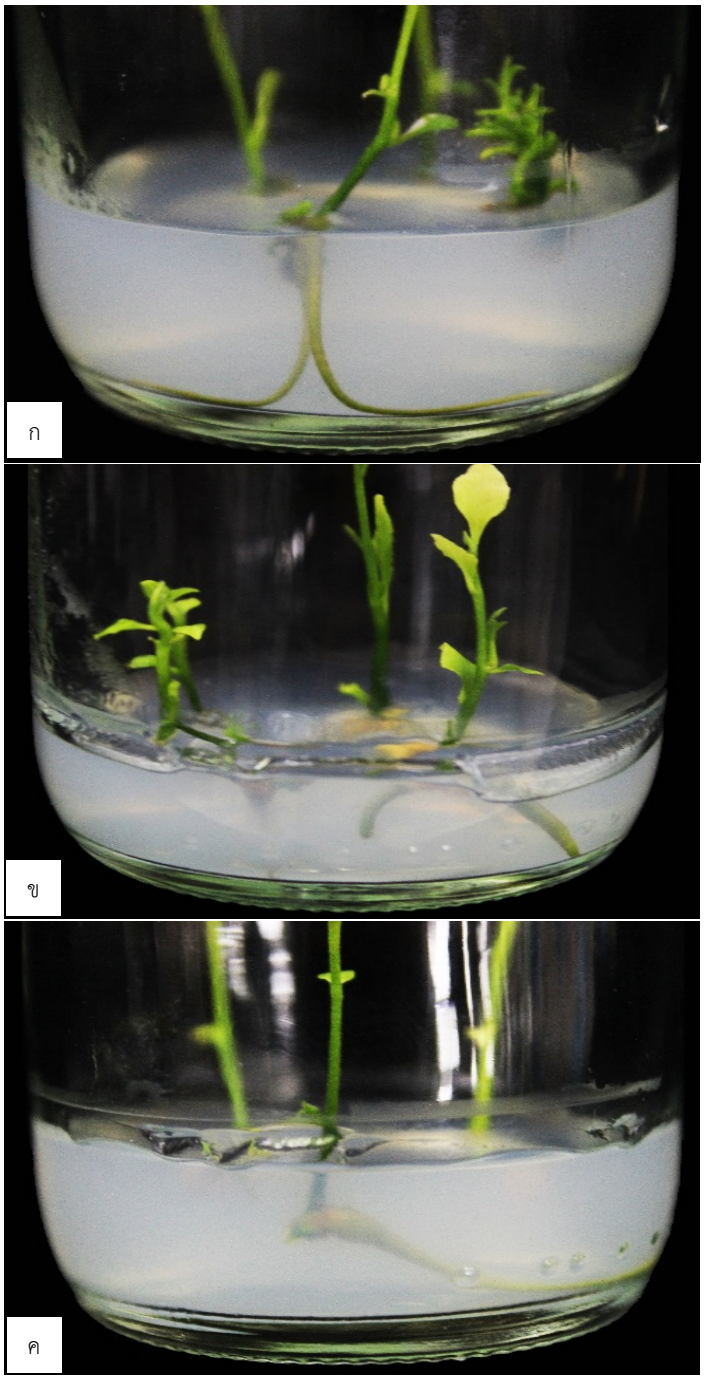


ภาพประกอบ 4.16 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. อาหารสูตร ½MS

ข. อาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล

Mahasarakham University



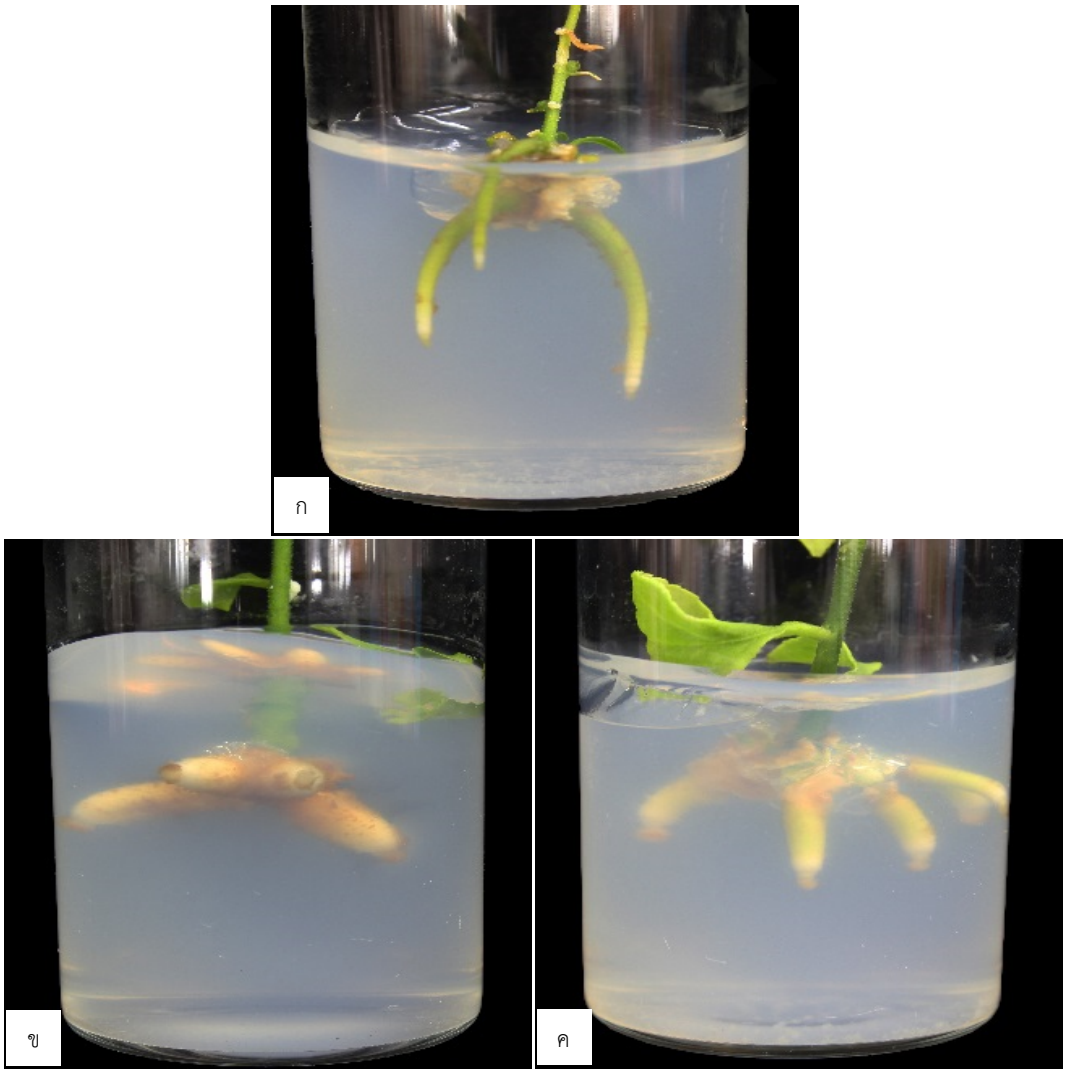
ภาพประกอบ 4.17 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. IAA 0.5 มก/ล

ข. IAA 1.0 มก/ล

ค. IAA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



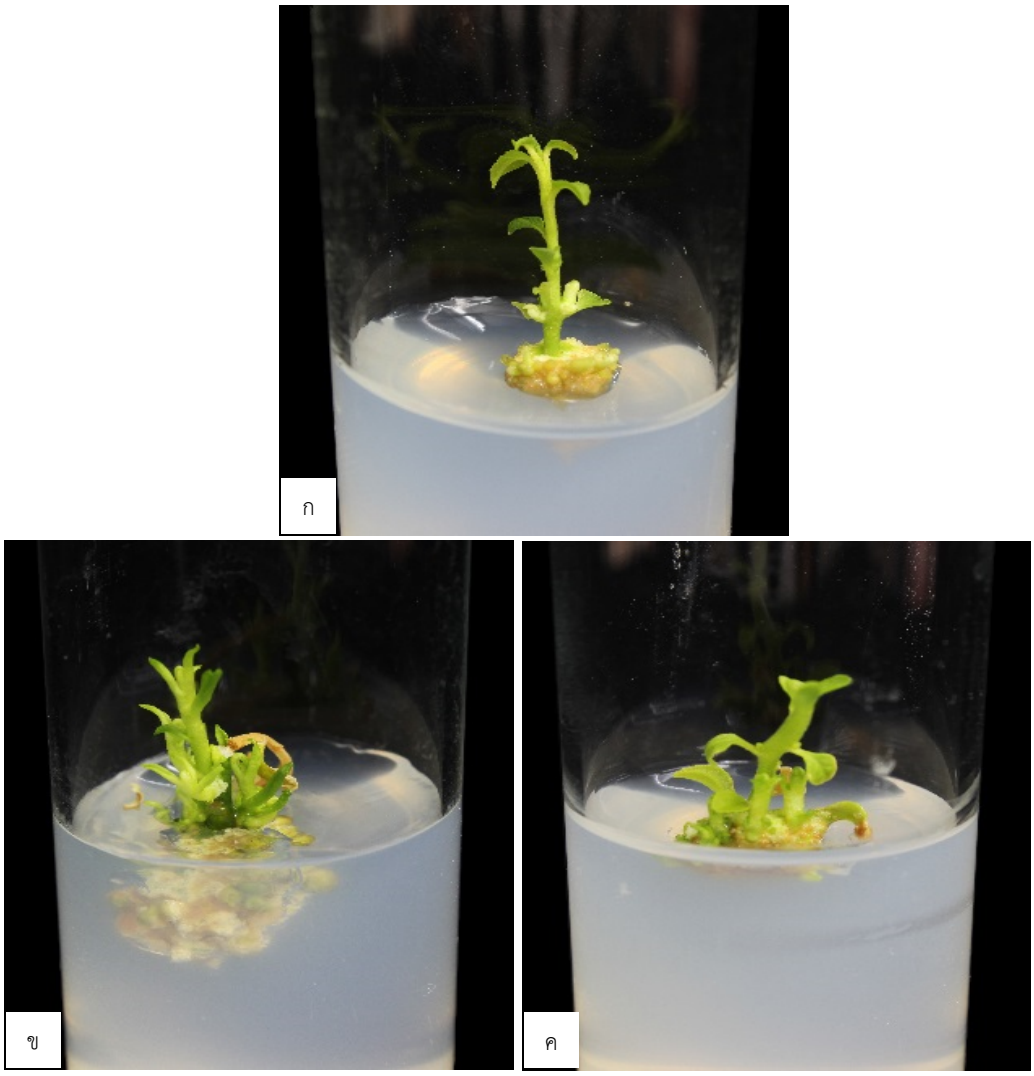
ภาพประกอบ 4.18 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. NAA 0.5 มก/ล

ข. NAA 1.0 มก/ล

ค. NAA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



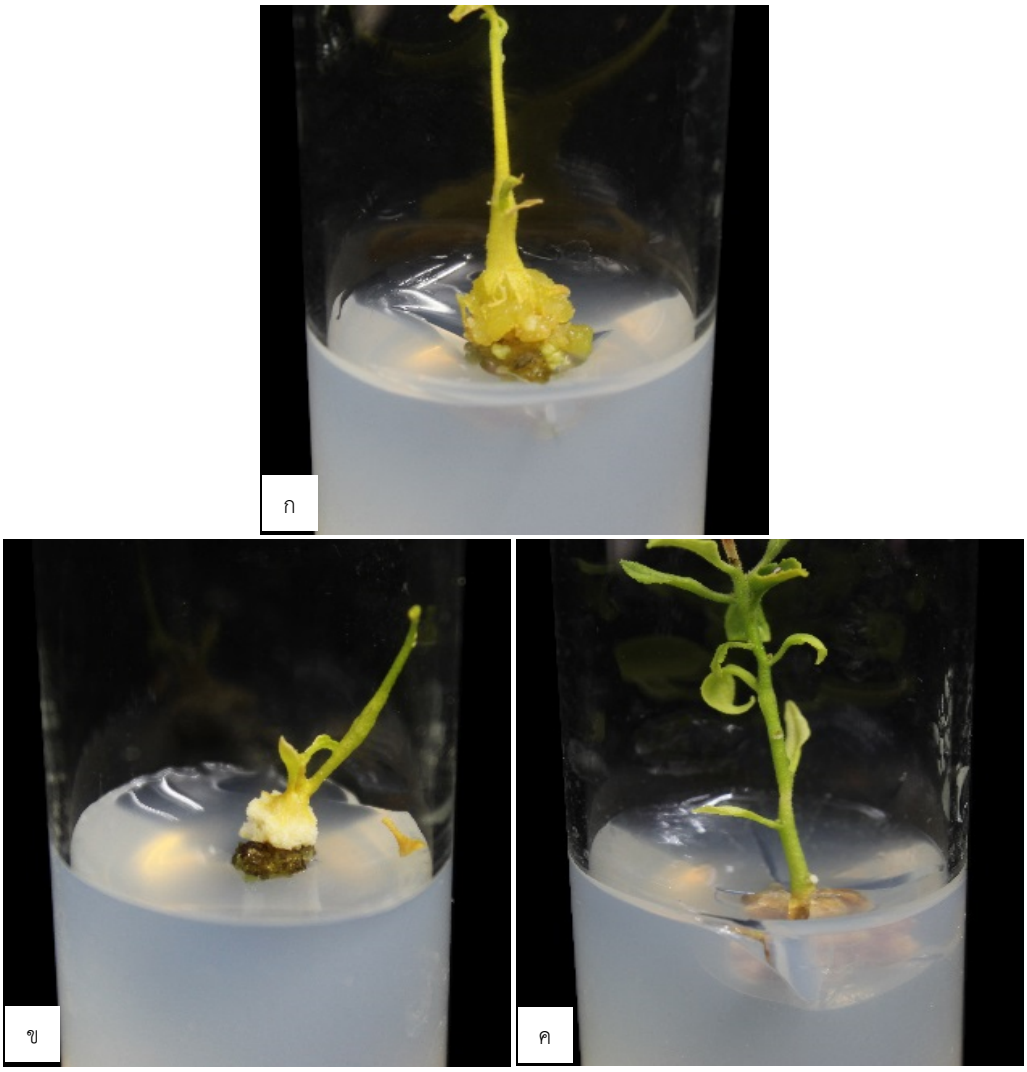
ภาพประกอบ 4.19 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. BA 0.5 มก/ล

ข. BA 1.0 มก/ล

ค. BA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



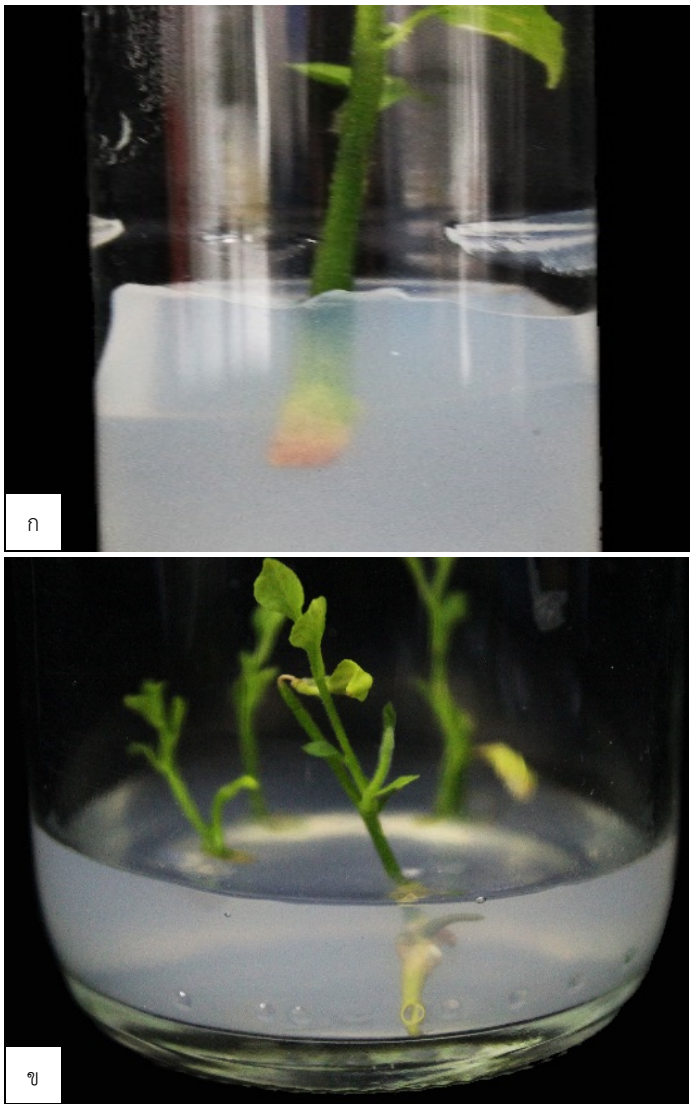
ภาพประกอบ 4.20 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. TDZ 0.5 มก/ล

ข. TDZ 1.0 มก/ล

ค. TDZ 1.5 มก/ล

Mahasarakham University

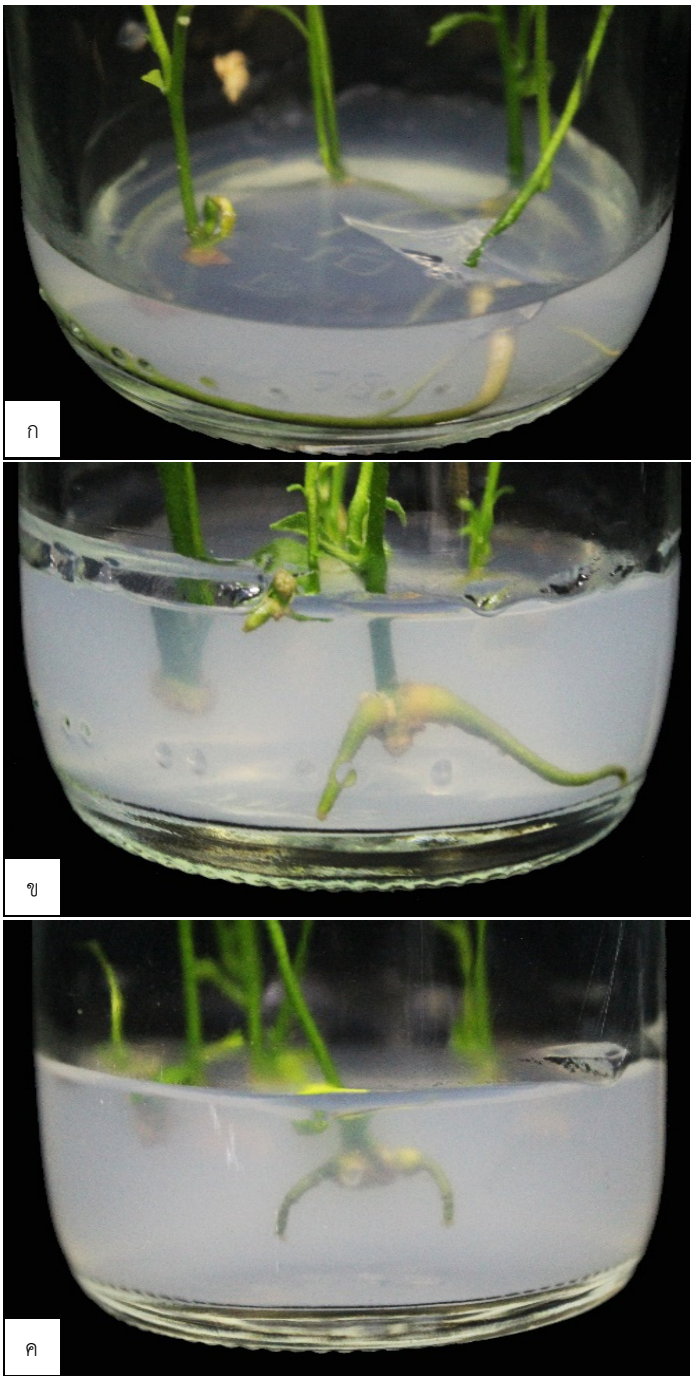


ภาพประกอบ 4.21 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของปลายยอดบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. อาหารสูตร ½MS

ข. อาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล

Mahasarakham University



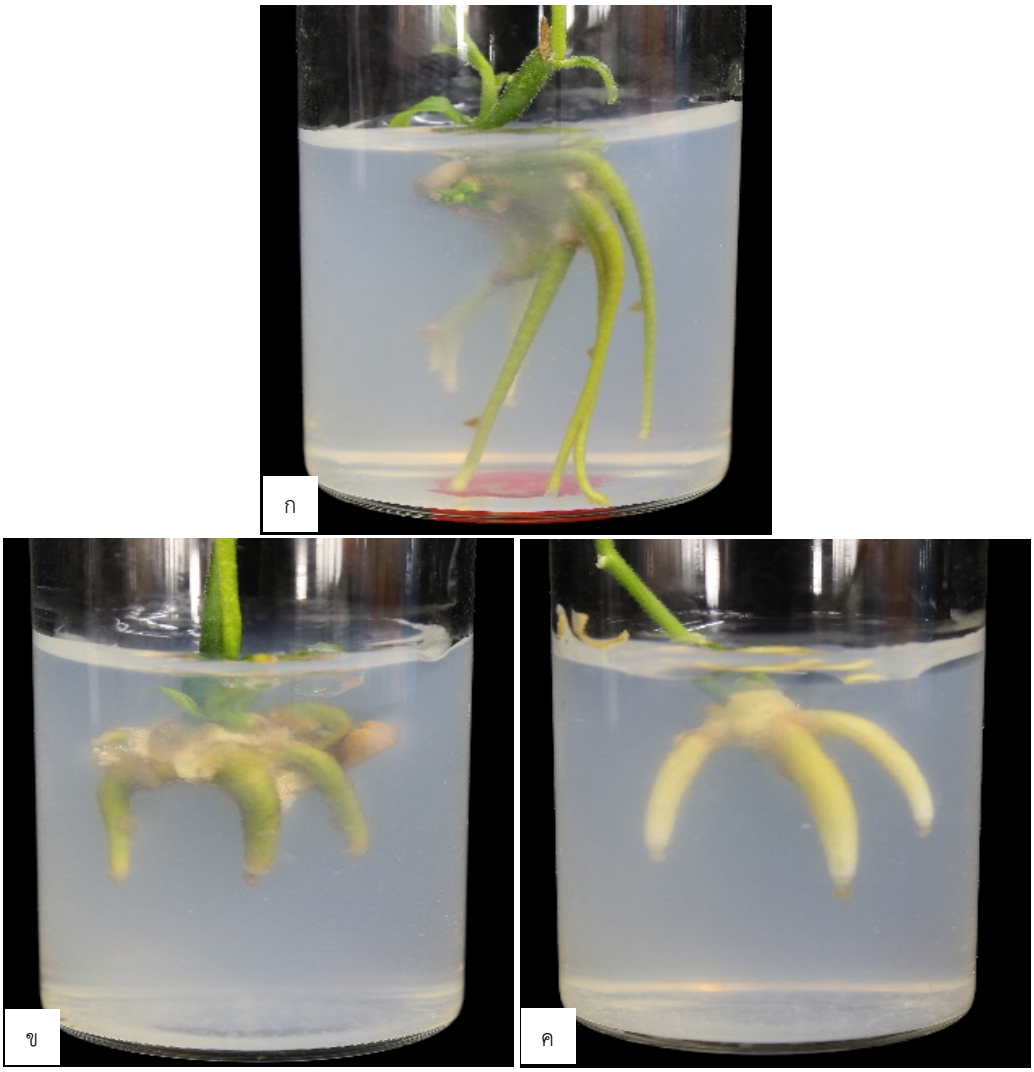
ภาพประกอบ 4.22 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของปลายยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. IAA 0.5 มก/ล

ข. IAA 1.0 มก/ล

ค. IAA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



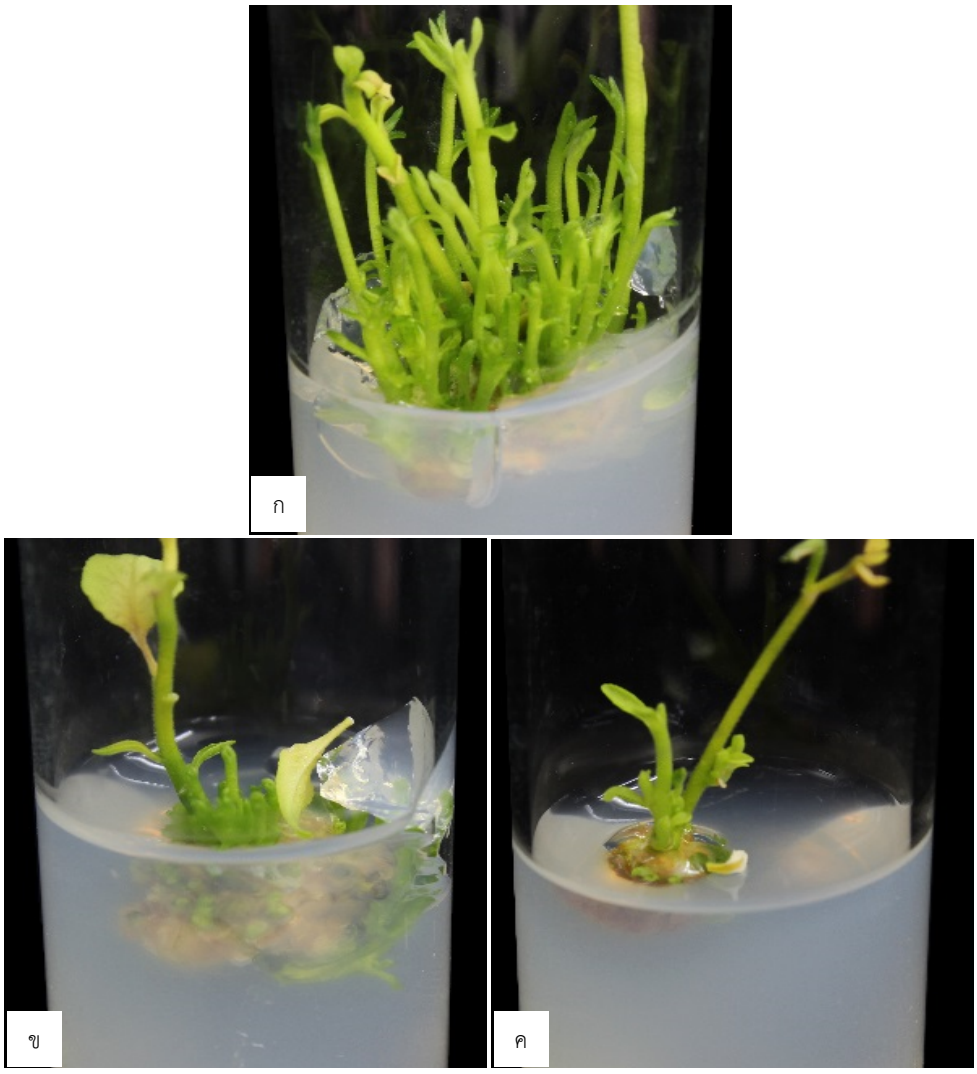
ภาพประกอบ 4.23 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของปลายยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. NAA 0.5 มก/ล

ข. NAA 1.0 มก/ล

ค. NAA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



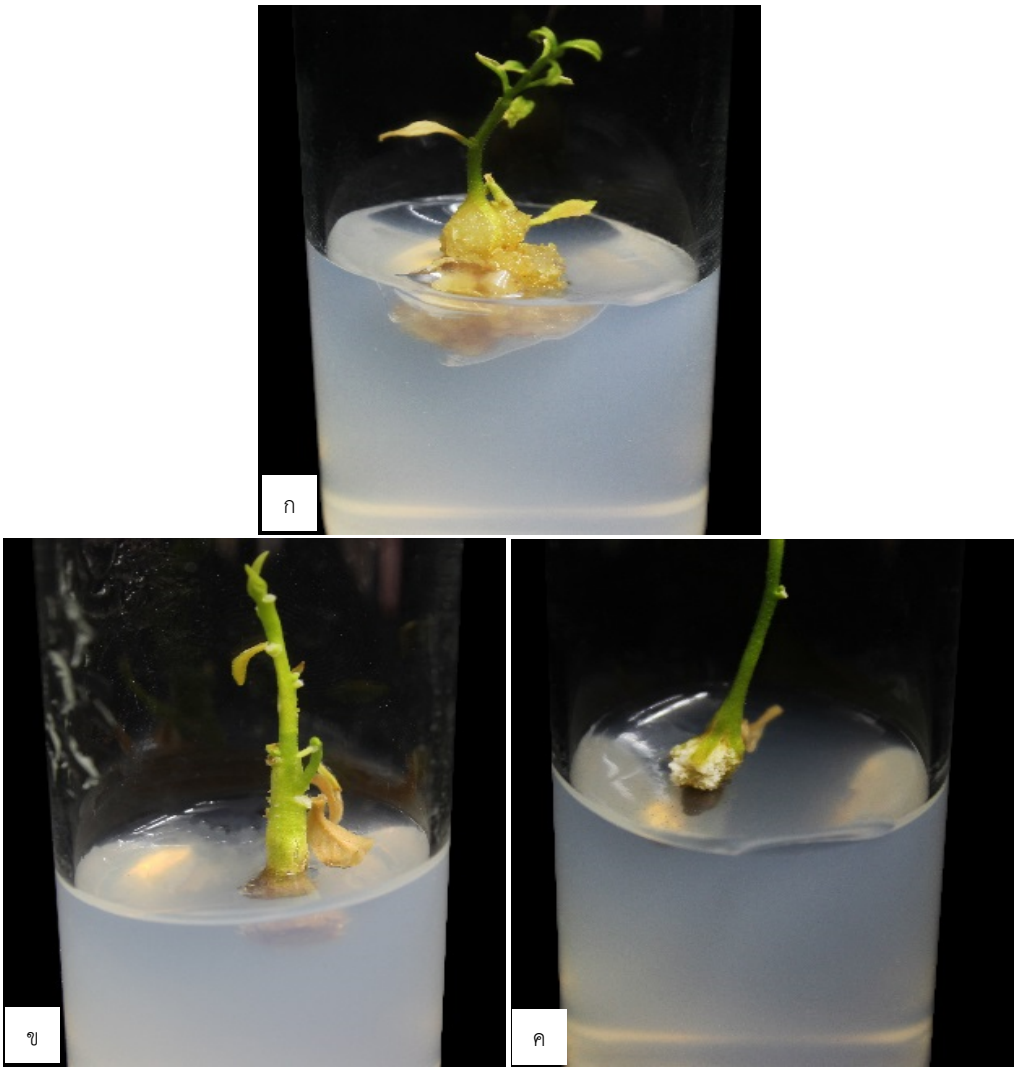
ภาพประกอบ 4.24 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของปลายยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. BA 0.5 มก/ล

ข. BA 1.0 มก/ล

ค. BA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



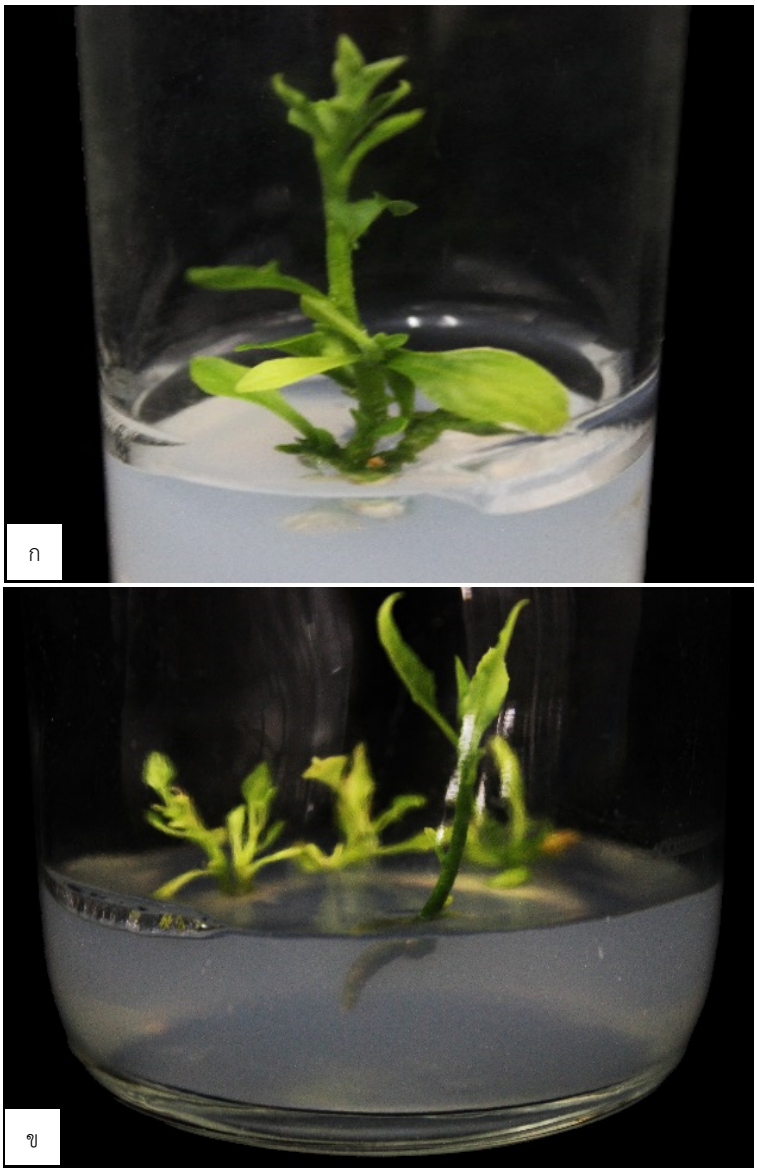
ภาพประกอบ 4.25 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของปลายยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. TDZ 0.5 มก/ล

ข. TDZ 1.0 มก/ล

ค. TDZ 1.5 มก/ล

Mahasarakham University

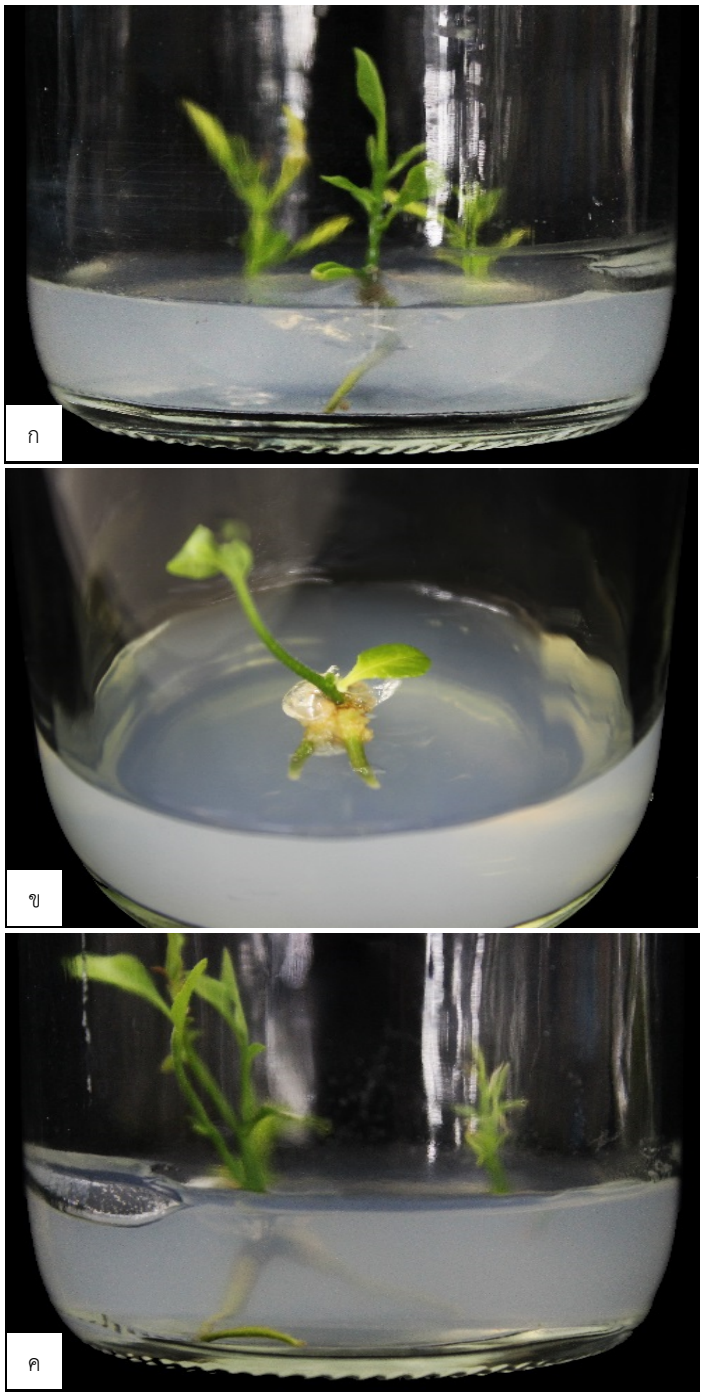


ภาพประกอบ 4.26 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. อาหารสูตร ½MS

ข. อาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล

Mahasarakham University



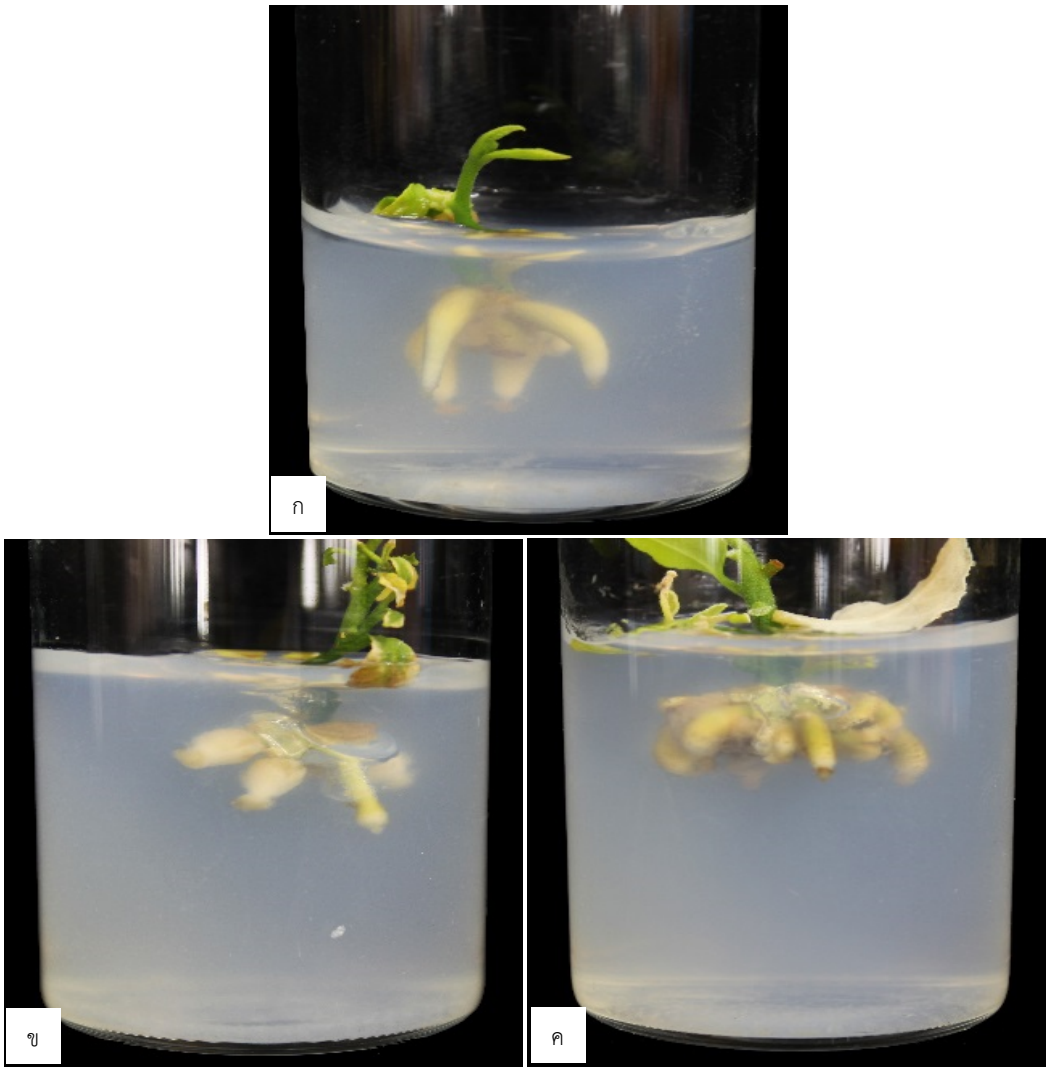
ภาพประกอบ 4.27 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. IAA 0.5 มก/ล

ข. IAA 1.0 มก/ล

ค. IAA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



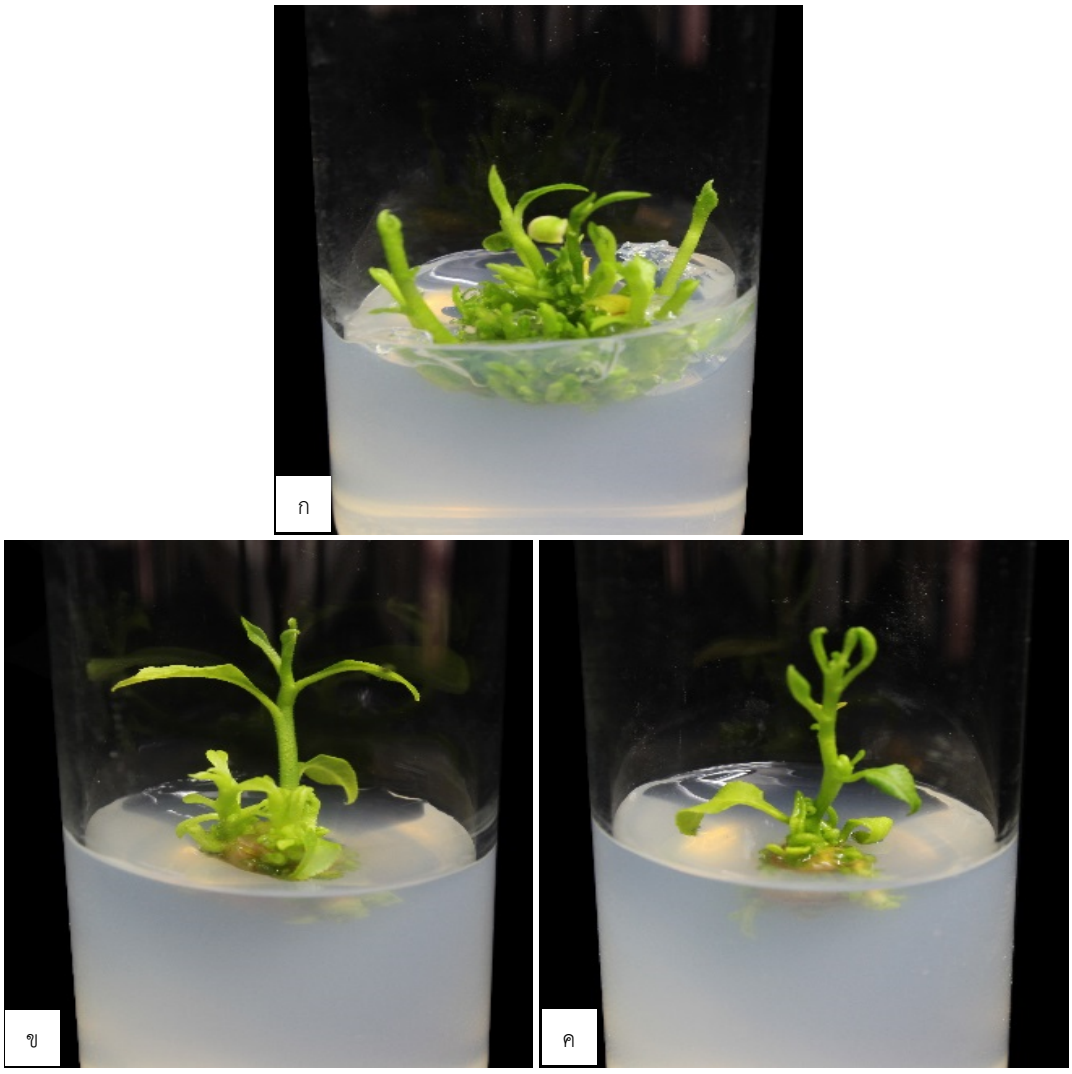
ภาพประกอบ 4.28 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. NAA 0.5 มก/ล

ข. NAA 1.0 มก/ล

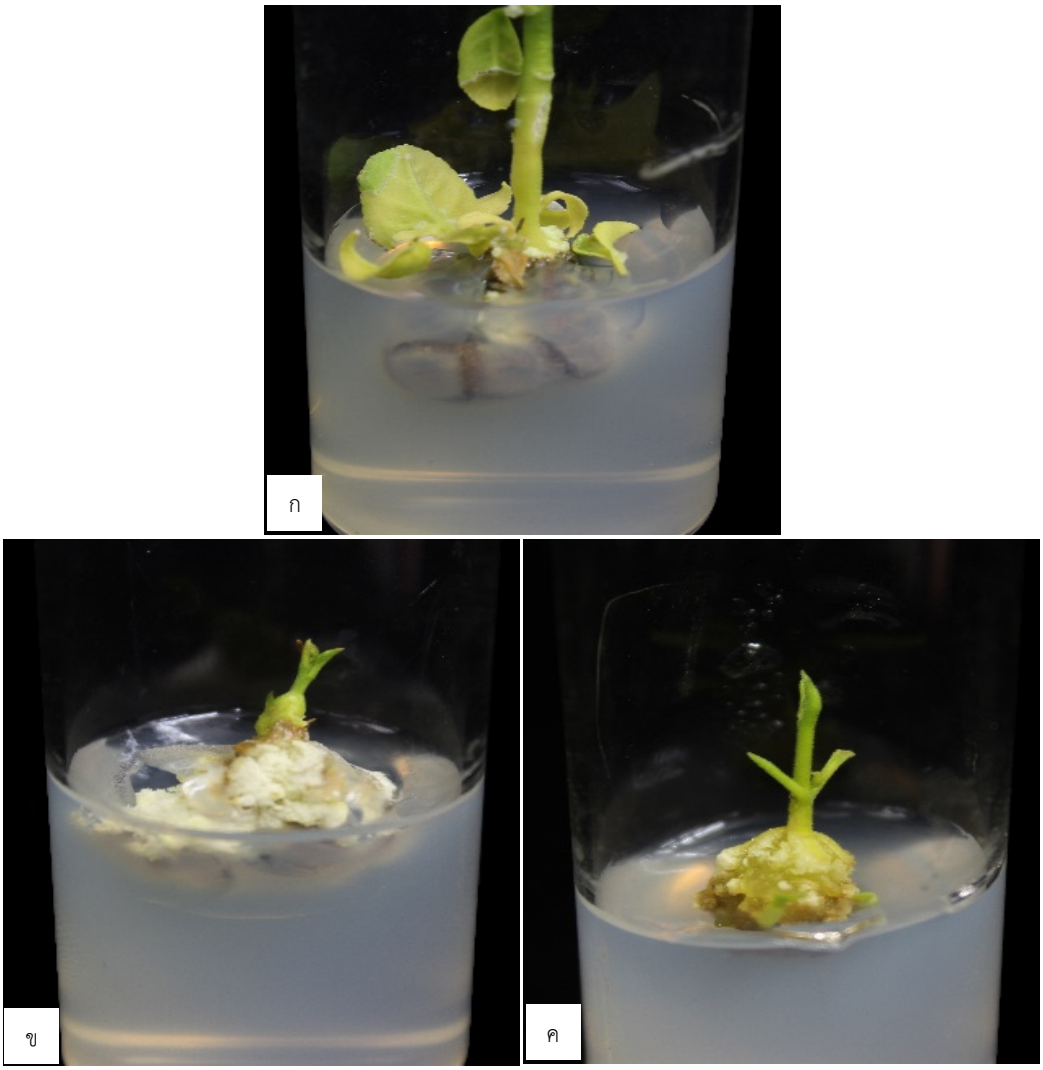
ค. NAA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.29 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์
ก. BA 0.5 มก/ล
ข. BA 1.0 มก/ล
ค. BA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



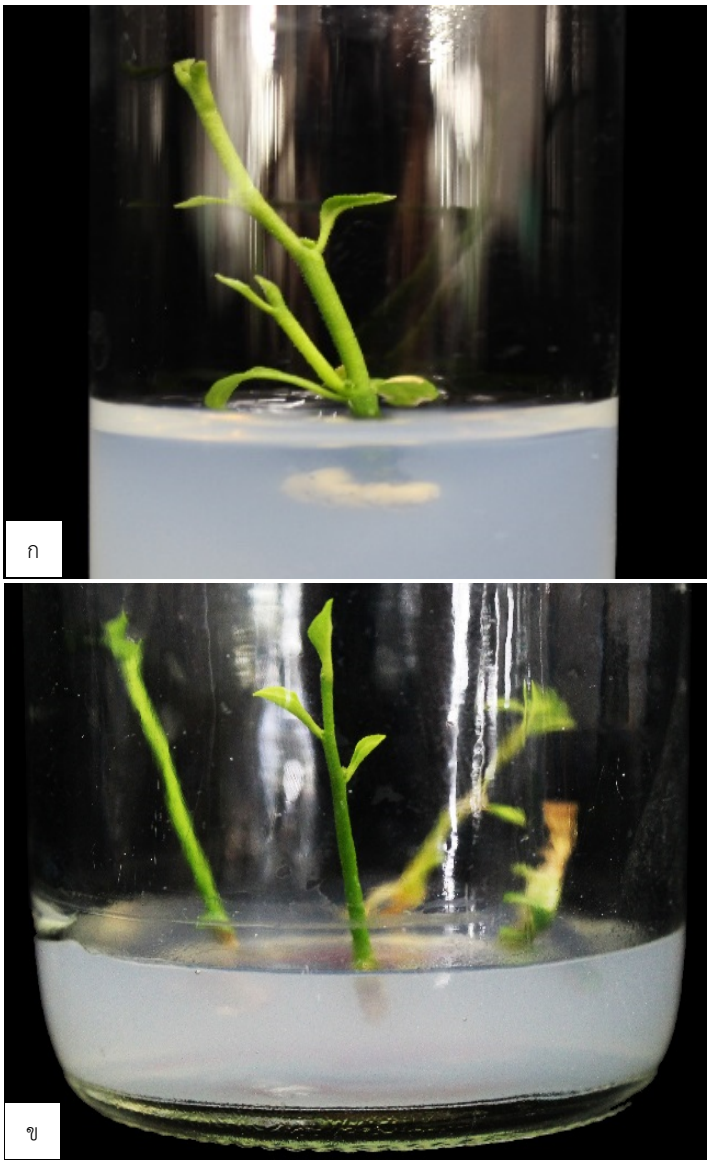
ภาพประกอบ 4.30 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของตาข้างบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. BA 0.5 มก/ล

ข. BA 1.0 มก/ล

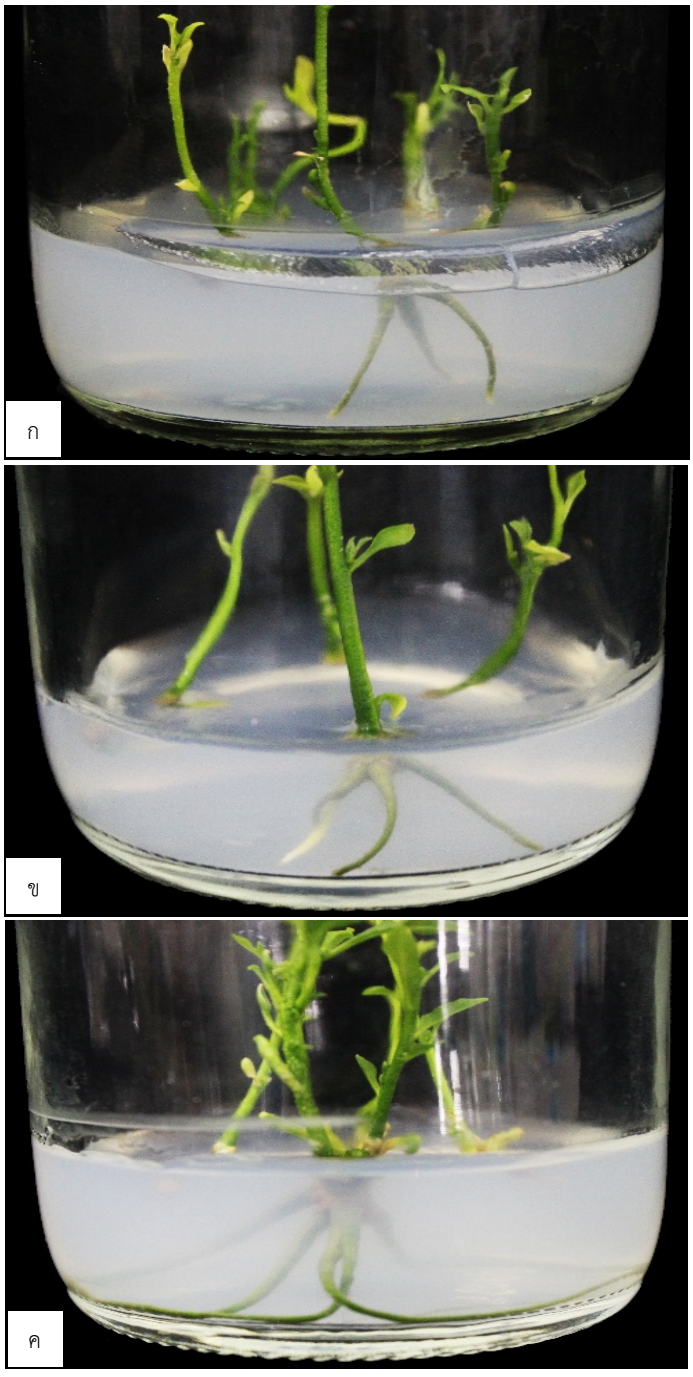
ค. BA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.31 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยง บนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์
ก. อาหารสูตร ½MS
ข. อาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล

Mahasarakham University



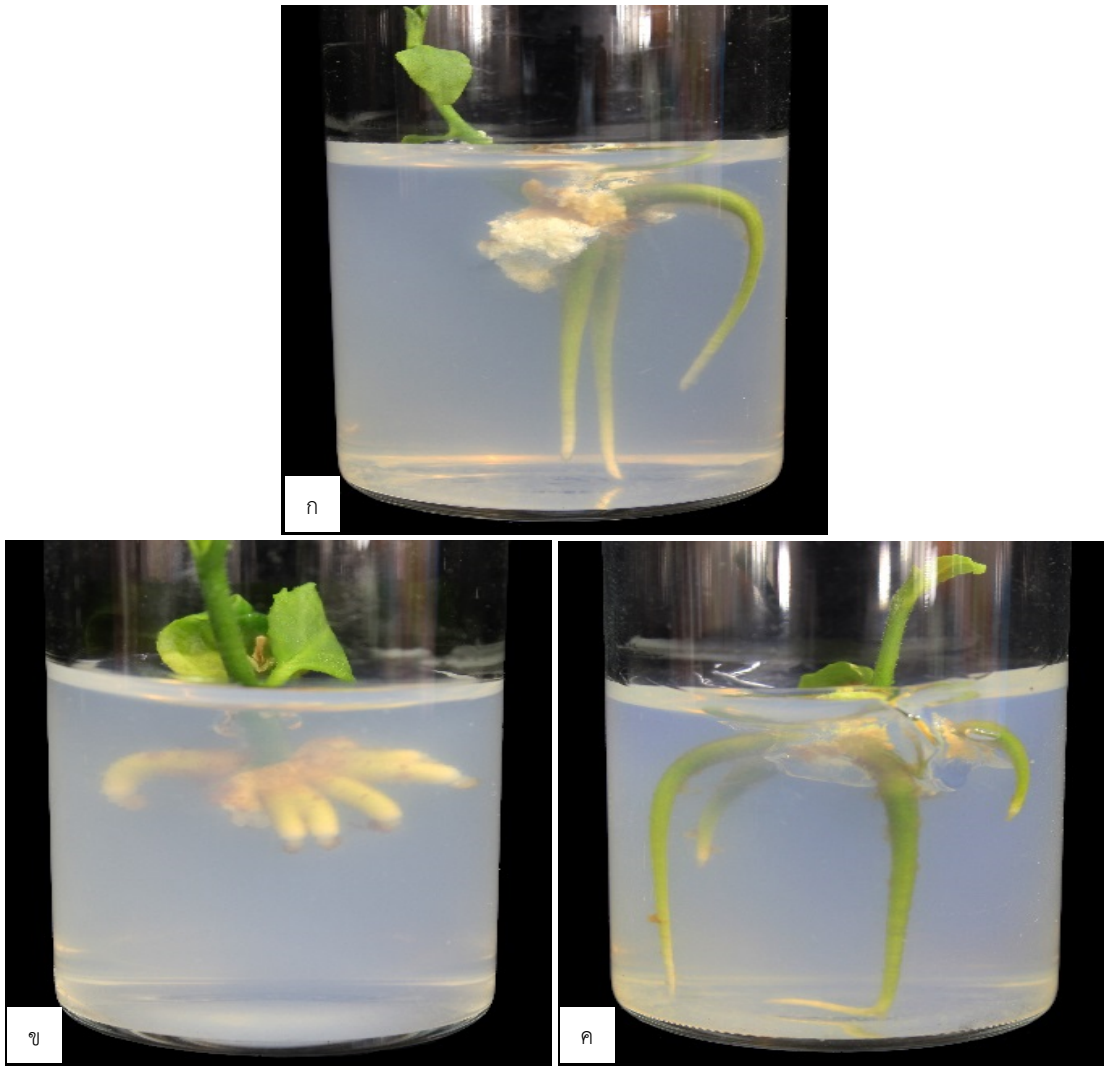
ภาพประกอบ 4.32 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. IAA 0.5 มก/ล

ข. IAA 1.0 มก/ล

ค. IAA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



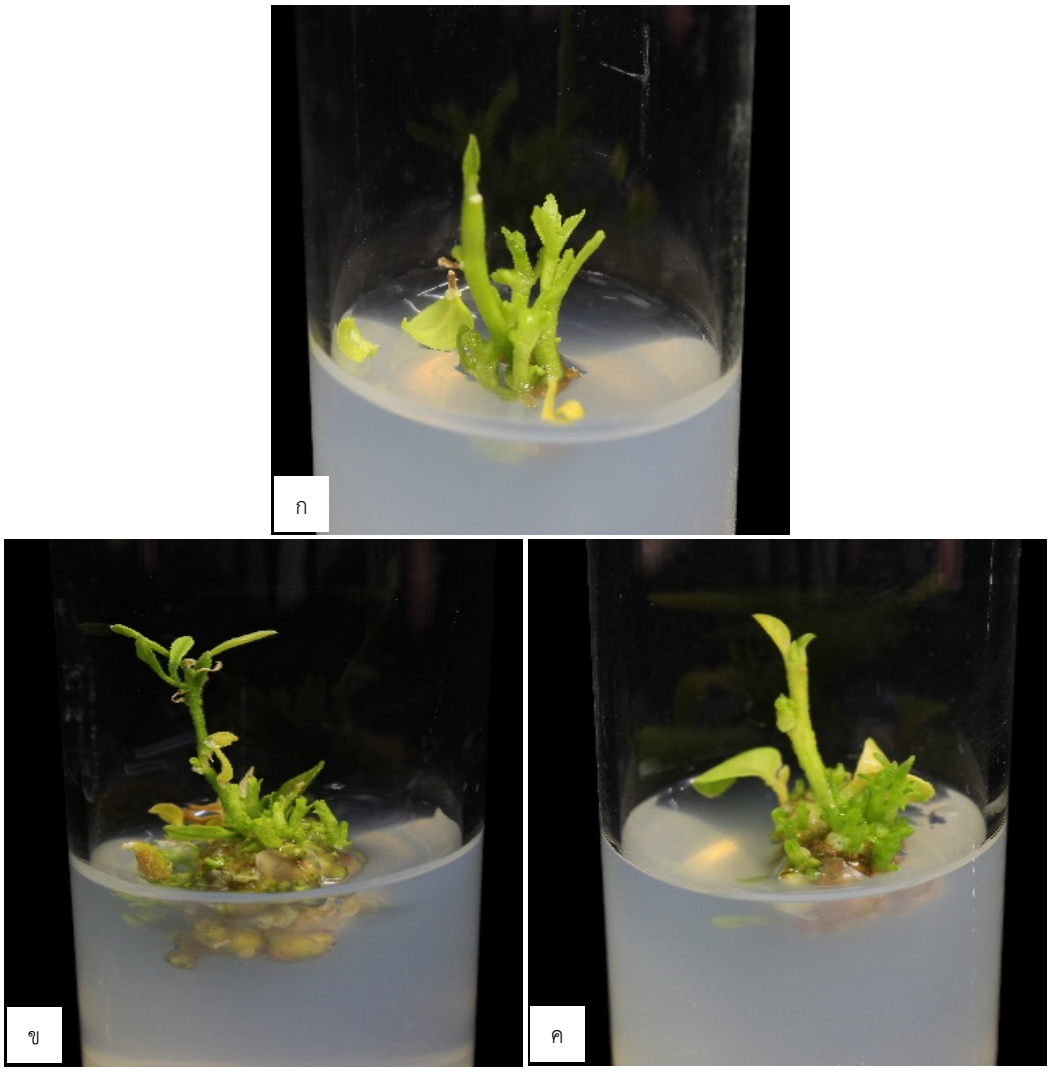
ภาพประกอบ 4.33 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. NAA 0.5 มก/ล

ข. NAA 1.0 มก/ล

ค. NAA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



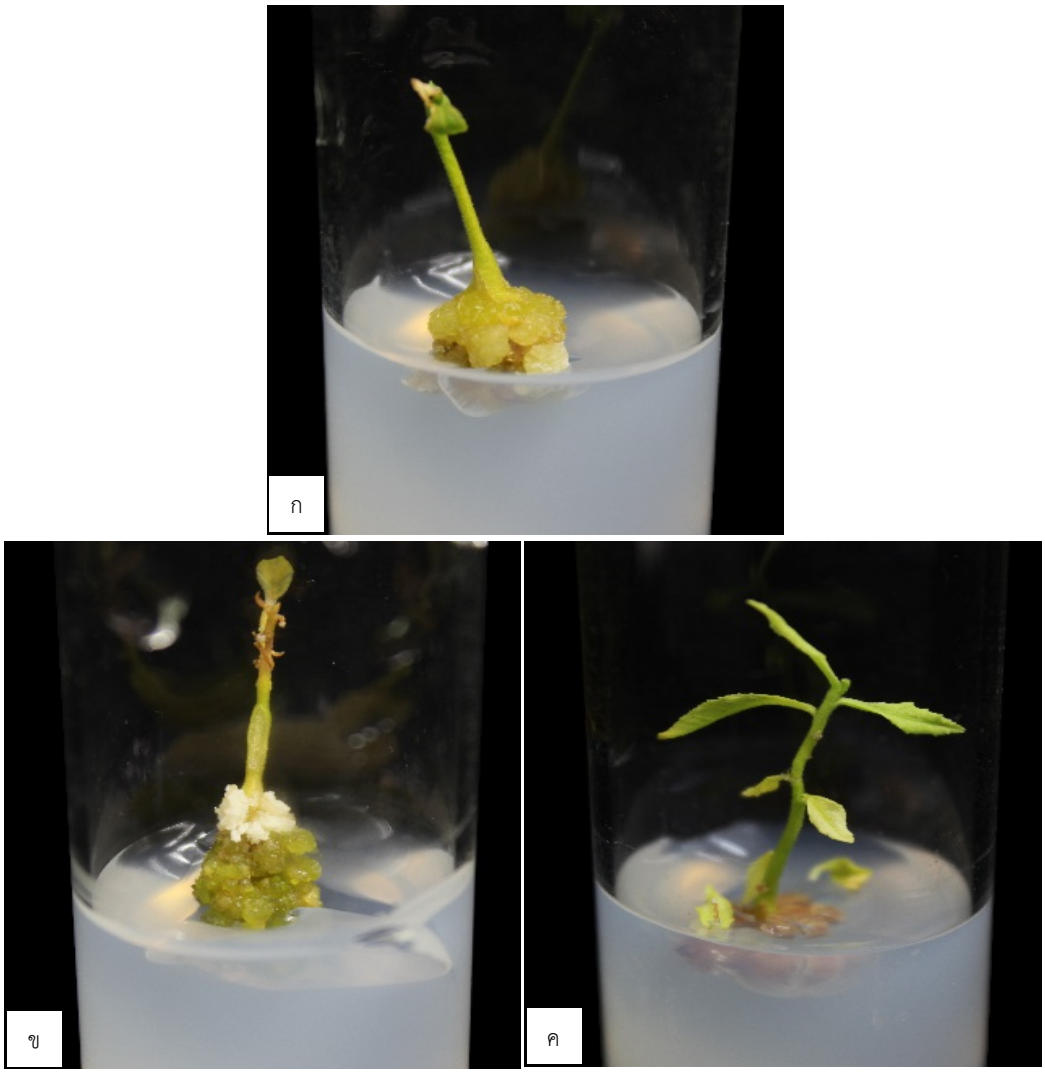
ภาพประกอบ 4.34 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. BA 0.5 มก/ล

ข. BA 1.0 มก/ล

ค. BA 1.5 มก/ล

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.35 ลักษณะของรากมะตูมเมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. TDZ 0.5 มก/ล

ข. TDZ 1.0 มก/ล

ค. TDZ 1.5 มก/ล

Mahasarakham University

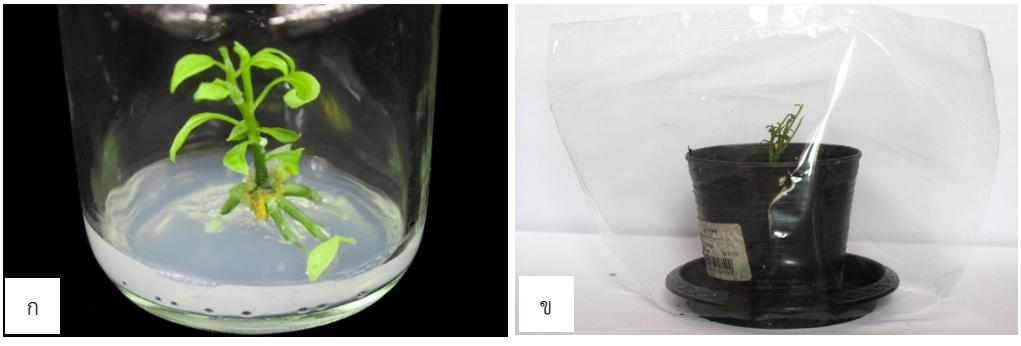
6. การย้ายออกปลูก

นำต้นกล้ามะตูมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ความยาวยอด 5 ซม. ที่มีรากสมบูรณ์ แข็งแรง (ภาพประกอบ 4.36 ก) นำไปปรับสภาพในอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ นำมาไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้รับแสงฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±1^{O}C จากนั้นนำไปปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำ ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันและนำถุงพลาสติกใสที่เจาะรูมาคลุมไว้ (ภาพประกอบ 4.36 ข) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วจึงนำถุงพลาสติกใสออก เมื่อย้ายออกปลูกเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้ามะตูมที่ปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วน 1:1:1 ตามลำดับ ต้นกล้ามะตูมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตได้ดีที่สุด 86.66% ความสูงเฉลี่ย 7.80 ซม. (ตาราง 4.8) ลำต้นและใบมีสีเขียว ใบแผ่กว้าง (ภาพประกอบ 4.37) ในขณะที่ต้นกล้าที่นำไปปลูกในกระถางที่ดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วน 1:1:2 ตามลำดับ ต้นกล้ามะตูมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำที่สุด 40% ความสูงเฉลี่ย 7.00 ซม. ลำต้นและใบมีสีเขียว ใบแผ่กว้าง (ภาพประกอบ 4.37) จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าความสูงเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 4.6)

ตาราง 4.6 อิทธิพลของดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วนแตกต่างกัน เมื่อย้ายต้นกล้ามะตูมออกปลูกเป็นเวลา 16 สัปดาห์

อัตราส่วน			เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต	ความสูงเฉลี่ย (ซม.) (Mean±SE)
ดิน	ทราย	แกลบดำ		
1	1	1	86.66	7.80±0.25^{a}
2	1	1	60.00	7.85±0.22^{a}
1	2	1	40.00	7.00±0.70^{b}
1	1	2	60.00	7.96±0.20^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT



ภาพประกอบ 4.36 ต้นกล้ามะตูมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

ก. ต้นกล้ามะตูมหลังจากปรับสภาพบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ข. ต้นกล้ามะตูมที่ปลูกในกระถางที่นำถุงพลาสติกใสมาคลุม

Mahasarakham University

ภาพประกอบ 4.37 ต้นมะตูมที่ปลูกบนกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วนต่างๆ เป็นเวลา 16 สัปดาห์

ก. ต้นมะตูมที่ปลูกบนกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วน 1:1:1

ข. ต้นมะตูมที่ปลูกบนกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วน 2:1:1

ค. ต้นมะตูมที่ปลูกบนกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วน 1:2:1

ง. ต้นมะตูมที่ปลูกบนกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วน 1:1:2

Mahasarakham University

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกาลัดจีน

จากการศึกษาอิทธิพลของ NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำใบอ่อนเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าใบอ่อนเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 0.1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 79.16% เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย 1.06 ซม. แคลลัสที่ได้มีลักษณะเป็นแคลลัสแบบเกาะกันหลวมๆ และเกาะกันแน่น สีเหลืองอ่อน เขียว ส้มและสีขาว บริเวณที่ใบอ่อนเกาลัดจีนสัมผัสกับอาหารพบว่ามีการหลั่งสารสีดำหรือสีน้ำตาลรอบๆ อาหารที่เพาะเลี้ยง เนื่องจากเกาลัดจีนเป็นพืชที่มีน้ำยาง ดังนั้นใบอ่อนเกาลัดจีนจึงมีการหลั่งน้ำยางและสารฟีนอลิก (Phenolic Compounds) ออกมาบริเวณโดยรอบเนื้อเยื่อ จึงส่งผลให้มีชิ้นส่วนแคลลัสบางชิ้นส่วนมีสีดำ (Necrotic Tissue) ทำให้แคลลัสตาย (คำนูณ กาญจนภูมิ, 2542) ในขณะที่ใบอ่อนเกาลัดจีนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Liu และคณะ 2008) เพาะเลี้ยงใบอ่อนและลำต้นอ่อนเกาลัดจีน บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.2 มก/ล สามารถชักนำใบอ่อนและ ลำต้นอ่อนให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด ซึ่ง BA เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มไซโตไคนินและ NAA เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน ซึ่งออกซินและไซโทไคนินมีผลต่อการแบ่งเซลล์โดยออกซินไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase จึงทำให้เกิดการสังเคราะห์ DNA และไซโทไคนินจะไปกระตุ้นการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโตซิส (Mitosis) และการแบ่งไซโทพลาซึม (Cytokinesis) (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546)

นำข้อเกาลัดจีนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.0 มก/ล เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นนำแคลลัสไปปรับสภาพบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและสีดำ เนื่องจากแคลลัสมีการหลั่งสารฟีนอลิกออกมารอบๆ ส่งผลให้แคลลัสบางส่วนตายแล้วไปชักนำให้แคลลัสที่อยู่บริเวณรอบๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและสีดำ (คำนูณ กาญจนภูมิ, 2542) จากนั้นนำแคลลัสที่ได้ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 มก/ล สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้ 100% และมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยมากที่สุด 1.62 ซม. ในขณะที่แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้น้อยที่สุดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.07 ซม. ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2007) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออวุลของเกาลัดจีน พบว่าอาหารสูตร Woody Plant Medium (WPM) ที่เติม 2,4-D 4 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 2,4-D เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซินซึ่งจะมีผลต่อการสังเคราะห์ DNA โดยมีบทบาทในการกระตุ้นเอนไซม์ DNA polymerase (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546) และการยืดยาวของเซลล์

Mahasarakham University

โดยเซลล์ที่ได้รับออกซินในปริมาณที่เหมาะสมจะปลดปล่อย H^+ เข้าไปในเซลล์ส่งผลให้ค่า pH ลดลง ทำให้ผนังเซลล์คลายตัวและเกิดความยืดหยุ่นของผนังเซลล์ (นภดล จรัสสัมฤทธิ์, 2537) เมื่อผนังเซลล์คลายตัวจะไม่สามารถคืนสภาพเดิมได้ จึงทำให้ค่าชลศักย์ของน้ำ (water potential) ในเซลล์ลดลง ส่งผลให้น้ำเคลื่อนที่เข้าไปในเซลล์จึงทำให้เซลล์ขยายขนาดขึ้น (ลิลลี่ กาวีตั๊ะ และคณะ, 2552) แต่ถ้าได้รับปริมาณของ 2,4-D มากเกินไป 2,4-D ไปยับยั้งกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอน (Electron Transport System) โดยเอนไซม์ ACC-Synthase (1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid Synthase) เร่งปฏิกิริยา 2,4-D ได้เอทิลีน (Ethylene) และไซยาไนด์ (Cyanide) เป็นผลิตภัณฑ์โดยไซยาไนด์จะไปยับยั้ง Cytochrome Oxidase จึงทำให้กระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนถูกรบกวนและเป็นพิษต่อเซลล์ (Fabio *et al*., 2007)

5.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม

1. อิทธิพลของชิ้นส่วนอวัยวะพืชต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส ยอดและราก

นำเมล็ดมะตูมไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล เพื่อชักนำให้เกิดต้นอ่อนเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำชิ้นส่วนของราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนของราก ใบเลี้ยงและปลายยอดสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 100% เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย 0.98, 1.11 และ 0.86 ซม. ตามลำดับ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงใบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสน้อยที่สุด 84.78% เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย 0.39 ซม. ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Prematilake *et al.* (2006) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนต่างๆ ของมะตูม ได้แก่ ใบเลี้ยง ใบอ่อน ไฮโปคอทิลและราก มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin, NAA, BAP, IAA และ Zeatin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะไม่มีแสง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 90%

เมื่อแคลลัสอายุ 4 สัปดาห์ แคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดในอาหารสูตรเดิม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสจากชิ้นส่วนของใบเลี้ยงสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ดีที่สุด 93.18% จำนวนยอดเฉลี่ย 5.21 ยอด/แคลลัส ความยาวยอดเฉลี่ย 1.90 ซม. สอดคล้องกับงานวิจัยของวิภารัตน์ รัตนะ (2542) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม โดยนำเมล็ดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เมื่อต้นกล้าอายุได้ 30 วัน นำชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าได้แก่ ยอด ลำต้น ใบเลี้ยงและรากมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อศึกษาอวัยวะที่เหมาะสมในการเกิดยอด จากผลการทดลองพบว่า ใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 28.75 ยอด เนื่องจากแคลลัสและยอดสามารถถูกชักนำให้เกิดได้จากชิ้นส่วนของอวัยวะพืชหลายๆ ชนิดซึ่งเกิดจากความแตกต่างทางสรีรวิทยาของชิ้นส่วนพืช ได้แก่ชนิดของเนื้อเยื่อที่อยู่ในชิ้นส่วนพืชและปริมาณฮอร์โมนที่อยู่ภายในอวัยวะพืช โดยอวัยวะพืชแต่ละชนิดมีการ

Mahasarakham University

สร้างฮอร์โมนพืชได้แตกต่างกัน (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546) ส่งผลทำให้ชิ้นส่วนพืชแต่ละชนิดตอบสนองต่อการเกิดแคลลัสได้แตกต่างกัน

จากนั้นนำยอดที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 10 มก/ล ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มก/ล เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่ายอดที่เกิดจากแคลลัสของใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 66.66% จำนวนรากเฉลี่ย 2.90 ราก/ต้น ความยาวรากเฉลี่ย 0.52 ซม. ในขณะที่ยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง และปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ BA และ TDZ ทุกความเข้มข้น ไม่สามารถชักนำให้เกิดราก เนื่องจาก IBA, IAA และ NAA เป็นฮอร์โมนพืชที่อยู่ในกลุ่มออกซินเมื่อใช้ออกซินที่ความเข้มข้นสูงจะกระตุ้นการเกิดรากพิเศษ (adventitious root) แต่ออกซินความเข้มข้นสูงส่งผลยับยั้งการยืดยาวของราก (Prematilake *et al.,* 2006) เนื่องจากออกซินความเข้มข้นสูงสามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชสร้างเอทิลีนซึ่งมีอิทธิพลยับยั้งการยืดตัวของราก จึงทำให้รากที่ได้มีความยาวไม่มากนักและเอทิลีนยังมีผลต่อการหลุดร่วงของใบ (ลิลลี่ กาวีต๊ะ และคณะ, 2552) จึงทำให้ต้นอ่อนเกิดการหลุดร่วงของใบ จากผลการทดลองพบว่าการเติมฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซินร่วมกัน สามารถชักนำยอดให้เกิดรากได้ดีกว่าการเติมออกซินเพียงชนิดเดียว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rajesh *et al.* (2008) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนของตาข้างมาชักนำให้เกิดยอด จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ ½MS ที่เติม IBA ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน พบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 49.0 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA 5.7 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด

2. อิทธิพลของฮอร์โมนชนิดต่างๆ ต่อการชักนำตาข้างมะตูมให้เกิดแคลลัส ยอดและราก

นำตาข้างของต้นอ่อนมะตูมที่ได้จากการเพาะเมล็ดในหลอดทดลองมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม IAA 1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและแคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ในอาหารสูตรเดิม จากนั้นนำยอดที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มก/ล เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 76.92% จำนวนรากเฉลี่ย 3.10 ราก/ต้น ความยาวรากเฉลี่ย 0.62 ซม. ในขณะที่เมื่อเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ BA และ TDZ ทุกความเข้มข้น พบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดราก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rajesh และคณะ (2008) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนของตาข้างมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP, Kinetin ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลาเวลา 30 วันพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 8.84 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA 5.7 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด จำนวนยอดเฉลี่ย 9.67 ยอด/ข้อ ความยาวยอดเฉลี่ย 3.1 ซม. จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ ½MS ที่เติม IBA ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน พบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 49.0 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA

Mahasarakham University

5.7 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 100% จำนวนรากเฉลี่ย 2.33 ราก/ยอด ความยาวยอดเฉลี่ย 4.07 ซม. และเส้นผ่าศูนย์กลางของรากเฉลี่ย 1.88 มม.

3. อิทธิพลของฮอร์โมนพืชชนิดต่างๆ ต่อการชักนำลำต้นเหนือใบเลี้ยงให้เกิดแคลลัส ยอดและราก

นำลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่ได้จากต้นอ่อนในหลอดทดลองมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่าลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ 2,4-D ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100% ในขณะที่ลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนพบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Hazeena และ Sulekha (2008) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม โดยนำชิ้นส่วนของใบเลี้ยงมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, 2,4-D และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.2 ไมโครโมล ร่วมกับ 2,4-D 2.26 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 100% น้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ย 3.5 กรัม

เมื่อแคลลัสอายุ 4 สัปดาห์ แคลลัสสามารถพัฒนาเป็นยอดในอาหารสูตรเดิม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสที่เกิดจากลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มก/ล สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ดีที่สุด 100% จำนวนยอดเฉลี่ย 58.10 ยอด/แคลลัส ความยาวยอดเฉลี่ย 1.35 ซม. สอดคล้องกับผลการทดลองของ Kuldeep และd Narender (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนของปล้องมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP, Kinetin, 2,4-D, IAA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.0 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 80% จำนวนยอดเฉลี่ย 8 ยอด/ปล้อง ความยาวยอดเฉลี่ย 4.2 ซม. และสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 80% จากนั้นนำแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.0 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 80% จำนวนยอดเฉลี่ย 8.0 ยอด/แคลลัส และความยาวยอดเฉลี่ย 5.4 ซม. BA เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มไซโตไคนิน โดยจะมีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์และสามารถขยายขนาดของแวคิวโอลจึงทำให้เซลล์พืชมีการขยายขนาด ถ้าใช้ร่วมกับฮอร์โมนพืชในกลุ่มของออกซินในปริมาณที่เหมาะสม จะไปกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์มากยิ่งขึ้น และสามารถพัฒนาไปเป็นต้นพืชได้ 2,4-D เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน จะมีผลต่อการแบ่งเซลล์โดยไปกระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีน และยังมีผลต่อการขยายขนาดของเซลล์โดยเฉพาะการขยายขนาดของผนังเซลล์ (ชวนพิศ แดงสวัสดิ์, 2544) และจากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ 2,4-D โดยความเข้มข้นของ BA เท่าเดิม ส่งผลให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นยอดได้ลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการใช้ 2,4-D ในระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไปจะส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช

จากนั้นนำยอดที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 10 มก/ล ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มก/ล เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.5

Mahasarakham University

มก/ล สามารถชักนำยอดที่เกิดจากแคลลัสของลำต้นเหนือใบเลี้ยงให้เกิดรากได้ดีที่สุด 84.61% จำนวนรากเฉลี่ย 5.00 ราก/ต้น ความยาวรากเฉลี่ย 0.60 ซม. ในขณะที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารความคุมการเจริญเติบโตของพืชและที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ BA และ TDZ ทุกความเข้มข้นพบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดราก แตกต่างจากงานวิจัยของ Kuldeep และ Narender (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนของปล้องมาชักนำให้เกิดราก จากนั้นนำยอดที่ได้จากแคลลัสและยอดที่ได้จากปล้องมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ ½MS ที่เติม IBA, NAA และ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติม IAA 1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 60%

4. อิทธิพลของชิ้นส่วนพืชต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม

จากผลการทดลองชักนำชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นอ่อนมะตูมในหลอดทดลองให้เกิดแคลลัสและยอด บนอาหารสูตร MS ที่เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนพืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่ออาหารที่เพาะเลี้ยงแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากชิ้นส่วนพืชแต่ละชนิดมีปริมาณและชนิดของฮอร์โมนภายในชิ้นส่วนพืชไม่เท่ากัน ทำให้เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันมีการตอบสนองที่แตกต่างกัน ดังนั้นชนิดของชิ้นส่วนพืชจึงมีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดของมะตูม

เมื่อนำยอดที่เกิดจากแคลลัสของชิ้นส่วนพืชแต่ละชนิด ได้แก่ ราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือ ใบเลี้ยงและปลายยอด มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน IBA 10 มก/ล ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ทางสถิติและวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี Two-Way ANOVA พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยงและปลายยอด กับอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA 10 มก/ล ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนมีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก แต่ชนิดของชิ้นส่วนพืชไม่มีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดราก (ตารางที่ 13) เนื่องจากยอดที่ได้ถูกนำมาปรับสภาพในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชก่อนนำมาทำการทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำให้ปริมาณฮอร์โมนที่อยู่ภายในยอดที่เกิดจากแคลลัสของชิ้นส่วนพืชชนิดต่างๆ มีปริมาณที่ใกล้เคียงกันทำให้ชนิดของชิ้นส่วนพืชไม่มีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดราก

5. การย้ายออกปลูก

นำต้นกล้ามะตูมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองนำไปปรับสภาพในอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำไปปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำ ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้ามะตูมที่ปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วน 1:1:1 ต้นกล้ามะตูมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตได้ดีที่สุด 86.66% ความสูงเฉลี่ย 7.80 ซม. เนื่องจากดินประกอบด้วยอินทรีย์สารและอนินทรีย์สาร ซึ่งเป็นแหล่งธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและดำรงชีวิตของพืชโดยสามารถให้รากยึดเกาะได้อย่างมั่นคงแข็งแรง เก็บกักน้ำในดินและมีอากาศเพื่อให้รากสามารถหายใจได้ ทรายเป็นอนินทรีย์สารที่ประกอบด้วยหินก้อนเล็กๆ ทีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 0.05-2.00 มม. ความพรุนต่ำ โดยทรายจะมีคุณสมบัติไปเพิ่มช่องว่างอากาศในวัสดุ

Mahasarakham University

ปลูกให้เหมาะสม ทรายจะเข้าไปบริเวณช่องว่างในวัสดุปลูกซึ่งทำให้เกิดช่องว่างอากาศในดิน ซึ่งมีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำในวัสดุปลูกหากช่องว่างในวัสดุปลูกน้อยเกินไป จะส่งผลให้ปริมาณน้ำในวัสดุปลูกลดลงและพืชอาจขาดน้ำได้ แกลบดำเป็นอินทรีย์สารที่ประกอบด้วยลิกนินเป็นจำนวนมาก น้ำหนักเบา ความพรุนสูง ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพให้กับวัสดุปลูกโดยสามารถดูดความร้อนได้ดีจึงทำให้วัสดุปลูกเย็นและเก็บความชื้นได้นิยมนำมาปรับปรุงดินเนื่องจากทำให้ดินมีความร่วนซุยและอุ้มน้ำได้ดี (เมธิน ศิริวงศ์, 2536) ผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pranati และ Behera (2007) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม โดยนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองไปปลูกในกระถางที่มีวัสดุปลูกได้แก่ดิน ทรายและแกลบดำ ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่าต้นกล้าที่ปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและแกลบดำ อัตราส่วน 1:1:1 ตามลำดับ ต้นกล้ามะตูมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตได้ดีที่สุด 80.00% นอกจากนี้ Ajithkumar และ Seeni (1998) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนของตาข้าง มาเพาะเลี้ยงให้เกิดต้นกล้าที่สมบูรณ์ จากนั้นนำต้นกล้ามะตูมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองออกปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและปุ๋ยคอกในอัตตราส่วน 1:1:1 จากการรายงานของ Kuldeep และ Narender (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูมโดยนำชิ้นส่วนของปล้องมาชักนำให้เกิดเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ จากนั้นนำต้นกล้ามะตูมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองออกปลูกในกระถางที่มีดิน ทรายและปุ๋ยหมัก ในอัตตราส่วน 1:1:1 และจากงานวิจัยของ สุพินญา คำขจร (2540) ศึกษาการนำต้นมะตูมออกปลูกในกระถางที่มีดินปลูก ขุยมะพร้าวและแกลบดำในอัตราส่วน 1:1:1 ตามลำดับ โดยคลุมถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้นในระยะเวลาที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่าต้นมะตูมที่คลุมด้วยถุงพลาสติก 4 สัปดาห์ มีโอกาสในการรอดชีวิตสูงสุด 70% เนื่องจากต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ใบมีลักษณะบาง ผิวเคลือบคิวทิน (Cuticle) ไม่หนา ปากใบ (Stoma) เปิด จึงทำให้เกิดการคายน้ำจากปากใบได้ง่าย ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงต่ำ ระบบรากยังพัฒนาได้ต่ำ ขนรากน้อย จึงทำให้ประสิทธิภาพการลำเลียงน้ำไปยังส่วนต่างๆ ของพืชยังไม่มีพอ (ชมดาว ขำจริง, 2551) จึงต้องนำถุงพลาสติกใสมาคลุมเพื่อควบคุมความชื้น

ในการศึกษาครั้งนี้ สามารถขยายพันธุ์เกาลัดจีนและมะตูมในหลอดทดลองเพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมและเป็นแนวทางในการปกปักและรักษาพันธุกรรมพืชให้ยั่งยืนสืบไป

5.3. ข้อเสนอแนะ

1. แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนและข้อเกาลัดจีน หลั่งน้ำยางและสารฟีนอลิกออกมาบริเวณรอบๆ แคลลัสส่งผลทำให้เนื้อเยื่อตาย ดังนั้นจึงควรศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม เช่นการเปลี่ยนอาหารใหม่

2. แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนและข้อเกาลัดจีนไม่สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอได้ เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มก/ล ดังนั้นจึงต้องศึกษาวิธีการและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอ

Mahasarakham University

3. เมื่อนำใบอ่อนเกาลัดจีนไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 มก/ล พบว่าสามารถชักนำใบอ่อนให้เกิดแคลลัสได้ ดังนั้นจึงควรศึกษาความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนแคลลัสจากใบอ่อนเกาลัดจีน

Mahasarakham University

เอกสารอ้างอิง

Mahasarakham University

เอกสารอ้างอิง

คำนูณ กาญจนภูมิ. (2542). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จำรอง ดาวเรือง. (2546). เกาลัด. *เกษตรก้าวหน้า*, 6(2), 1-8.

จำลอง เพ็งคล้าย, วิเชียร จีรวงส์, กัลยา ภราไดย, จารีย์ บันสิทธิ์, ก่องกานดา ชยามฤต, อบฉันท์ ไทยทอง และชุมพล คุณวาสี. (2546). *อนุกรมวิธานพืชอักษร ก ฉบับราชบัณฑิตยสถาน*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: อรุณการพิมพ์.

ชมดาว ขำจริง. (2551). *ผลของไซโตไคนินและออกซินที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกวาวเครือขาว*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาสารคาม: มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ชวนพิศ แดงสวัสดิ์. (2544). *สรีรวิทยาของพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์พัฒนศึกษา.

ไทยรัฐออนไลน์. (2553) *เกาลัดจีนมีสรรพคุณ*. [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.thairath.co.th/content/104233 [สืบค้นเมื่อ 25 กรกฎาคม 2556].

นภดล จรัสสัมฤทธิ์. (2537). *ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์รั้วเขียว.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. (2536). *เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

ปิยรัษฎ์ ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์. (2554). *แผนแม่บท อพ.สธ. ระยะ 5 ปีที่ห้า (ตุลาคม พ.ศ. 2554-กันยายน พ.ศ. 2559)*. กรุงเทพฯ: เวิร์ค สแควร์ จำกัด.

พยัคฆ์ มณีอเนกคุณ, นิรุจน์ คำควร และประพันธ์ ประมาณ. (2548). *คู่มือศึกษาพันธุ์ไม้ป่า*. กรุงเทพฯ: สหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

พีรศักดิ์ วรสุนทโรสถ, สุรทร ดุริยะประพันธ์, ทักษิณ อาชวาคม, สายันต์ ตันพานิช, ชลธิชา นิวาสประกฤติ และปรียานันท์ ศรสูงเนิน. (2544). *ทรัพยากรพืชในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ 2 ไม้ผลและไม้ผลเคี้ยวมัน*. กรุงเทพฯ: ซีเอ็ดยูเคชั่น จำกัด.

เมธิน ศิริวงศ์. (2536). *อิทธิพลของวัสดุปลูก ภาชนะปลูกและปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของมะเขือเทศพันธุ์สีดา มก. ในระบบการปลูกพืชไม่ใช้ดิน*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รังสฤษฏ์ กาวีต๊ะ. (2541). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิลลี่ กาวีต๊ะ. (2546). *การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและพัฒนาการพืช*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิลลี่ กาวีต๊ะ, มาลี ณ นคร, ศรีสม สุวรรณวงค์ และสุรียา ตันติวิวัฒน์. (2552). *สรีรวิทยาพืช*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิภารัตน์ รัตนะ. (2542). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการเก็บรักษาพันธุ์มะตูมในสภาพปลอดเชื้อ*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุทธิรา ขุมกระโทก และคมกริช วงค์ภาคำ. (2548). *การเปรียบเทียบสัณฐานวิทยา เรณูและกายวิภาคศาสตร์มะตูมพื้นบ้านเพื่อการจำแนกทางอนุกรมวิธานและรวมรวมลักษณะทางพันธุกรรมเพื่อการอนุรักษ์*. มหาสารคาม: สถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช.

Mahasarakham University

สุพินญา คำขจร. (2540). *การขยายพันธุ์มะตูมด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้วรักษ์. (2546). การเปรียบเทียบเกาลัดสายพันธุ์คัดเลือก (*Castanea mollossima* L.) การเจริญเติบโต การให้ผลผลิตและสัณฐานวิทยา. *วิทยาศาสตร์ประยุกต์*, 2(1), 41-49.

เสริมสิริ วินิจฉัยกุล, นันทวัน บุณยะประภัศร, สุวรรณ ธีระวรพันธ์, วิสุดา สุวิทยาวัฒน์ และอรนุช โชคชัยเจริญพร. (2541). *สมุนไพรไม้พื้นบ้าน*. กรุงเทพฯ: ประชาชน จำกัด.

อุทยานธรรมชาติวิทยาสิรีรุกขชาติ. (2553). *มะตูม*. [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.pharmacy.ac.th/siri/index.php?page=search_detail&medicinal_id=141 [สืบค้นเมื่อ 6 มิถุนายน 2556].

อรดี สหวัชรินทร์. (2539) *เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. กรุงเทพฯ: อักษรสยามการพิมพ์.

Ajithkumar, D. and Seeni, S. (1998). Rapid Clonal Multiplication Through in Vitro Axillary Shoot Proliferation of Aegle Marmelos (L.) Corr., a Medicinal Tree. *Plant Cell Report,* 17, 422-426.

Carraway, D.T. and Merkle, S.T. (1997). Plantlet Regeneration From Somatic Embryos of American Chestnut. *Canadian Journal of Forest Research*, 27, 1805-1812.

Corredoira, E., Ballester, A. and Vieitez, A.M. (2003). Proliferation Maturation and Germination of *Castanea Sativa* Mill. Somatic Embryos Originated From Leaf Explants. *Annals of Botany*, 92, 129-136.

Fabio, A., Chinalia, M., Helena, R.S. and Elisete M.C. (2007). 2,4-D Toxicity: Cause Effect and Control. *Global Science*, 1(2), 24-33.

Hazeena, M.S. and Sulekha, G.R. (2008). Callus Induction and Plantlet Regeneration in *Aegle Marmelos* (L.) Corr. Using Cotyledon Explants. *Journal of Tropical Agriculture*, 46(1-2), 79-84.

Hossain, M., Islam, R., Karim, M.R., Rahman, S.M. and Joarder, O.I. (1994). Production of Plantlets From *Aegle Marmelos* Nucellar Callus. *Plant Cell Report*, 13, 570-573.

Hossain, M., Karim, M.R., Islam, R. and Joarder, O.I. (1993). Plant Regeneration from Nucellar Tissues of *Aegle Marmelos* Through Organogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 34, 199-203.

Kuldeep, Y. and Narender, S. (2011). *in Vitro* Propagation and Biochemical Analysis of Field Established Wood Apple (*Aegle marmelos* L.). *Analele Universitatii Din Oradea*, 1, 23-28.

Liu, Y., Zhao, G., Cao, Q. and Qin, L. (2008). Propagation *in Vitro* of Chestnut Short Catkin Mutant (*Castanea mollissima* Bl.). *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 24(10), 99-102.

Mahasarakham University

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays With Tobacco Tissue Cultures. *Physiology Plant*, 15, 473-497.

Paul, V. (2000). Chestnut Culture in California. [Online]. Available from: http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8010.pdf [accessed 3 July 2012.]

Pranati, N. and Behera, P.R. (2007). High Frequency Plantlet Regeneration From Cotyledonary Node Cultures of *Aegle Marmelos* (L.) Corr. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant*, 43, 231-236.

Prematilake, D.P., Nilmini, H.A.S. and Kudagamage, C. (2006). Establishment of an *in Vitro* Plant Regeneration System for *Aegle Marmelos* (L.) Corr. Via Organogenic Callus Culture. *Ceylon Journal of* Science *(Biological Sciences)*, 35(1), 87-90.

Puspashree, P. and Shiba, P.R. (2012). *In Vitro* Propagation of *Aegle Marmelos* (L.) Corr., a Medicinal Plant Through Axillary Bud Multiplication. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3, 121-125.

Rajesh, P., Ramesh, C., Ugam, K.C., Maneesh, M. and Navin, S. (2008). *In Vitro* Clonal Propagation of Bael (*Aegle Marmelos* Corr.) CV. CISHB1 Through Enhanced Axillary Branching. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 14(4), 337-346.

Rod, S., Paul, R., Wesley, H. and Per, N. (1990). Rooting of American Chestnut Microcuttings. *Environmental Horticulture*, 8(2), 86-88.

Sauer, U. and Wilhelm, E. (2005) .Somatic Embryogenesis From Ovaries, Developing Ovules and Immature Zygotic Embryos, and Improved Embryo Development of *Castanea Sativa* Mill. *Biologia Plantarum,* 49(1), 1-6.

Shigeru, H., Kozo, I., Kee, Y.P., Kamolpun, N. and Suranant, S. (1989). Multiple Shoot Induction from Seeds of Japanese Chestnut (*Castanea Crenata* Sieb. et Zucc) and Successive Shoot Multiplication *in Vitro. Kasetsart Journal,* 23, 267-272.

Umberto, Q. (2000). CRC World Dictionary of Plant names Common Names Scientific Names Eponyms and Etymology. London: CRC Press.

Zhang, L., Yin, W.L. and Wang, H.F. (2007). Ovule Culture *in Citro* of *Castanea Mollissima*. *Journal of Beijing Forestry University*, 29(5), 99-105.

Mahasarakham University

ภาคผนวก

Mahasarakham University

ตาราง ภาคผนวก 1 อาหารสังเคราห์สูตร Murashige and Skoog (MS) ประกอบด้วยธาตุอาหารต่างๆ

สารเคมี	ปริมาณสารเคมี (มก/ล)	ปริมาณสารเคมีใน stock solution (มก/ล)	ความเข้มข้น (เท่า)	ปริมาตรที่ใช้ (มล/ล)
Stock solution 1				
NH_4NO_3	1,650	33,000	20	50
KNO_3	1,900	38,000		
$CaCl_2.2H_2O$	440	8,800		
$MgSO_4.7H_2O$	370	7,400		
KH_2PO_4	170	3,400		
Stock solution 2				
KI	0.83	166	200	5
H_3BO_3	6.2	1,240		
$MnSO_4.4H_2O$	22.3	4,460		
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6	1,720		
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25	50		
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	5		
$CoCl_2.6H_2O$	0.025	5		
Stock solution 3				
$FeSO_4.7H_2O$	27.85	5,560	200	5
$Na_2EDTA.2H_2O$	37.3	7,460		
Stock solution 4				
Myo-inosital	100.0	20,000	200	5
Nicotinic acid	0.5	100		
Pyridoxine HCl	0.5	100		
Thiamine HCl	0.5	100		
Glycine	2	400		

น้ำตาล 30 ก/ล
วุ้น 7 ก/ล, pH 5.7-5.8

Mahasarakham University

ตาราง ภาคผนวก 2 เปรียบเทียบอิทธิพลของ NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำใบอ่อนเกาลัดจีนให้เกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Tests of Normality

เส้นผ่านศูนย์กลาง

ความเข้มข้น	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
NAA0.1 + BA0.1 mg/l	0.156	38	0.020	0.887	38	0.001
NAA0.1 + BA0.5 mg/l	0.174	26	0.042	0.951	26	0.245
NAA0.1 + BA1.0 mg/l	0.128	29	0.200	0.939	29	0.096
NAA0.5 + BA0.1 mg/l	0.118	35	0.200	0.969	35	0.426
NAA0.5 + BA0.5 mg/l	0.123	37	0.174	0.963	37	0.244
NAA0.5 + BA1.0 mg/l	0.101	39	0.200	0.973	39	0.449

Descriptives

เส้นผ่านศูนย์กลาง

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	30	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
NAA0.1 + BA0.1 mg/l	38	1.0632	0.84131	0.13648	0.7866	1.3397	0.10	3.70
NAA0.1 + BA0.5 mg/l	26	1.1269	0.51034	0.10009	0.9208	1.3331	0.30	2.50
NAA0.1 + BA1.0 mg/l	29	1.3414	0.77714	0.14431	1.0458	1.6370	0.20	2.80
NAA0.5 +BA0.1 mg/l	35	0.9800	0.44444	0.07512	0.8273	1.1327	0.10	1.80
NAA0.5 + BA0.5 mg/l	37	1.1459	0.52631	0.08652	0.9705	1.3214	0.30	2.50
NAA0.5 + BA1.0 mg/l	39	1.2821	0.50984	0.08164	1.1168	1.4473	0.30	2.60
Total	234	1.0056	0.69955	0.04573	0.9155	1.0957	0.00	3.70

ANOVA

เส้นผ่านศูนย์กลาง

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	37.848	6	6.308	18.797	0.000
Within Groups	76.175	227	0.336		
Total	114.023	233			

Mahasarakham University

เส้นผ่านศูนย์กลาง

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
contron	30	0.0000		
NAA0.5 +BA0.1 mg/l	35		0.9800	
NAA0.1 + BA0.1 mg/l	38		1.0632	1.0632
NAA0.1 + BA0.5 mg/l	26		1.1269	1.1269
NAA0.5 + BA0.5 mg/l	37		1.1459	1.1459
NAA0.5 + BA1.0 mg/l	39		1.2821	1.2821
NAA0.1 + BA1.0 mg/l	29			1.3414
Sig.		1.000	0.060	0.085

Mahasarakham University

ตาราง ภาคผนวก 3 เปรียบเทียบอิทธิพลของ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสที่เกิดจากข้อเกาลัดจีนเมื่อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Tests of Normality

เส้นผ่านศูนย์กลาง

ความเข้มข้น	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
control	0.321	15	0.000	0.799	15	0.004
2,4-D 0.5 mg/l	0.233	15	0.027	0.874	15	0.039
2,4-D 1.0 mg/l	0.305	15	0.001	0.883	15	0.053
2,4-D 2.0 mg/l	0.235	15	0.026	0.866	15	0.029

Descriptives

เส้นผ่านศูนย์กลาง

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	15	1.0740	0.01805	0.00466	1.0640	1.0840	1.05	1.10
2,4-D 0.5 mg/l	15	1.4000	0.22361	0.05774	1.2762	1.5238	1.10	2.00
2,4-D 1.0 mg/l	15	1.6227	0.21299	0.05499	1.5047	1.7406	1.30	2.10
2,4-D 2.0 mg/l	15	1.4107	0.21858	0.05644	1.2896	1.5317	1.00	2.00
Total	60	1.3768	0.27046	0.03492	1.3070	1.4467	1.00	2.10

ANOVA

เส้นผ่านศูนย์กลาง

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.307	3	0.769	21.444	0.000
Within Groups	2.009	56	0.0036		
Total	4.316	59			

เส้นผ่านศูนย์กลาง

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
control	15	1.0740		
2,4-D 0.5 mg/l	15		1.4000	
2,4-D 2.0 mg/l	15		1.4107	
2,4-D 1.0 mg/l	15			1.6227
Sig.		1.000	0.878	1.000

Mahasarakham University

ตารางภาคผนวก 4 เปรียบเทียบการชักนำราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอดมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม Zeatin 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Tests of Normality

	explant	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย	leaf	0.171	9	0.200	0.936	9	0.537
	cotyledon	0.189	15	0.157	0.921	15	0.200
	root	0.181	15	0.200	0.897	15	0.087
	shoot	0.127	10	0.200	0.941	10	0.570
จำนวนยอด/แคลลัสเฉลี่ย	leaf	0.423	9	0.000	0.665	9	0.001
	cotyledon	0.259	15	0.008	0.860	15	0.024
	root	0.227	15	0.036	0.855	15	0.021
	shoot	0.208	10	0.200	0.901	10	0.226
จำนวนยอด/ชิ้นส่วนพืช	shoot	0.244	10	0.094	0.864	10	0.085
ความยาวยอด/แคลลัสเฉลี่ย	leaf	0.242	9	0.137	0.823	9	0.038
	cotyledon	0.163	15	0.200	0.911	15	0.139
	root	0.182	15	0.197	0.815	15	0.006
	shoot	0.325	10	0.004	0.699	10	0.001
ความยาวยอด/ชิ้นส่วนพืชเฉลี่ย	shoot	0.230	10	0.142	0.920	10	0.356

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย	Between Groups	12.711	3	4.237	23.417	0.000
	Within Groups	30.215	167	0.181		
	Total	42.926	170			
จำนวนยอด/แคลลัสเฉลี่ย	Between Groups	87.993	3	29.331	2.550	0.060
	Within Groups	1196.303	104	11.503		
	Total	1284.296	107			
จำนวนยอด/ชิ้นส่วนพืช	Between Groups	415.648	3	138.549	39.426	0.000
	Within Groups	238.963	68	3.514		
	Total	654.611	71			
ความยาวยอด/แคลลัสเฉลี่ย	Between Groups	20.109	3	6.703	4.602	0.003
	Within Groups	652.479	448	1.456		
	Total	672.588	451			
ความยาวยอด/ชิ้นส่วนพืชเฉลี่ย	Between Groups	212.813	3	70.938	69.494	0.000
	Within Groups	178.636	175	1.021		
	Total	391.449	178			

Mahasarakham University

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
เส้นผ่าน	leaf	41	0.3902	0.34699	0.05419	0.2807	0.4998	0.10	1.50
ศูนย์กลาง	cotyledon	44	1.1114	0.56041	0.08448	0.9410	1.2817	0.20	2.40
แคลลัส	root	55	0.9873	0.37911	0.05112	0.8848	1.0898	0.20	2.70
เฉลี่ย	shoot	31	0.8613	0.37119	0.06667	0.7251	0.9974	0.30	1.50
	Total	171	0.8532	0.50250	0.03843	0.7774	0.9291	0.10	2.70
จำนวน	leaf	9	3.4444	3.87657	1.29219	0.4647	6.4242	1.00	12.00
ยอด/	cotyledon	41	5.2195	4.28668	0.66947	3.8665	6.5726	1.00	17.00
แคลลัส	root	42	3.9048	2.64860	0.40869	3.0794	4.7301	1.00	13.00
เฉลี่ย	shoot	16	2.6875	1.88746	0.47186	1.6817	3.6933	1.00	7.00
	Total	108	4.1852	3.46450	0.33337	3.5243	4.8461	1.00	17.00
จำนวน	leaf	15	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
ยอด/	cotyledon	15	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
ชิ้นส่วน	root	15	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
พืช	shoot	27	4.9630	3.03165	0.58344	3.7637	6.1622	2.00	13.00
	Total	72	1.8611	3.03642	0.35785	1.1476	2.5746	0.00	13.00
ความ	leaf	31	1.5968	1.00912	0.18124	1.2266	1.9669	0.40	4.70
ยาวยอด/	cotyledon	214	1.9065	1.17759	0.08050	1.7479	2.0652	0.30	5.60
แคลลัส	root	164	1.4768	1.22957	0.09601	1.2872	1.6664	0.20	6.00
เฉลี่ย	shoot	43	1.4558	1.38122	0.21063	1.0307	1.8809	0.20	5.00
	Total	452	1.6865	1.22120	0.05744	1.5736	1.7994	0.20	6.00
ความ	leaf	15	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
ยาวยอด/	cotyledon	15	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
ชิ้นส่วน	root	15	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
พืชเฉลี่ย	shoot	134	2.5134	1.15893	0.10012	2.3154	2.7115	0.40	6.00
	Total	179	1.8816	1.48295	0.11084	1.6628	2.1003	0.00	6.00

เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย

Duncan

explant	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
leaf	41	0.3902		
shoot	31		0.8613	
root	55		0.9873	0.9873
cotyledon	44			1.1114
Sig.		1.000	0.182	0.188

Mahasarakham University

จำนวนยอด/แคลลัสเฉลี่ย

Duncan

explant	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
shoot	16	2.6875	
leaf	9	3.4444	3.4444
root	42	3.9048	3.9048
cotyledon	41		5.2195
Sig.		0.314	0.141

จำนวนยอด/ชิ้นส่วนพืช

Duncan

explant	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
leaf	15	0.0000	
cotyledon	15	0.0000	
root	15	0.0000	
shoot	27		4.9630
Sig.		1.000	1.000

ความยาวยอด/แคลลัสเฉลี่ย

Duncan

explant	N	Subset for alpha = 0.05
		1
shoot	43	1.4558
root	164	1.4768
leaf	31	1.5968
cotyledon	214	1.9065
Sig.		0.061

ความยาวยอด/ชิ้นส่วนพืชเฉลี่ย

Duncan

explant	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
leaf	15	0.0000	
cotyledon	15	0.0000	
root	15	0.0000	
shoot	134		2.5134
Sig.		1.000	1.000

Mahasarakham University

ตาราง ภาคผนวก 5 เปรียบเทียบอิทธิพลของ BA ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำลำต้นเหนือใบเลี้ยงมะตูมให้เกิดแคลลัสและยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Tests of Normality

	สูตรอาหาร	Kolmogorov-Smirnov[c]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ความยาวยอด	BA 1.0 + 2,4-D 0.5 mg/l	0.318	6	0.057	0.824	6	0.096
เฉลี่ย	BA 1 + 2,4-D 0.1 mg/l	0.282	13	0.006	0.711	13	0.001
	BA 0.1 + 2,4-D 0.1	0.172	13	0.200	0.866	13	0.047
	BA 0.5 + 2,4-D 0.1 mg/l	0.253	10	0.069	0.871	10	0.101
เส้นผ่านศูนย์กลาง	BA 0.1 + 2,4-D 0.5 mg/l	0.182	12	0.200	0.941	12	0.516
แคลลัสเฉลี่ย	BA 1.0 + 2,4-D 0.5 mg/l	0.214	6	0.200	0.958	6	0.804
	BA 0.5 + 2,4-D 0.5 mg/l	0.255	13	0.020	0.829	13	0.015
	BA 1 + 2,4-D 0.1 mg/l	0.127	13	0.200	0.963	13	0.801
	BA 0.1 + 2,4-D 0.1	0.253	13	0.023	0.787	13	0.005
	BA 0.5 + 2,4-D 0.1 mg/l	0.278	10	0.027	0.830	10	0.034
จำนวนยอดเฉลี่ย	BA 1.0 + 2,4-D 0.5 mg/l	0.295	6	0.112	0.866	6	0.210
	BA 1 + 2,4-D 0.1 mg/l	0.283	13	0.005	0.768	13	0.003
	BA 0.1 + 2,4-D 0.1	0.133	13	0.200	0.953	13	0.645
	BA 0.5 + 2,4-D 0.1 mg/l	0.256	10	0.062	0.877	10	0.120

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ความยาวยอด	Between Groups	194.469	6	32.411	66.586	0.000
	Within Groups	580.704	1193	0.487		
	Total	775.173	1199			
เส้นผ่านศูนย์กลาง	Between Groups	19.769	6	3.295	21.279	0.000
	Within Groups	12.542	81	0.155		
	Total	32.311	87			
จำนวนยอดเฉลี่ย	Between Groups	29542.972	6	4923.829	17.353	0.000
	Within Groups	21281.272	75	283.750		
	Total	50824.244	81			

Mahasarakham University

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ความยาวยอดเฉลี่ย	control	15	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
	BA 0.1 + 2,4-D 0.5 mg/l	12	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
	BA 1.0 + 2,4-D 0.5 mg/l	17	0.3706	0.19289	0.04678	0.2714	0.4698	0.20	0.80
	BA 0.5 + 2,4-D 0.5 mg/l	13	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
	BA 1 + 2,4-D 0.1 mg/l	283	0.7240	0.72272	0.04296	0.6395	0.8086	0.20	5.00
	BA 0.1 + 2,4-D 0.1	279	1.6179	0.89702	0.05370	1.5122	1.7236	0.20	6.30
	BA 0.5 + 2,4-D 0.1 mg/l	581	1.3458	0.60046	0.02491	1.2969	1.3947	0.20	4.50
	Total	1200	1.2038	0.80406	0.02321	1.1582	1.2493	0.00	6.30
เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ย	control	15	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
	BA 0.1 + 2,4-D 0.5 mg/l	12	1.4583	0.33967	0.09806	1.2425	1.6742	0.90	2.00
	BA 1.0 + 2,4-D 0.5 mg/l	11	1.1909	0.55938	0.16866	0.8151	1.5667	0.20	2.20
	BA 0.5 + 2,4-D 0.5 mg/l	13	1.2923	0.58089	0.16111	0.9413	1.6433	0.70	2.50
	BA 1 + 2,4-D 0.1 mg/l	14	1.1286	0.48742	0.13027	0.8471	1.4100	0.30	1.90
	BA 0.1 + 2,4-D 0.1	13	1.1154	0.24099	0.06684	0.9698	1.2610	0.50	1.30
	BA 0.5 + 2,4-D 0.1 mg/l	10	1.1900	0.18529	0.05859	1.0574	1.3226	1.00	1.50
	Total	88	1.0182	0.60942	0.06496	0.8891	1.1473	0.00	2.50
จำนวนยอดเฉลี่ย	control	15	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
	BA 0.1 + 2,4-D 0.5 mg/l	12	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
	BA 1.0 + 2,4-D 0.5 mg/l	6	2.8333	1.72240	0.70317	1.0258	4.6409	1.00	6.00
	BA 0.5 + 2,4-D 0.5 mg/l	13	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
	BA 1 + 2,4-D 0.1 mg/l	13	21.7692	21.53352	5.97232	8.7567	34.7818	5.00	75.00
	BA 0.1 + 2,4-D 0.1	13	21.4615	10.15394	2.81620	15.3256	27.5975	5.00	44.00
	BA 0.5 + 2,4-D 0.1 mg/l	10	58.1000	40.09004	12.67758	29.4213	86.7787	10.00	121.00
	Total	82	14.1463	25.04915	2.76622	8.6424	19.6502	0.00	121.00

Mahasarakham University

ความยาวยอดเฉลี่ย

Duncan

สูตรอาหาร	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
contron	15	0.0000		
BA 0.1 + 2,4-D 0.5 mg/l	12	0.0000		
BA 0.5 + 2,4-D 0.5 mg/l	13	0.0000		
BA 1.0 + 2,4-D 0.5 mg/l	17	0.3706	0.3706	
BA 1 + 2,4-D 0.1 mg/l	283		0.7240	
BA 0.5 + 2,4-D 0.1 mg/l	581			1.3458
BA 0.1 + 2,4-D 0.1	279			1.6179
Sig.		0.095	0.081	0.179

เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย

Duncan

สูตรอาหาร	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
contron	15	0.0000	
BA 0.1 + 2,4-D 0.1	13		1.1154
BA 1 + 2,4-D 0.1 mg/l	14		1.1286
BA 0.5 + 2,4-D 0.1 mg/l	10		1.1900
BA 1.0 + 2,4-D 0.5 mg/l	11		1.1909
BA 0.5 + 2,4-D 0.5 mg/l	13		1.2923
BA 0.1 + 2,4-D 0.5 mg/l	12		1.4583
Sig.		1.000	0.060

จำนวนยอดเฉลี่ย

Duncan

สูตรอาหาร	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
contron	15	0.0000		
BA 0.1 + 2,4-D 0.5 mg/l	12	0.0000		
BA 0.5 + 2,4-D 0.5 mg/l	13	0.0000		
BA 1.0 + 2,4-D 0.5 mg/l	6	2.8333		
BA 0.1 + 2,4-D 0.1	13		21.4615	
BA 1 + 2,4-D 0.1 mg/l	13		21.7692	
BA 0.5 + 2,4-D 0.1 mg/l	10			58.1000
Sig.		0.727	0.966	1.000

Mahasarakham University

ตาราง ภาคผนวก 6 เปรียบเทียบอิทธิพลของ IBA ร่วมกับ IAA, NAA, BA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำยอดที่เกิดจากแคลลัสของราก ใบเลี้ยง ตาข้าง ลำต้นเหนือใบเลี้ยงและปลายยอดมะตูมให้เกิดราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
						Lower Bound	Upper Bound
จำนวนรากเฉลี่ย	root control	10	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000
	root IBA 10 mg/l	4	1.2500	0.50000	0.25000	0.4544	2.0456
	root IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	4	2.0000	1.15470	0.57735	0.1626	3.8374
	root IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	7	2.8571	2.41030	0.91101	0.6280	5.0863
	root IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	3	4.0000	2.64575	1.52753	-2.5724	10.5724
	root IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	10	3.0000	1.05409	0.33333	2.2459	3.7541
	root IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	8	2.6250	1.40789	0.49776	1.4480	3.8020
	root IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	5	2.6000	1.14018	0.50990	1.1843	4.0157
	cotyledon IBA 10 mg/l	3	2.0000	1.73205	1.00000	-2.3027	6.3027
	cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	10	1.3000	0.48305	0.15275	0.9544	1.6456
	cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	15	2.0667	0.96115	0.24817	1.5344	2.5989
	cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	17	1.7059	0.91956	0.22303	1.2331	2.1787
	cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	7	4.0000	2.00000	0.75593	2.1503	5.8497
	cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	8	2.5000	1.19523	0.42258	1.5008	3.4992
	cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	10	2.9000	0.99443	0.31447	2.1886	3.6114
	shoot tip IBA 10 mg/l	11	1.5455	1.21356	0.36590	0.7302	2.3607
	shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	15	1.8000	0.86189	0.22254	1.3227	2.2773
	shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	18	2.4444	0.98352	0.23182	1.9553	2.9335
	shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	15	1.6667	0.61721	0.15936	1.3249	2.0085
	shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	7	3.4286	2.22539	0.84112	1.3704	5.4867
	shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	7	2.0000	0.57735	0.21822	1.4660	2.5340
	shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	4	1.7500	1.50000	0.75000	-0.6368	4.1368
	bud IBA 10 mg/l	2	1.0000	0.00000	0.00000	1.0000	1.0000
	bud IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	4	1.5000	0.57735	0.28868	0.5813	2.4187
	bud IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	2	2.0000	0.00000	0.00000	2.0000	2.0000
	bud IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	3	1.6667	1.15470	0.66667	-1.2018	4.5351
	bud IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	10	3.1000	1.72884	0.54671	1.8633	4.3367
	bud IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	7	2.2857	1.11270	0.42056	1.2566	3.3148
	bud IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	7	4.1429	2.85357	1.07855	1.5037	6.7820
	epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	11	1.4545	0.82020	0.24730	0.9035	2.0056
	epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	25	1.5200	1.26227	0.25245	0.9990	2.0410
	epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	4	2.2500	1.89297	0.94648	-0.7621	5.2621
	epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	8	2.5000	1.19523	0.42258	1.5008	3.4992
	epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	8	3.5000	2.39046	0.84515	1.5015	5.4985
	epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	10	5.0000	3.16228	1.00000	2.7378	7.2622
	Total	299	2.2642	1.65490	0.09571	2.0759	2.4526

Mahasarakham University

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
						Lower Bound	Upper Bound
ความ	root control	10	0.0000	0.00000	0.00000	0.0000	0.0000
ยากราก	root IBA 10 mg/l	5	1.1600	1.18659	0.53066	-0.3133	2.6333
เฉลี่ย	root IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	8	0.7500	0.56569	0.20000	0.2771	1.2229
	root IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	20	1.3800	1.03649	0.23177	0.8949	1.8651
	root IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	21	0.5381	0.29576	0.06454	0.4035	0.6727
	root IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	13	0.4846	0.20350	0.05644	0.3616	0.6076
	cotyledon IBA 10 mg/l	6	1.1167	0.75476	0.30813	0.3246	1.9087
	cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	13	1.8385	1.84731	0.51235	0.7221	2.9548
	cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	31	1.2419	0.67861	0.12188	0.9930	1.4909
	cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	29	1.0241	0.94968	0.17635	0.6629	1.3854
	cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	28	0.4714	0.24923	0.04710	0.3748	0.5681
	cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	20	0.6000	0.35094	0.07847	0.4358	0.7642
	cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	29	0.5276	0.31498	0.05849	0.4078	0.6474
	shoot tip IBA 10 mg/l	17	0.4647	0.27600	0.06694	0.3228	0.6066
	shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	30	1.2300	1.70175	0.31070	0.5946	1.8654
	shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	44	1.1886	0.74528	0.11236	0.9620	1.4152
	shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	25	0.6280	0.33853	0.06771	0.4883	0.7677
	shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	24	1.3625	1.01972	0.20815	0.9319	1.7931
	shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	14	0.4714	0.22336	0.05970	0.3425	0.6004
	shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	7	0.7857	0.44881	0.16963	0.3706	1.2008
	bud IBA 10 mg/l	2	1.5000	0.98995	0.70000	-7.3943	10.3943
	bud IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	6	1.0167	0.51153	0.20883	0.4798	1.5535
	bud IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	4	0.6000	0.33665	0.16833	0.0643	1.1357
	bud IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	5	1.2200	0.52154	0.23324	0.5724	1.8676
	bud IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	31	0.6290	0.35137	0.06311	0.5001	0.7579
	bud IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	16	0.4438	0.15478	0.03870	0.3613	0.5262
	bud IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	29	0.5379	0.36783	0.06830	0.3980	0.6778
	epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	16	1.1938	0.64132	0.16033	0.8520	1.5355
	epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	38	0.9184	0.51405	0.08339	0.7495	1.0874
	epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	9	2.8111	1.88709	0.62903	1.3606	4.2617
	epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	17	0.9353	0.71584	0.17362	0.5672	1.3033
	epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	28	0.7321	0.44058	0.08326	0.5613	0.9030
	epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	50	0.6020	0.55273	0.07817	0.4449	0.7591
	Total	687	0.8537	0.83053	0.03169	0.7915	0.9159

Mahasarakham University

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
จำนวนราก	Between Groups	288.043	34	8.472	4.235	0.000
เฉลี่ย	Within Groups	528.084	264	2.000		
	Total	816.127	298			
ความยาวราก	Between Groups	119.361	34	3.511	6.469	0.000
เฉลี่ย	Within Groups	353.827	652	.543		
	Total	473.188	686			

จำนวนรากเฉลี่ย

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
root control	10	0.0000						
bud IBA 10 mg/l	2	1.0000	1.0000					
root IBA 10 mg/l	4	1.2500	1.2500	1.2500				
cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	10	1.3000	1.3000	1.3000				
epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	11	1.4545	1.4545	1.4545	1.4545			
bud IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	4	1.5000	1.5000	1.5000	1.5000			
epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	25	1.5200	1.5200	1.5200	1.5200			
shoot tip IBA 10 mg/l	11	1.5455	1.5455	1.5455	1.5455			
shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	15	1.6667	1.6667	1.6667	1.6667			
bud IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	3	1.6667	1.6667	1.6667	1.6667			
cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	17	1.7059	1.7059	1.7059	1.7059			
shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	4	1.7500	1.7500	1.7500	1.7500			
shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	15	1.8000	1.8000	1.8000	1.8000			
root IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	4		2.0000	2.0000	2.0000	2.0000		
cotyledon IBA 10 mg/l	3		2.0000	2.0000	2.0000	2.0000		
shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	7		2.0000	2.0000	2.0000	2.0000		
bud IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	2		2.0000	2.0000	2.0000	2.0000		
cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	15		2.0667	2.0667	2.0667	2.0667		
epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	4		2.2500	2.2500	2.2500	2.2500	2.2500	
bud IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	7		2.2857	2.2857	2.2857	2.2857	2.2857	
shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	18		2.4444	2.4444	2.4444	2.4444	2.4444	
cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	8		2.5000	2.5000	2.5000	2.5000	2.5000	
epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	8		2.5000	2.5000	2.5000	2.5000	2.5000	
root IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	5		2.6000	2.6000	2.6000	2.6000	2.6000	
root IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	8		2.6250	2.6250	2.6250	2.6250	2.6250	
root IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	7		2.8571	2.8571	2.8571	2.8571	2.8571	
cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	10		2.9000	2.9000	2.9000	2.9000	2.9000	

Mahasarakham University

จำนวนรากเฉลี่ย

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
root IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	10		3.0000	3.0000	3.0000	3.0000	3.0000	
bud IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	10			3.1000	3.1000	3.1000	3.1000	
shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	7				3.4286	3.4286	3.4286	3.4286
epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	8				3.5000	3.5000	3.5000	3.5000
root IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	3					4.0000	4.0000	4.0000
cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	7					4.0000	4.0000	4.0000
bud IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	7						4.1429	4.1429
epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	10							5.0000
Sig.		0.074	0.057	0.079	0.051	0.052	0.064	0.097

ความยาวรากเฉลี่ย

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
root control	10	0.0000								
bud IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	16	0.4438	0.4438							
shoot tip IBA 10 mg/l	17	0.4647	0.4647	0.4647						
shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	14	0.4714	0.4714	0.4714	0.4714					
cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	28	0.4714	0.4714	0.4714	0.4714					
root IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	30	0.4833	0.4833	0.4833	0.4833					
root IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	13	0.4846	0.4846	0.4846	0.4846					
cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	29	0.5276	0.5276	0.5276	0.5276					
bud IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	29	0.5379	0.5379	0.5379	0.5379					
root IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	21	0.5381	0.5381	0.5381	0.5381					
bud IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	4	0.6000	0.6000	0.6000	0.6000	0.6000				
cotyledon IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	20	0.6000	0.6000	0.6000	0.6000	0.6000				
epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	50	0.6020	0.6020	0.6020	0.6020	0.6020				
shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	25	0.6280	0.6280	0.6280	0.6280	0.6280	0.6280			
bud IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	31	0.6290	0.6290	0.6290	0.6290	0.6290	0.6290			
epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 1.0 mg/l	28	0.7321	0.7321	0.7321	0.7321	0.7321	0.7321			
root IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	8	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500		
shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 1.5 mg/l	7		0.7857	0.7857	0.7857	0.7857	0.7857	0.7857		
epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	38		0.9184	0.9184	0.9184	0.9184	0.9184	0.9184		
epicotyl IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	17		0.9353	0.9353	0.9353	0.9353	0.9353	0.9353		
bud IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	6		1.0167	1.0167	1.0167	1.0167	1.0167	1.0167		
cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	29		1.0241	1.0241	1.0241	1.0241	1.0241	1.0241		

Mahasarakham University

ความยาวรากเฉลี่ย

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
root IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	12		1.0417	1.0417	1.0417	1.0417	1.0417	1.0417		
cotyledon IBA 10 mg/l	6		1.1167	1.1167	1.1167	1.1167	1.1167	1.1167	1.1167	
root IBA 10 mg/l	5		1.1600	1.1600	1.1600	1.1600	1.1600	1.1600	1.1600	
shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	44		1.1886	1.1886	1.1886	1.1886	1.1886	1.1886	1.1886	
epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	16		1.1938	1.1938	1.1938	1.1938	1.1938	1.1938	1.1938	
bud IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	5			1.2200	1.2200	1.2200	1.2200	1.2200	1.2200	
shoot tip IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	30			1.2300	1.2300	1.2300	1.2300	1.2300	1.2300	
cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	31				1.2419	1.2419	1.2419	1.2419	1.2419	
shoot tip IBA 10 mg/l+NAA 0.5 mg/l	24					1.3625	1.3625	1.3625	1.3625	
root IBA 10 mg/l+IAA 1.0 mg/l	20						1.3800	1.3800	1.3800	
bud IBA 10 mg/l	2							1.5000	1.5000	
cotyledon IBA 10 mg/l+IAA 0.5 mg/l	13								1.8385	
epicotyl IBA 10 mg/l+IAA 1.5 mg/l	9									2.8111
Sig.		0.051	0.058	0.053	0.052	0.051	0.053	0.051	0.053	1.000

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: จำนวนรากเฉลี่ย

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	1003.061	17	59.004	58.198	0.000	0.611
Intercept	793.127	1	793.127	782.303	0.000	0.554
ความเข้มข้น	998.669	13	76.821	75.772	0.000	0.610
ชนิดของชิ้นส่วนพืช	1.191	4	0.298	.294	0.882	0.002
Total	2349.000	649				
Corrected Total	1642.792	648				

Mahasarakham University

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ความยาวรากเฉลี่ย

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	219.273	17	12.898	31.079	0.000	0.341
Intercept	155.576	1	155.576	374.863	0.000	0.269
ความเข้มข้น	206.923	13	15.917	38.353	0.000	0.329
ชนิดของชิ้นส่วนพืช	1.173	4	0.293	0.706	0.588	0.003
Total	973.890	1037				
Corrected Total	642.181	1036				

Mahasarakham University

ตาราง ภาคผนวก 7 เปรียบเทียบอิทธิพลของดิน ทรายและแกลบดำในอัตราส่วนต่างๆ ต่อการเพาะปลูกต้นกล้ามะตูมเป็นเวลา 16 สัปดาห์

Tests of Normality

	ดิน.ทราย.แกลบดำ	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ความสูง	1/1/1	0.160	13	0.200	0.956	13	0.696
	2/1/1	0.146	9	0.200	0.957	9	0.768
	1/2/1	0.167	9	0.200	0.900	9	0.249
	1/1/2	0.179	6	0.200	0.943	6	0.680

Descriptives

ความสูง

ดิน/ทราย/แกลบ	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1/1/1	13	7.8077	0.91603	0.25406	7.2541	8.3612	6.20	9.20
2/1/1	9	7.8556	0.68028	0.22676	7.3326	8.3785	6.90	8.90
1/2/1	9	7.0000	0.70356	0.23452	6.4592	7.5408	6.20	8.50
1/1/2	6	7.9667	0.50067	0.20440	7.4412	8.4921	7.20	8.50
Total	37	7.6486	0.81807	0.13449	7.3759	7.9214	6.20	9.20

ANOVA

ความสูง

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.108	3	1.703	2.959	0.046
Within Groups	18.985	33	0.575		
Total	24.092	36			

ความสูง

Duncan

ดิน.ทราย.แกลบดำ	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1/2/1	9	7.0000	
1/1/1	13		7.8077
2/1/1	9		7.8556
1/1/2	6		7.9667
Sig.		1.000	0.686

Mahasarakham University

ประวัติย่อผู้วิจัย

Mahasarakham University

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ นามสกุล	นายกสานติ์ หาญชนะ
วัน เดือน ปีเกิด	วันที่ 6 ตุลาคม พ.ศ. 2532
จังหวัดและประเทศที่เกิด	จังหวัดขอนแก่น ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2542 ประถมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนเทศบาลคุ้มหนองครู
	พ.ศ. 2545 มัธยมศึกษาปีที่ 3 โรงเรียนเทศบาล 2 “อิสาณธีรวิทยาคาร”
	พ.ศ. 2550 มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนบุรีรัมย์พิทยาคม
	พ.ศ. 2554 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
	พ.ศ. 2558 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้	บ้านเลขที่ 355/243 ม.17 ตำบลอิสาณ อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ 31000
ทุนการศึกษา	ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย
ทุนวิจัย	เงินทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ผลงานวิจัย

กสานติ์ หาญชนะ, ปิยะพร แสนสุข และสุรพล แสนสุข. (2557). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม (*Aegle marmelos* Correa.). *วารสารวิจัย มข,* 19(4), 585-595.

กสานติ์ หาญชนะ, ปิยะพร แสนสุข และสุรพล แสนสุข. (2557). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม (*Aegle marmelos* Correa.) เพื่อการอนุรักษ์. *สารวิจัยเพื่อชุมชนมหาวิทยาลัยมหาสารคาม,* 4(1), 1-5.

Mahasarakham University