รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การขยายพันธุ์และจัดเตรียมต้นพันธุ์ผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองภาคใต้ เพื่อเก็บรวบรวมไว้ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และนำไปปลูกยังถิ่นเดิม (*in situ*)

Clonal Propagation and Preparation of Domestic Vegetables and Fruit Trees for Conservation *In Vitro* and Planting *In Situ*

โดย

รศ.ดร. สมปอง เตชะโต

นางสาวสุรีรัตน์ เย็นช้อน

รศ.ดร.อยุทธ์ นิสสภา

ผศ. เสมอใจ ชี่จิตต์

ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

คำนำ

รายงานฉบับนี้เป็นรายงานเกี่ยวกับการขยายพันธุ์และจัดเตรียมต้นพันธุ์ผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองภาคใต้เพื่อเก็บรวบรวมไว้ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และนำไปปลูกยังถิ่นเดิม (*in situ*) โดยพืชผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองที่สำคัญและคัดเลือกมาศึกษา ได้แก่ พืชในสกุล สะตอ มังคุด โท๊ะ หลุมพี มะรุม มะไฟ จำปุลิง อบเชย และ ส้ม เป็นต้น ซึ่งจากการศึกษาสามารถพัฒนาสูตรอาหารที่สามารถขยายพันธุ์ผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองในหลอดทดลองชิ้นส่วนมีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เลือกใช้แตกต่างกันออกไปซึ่งมีทั้งที่มีการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ผ่านการสร้างแคลลัส และพัฒนาให้ยอดรวมโดยตรง จากผลการศึกษาดังกล่าวสามารถใช้เป็นแนวทางในการขยายพันธุ์ และใช้เป็นวัสดุพืชในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมไว้ในหลอดทดลอง เพื่อลดความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ในอนาคต

รศ. ดร. สมปอง เตชะโต
หัวหน้าโครงการ

การขยายพันธุ์และจัดเตรียมต้นพันธุ์ผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองภาคใต้ เพื่อเก็บรวบรวมไว้ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และนำไปปลูกยังถิ่นเดิม (*in situ*)

Clonal Propagation and Preparation of Domestic Vegetables and Fruit Trees for Conservation *In Vitro* and Planting *In Situ*

บทคัดย่อ

จากการเพาะเลี้ยงผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองภาคใต้ เพื่อเก็บรวบรวมไว้ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และนำไปปลูกยังถิ่นเดิม (*in situ*) นั้นได้ทำการศึกษาในพืชกว่า 10 ชนิดพืช (8 ชนิด) ซึ่งเป็นพืชหลักของภาคใต้ เพื่อวัตถุประสงค์ดังกล่าวชิ้นส่วนที่เหมาะสมเป็นปลายยอด ข้อ ลำต้น และเมล็ดหรือคัพภะ ทั้งนี้เพราะชิ้นส่วนดังกล่าวให้พัฒนาการเป็นพืชต้นใหม่โดยตรง ให้ต้นที่ตรงตามพันธุ์สูง หากเป็นชิ้นส่วนของต้นกล้าในหลอดทดลองจากการเพาะเมล็ดบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อได้ต้นกล้าแล้วจึงตัดแยกแต่ละชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ/ข้อใบเลี้ยง ลำต้นใต้และเหนือใบเลี้ยงไปเพาะเลี้ยงต่อไป สูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นสูตร MS หรือสูตรดัดแปลง MS เติมไซโตไคนินในรูปของ BA (bezyladenine) KN (kinetin) TDZ (thidiazuron) TU (thiourea) เพื่อส่งเสริมการสร้างยอดรวมจำนวนมาก หากการใช้ ไซโตไคนิน อย่างเดียวไม่ประสบผลสำเร็จก็ใช้ร่วมกับออกซิน เช่น NAA (α-naphthaleneacetic acid) หรือ IAA (indoleacetic acid)

ในกรณีของปลายยอดสะตอให้ยอดรวมบนอาหารสูตร MS เติม IAA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย KN เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนเหรียงตอบสนองต่อ BA ร่วมกับ TDZ ในสภาพที่มีผงถ่าน ส่วนยอดรวมของพืชในสกุล *Garcinia* จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดตอบสนองต่อ BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรจำนวนยอดที่สร้างต่างกันขึ้นกับชนิดตั้งแต่ 1-50 ยอด ใบมังคุดและพะวาสร้างยอดรวมโดยตรงในอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อสร้างแผลเป็นรอยกรีด 3 รอย ส่วนชนิดอื่นๆ สร้างแคลลัสแทนการสร้างยอดรวม ในกรณีของส้มแขกการชักนำยอดรวมโดยตรงจากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อที่ตัดให้มีส่วนของลำต้นยาว และรากในอาหารสูตร WPM (woody plant medium) เติม BA ร่วมกับ TU แต่ชิ้นส่วนใบนั้นต้องผ่านการเตรียมเลี้ยงในอาหารสองชั้นก่อน การชักนำยอดรวมผ่านการสร้างแคลลัสของพืชในสกุลนี้แตกต่างกันโดยมังคุดและมะดันให้การตอบสนองต่อ BA ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้นเท่ากัน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนอาหารชักนำยอด อาหารชักนำการยืดยาวของยอด และชักนำราก การวางเลี้ยงอับละอองเกสร และเมล็ดโท๊ะ พบว่าชิ้นส่วนทั้งสองมีการพัฒนาเมื่อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D, NAA และ KN ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชิ้นส่วนอับละอองเกสรมีการสร้างแคลลัสที่มีสารแอนโธไซยานิน และเมล็ดสามารถงอกเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ การชักนำยอดมะไฟ และจำปุ

ลิง โดยการเพาะเมล็ด บนอาหารสูตร MS free หลังจากนั้นตัดปลายยอดมาชักนำยอดรวมบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มะไฟให้จำนวนยอดสูงสุด 2.5 ยอดต่อชิ้นส่วน ส่วนจำปุลิงให้การสร้างยอดได้เพียงยอดเดียว ยอดมะไฟมีการพัฒนาและสร้างรากได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นขององค์ประกอบลงครึ่งหนึ่ง (½ MS) การเพาะเลี้ยงคัพภะหลุมพี พบว่า อาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสได้สูงสุด 66.67% แคลลัสพัฒนาไปเป็นโซมาติกเอ็มบริโอได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับมะรุมการวางเลี้ยง immature embryo บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ GA_3 เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน 0.25% เกิดยอดสูงสุด 3 ยอดต่อชิ้นส่วน สำหรับพืชสกุลส้มนั้นชิ้นส่วนปลายยอดและลำต้นให้การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่โดยตรงบนอาหารสูตร MS หรือ MT เติม BA 1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร ยอดที่เป็นกระจุกไม่ยืดเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารเติม GA_3 (gibberellic acid) ส่งเสริมการยืดยาวพร้อมชักนำรากได้

พืชทุกชนิดที่รายงานข้างต้นมีการเก็บรักษาไว้ในหลอดทดลองภายใต้การย้ายเลี้ยงเป็นระยะเวลาที่แน่นอน ในพืชสกุล *Garcinia* ค่อนข้างโตช้าในสภาพการเพาะเลี้ยงจึงเก็บรักษาได้ดี ส่วนพืชอื่นๆ มีการดัดแปลงที่จะให้เจริญเติบโตช้าเพื่ออนุรักษ์ไว้ในหลอดทดลองเพื่อความพร้อมที่จะขยายพันธุ์จำนวนมากเมื่อต้องการ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
สารบัญ	ค
รายการตาราง	ง
รายการภาพประกอบ	ช
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	4
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	5
การศึกษาในพืชแต่ละชนิด และผลการศึกษา	
พืชในสกุลสะตอ	8
พืชในสกุลมังคุด	21
พืชในสกุลโท๊ะ	47
พืชในสกุลมะไฟ	51
พืชในสกุลหลุมพี	61
พืชในสกุลมะรุม	69
พืชในสกุลอบเชย	73
พืชในสกุลส้ม	80
สรุป	94
เอกสารอ้างอิง	95

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	กลุ่มผักพื้นบ้านไม้ผลพื้นเมืองที่มีการจัดอันดับความสำคัญในการศึกษาวิจัย และอนุรักษ์	3
2	ตัวอย่างผักพื้นบ้านไม้ผลพื้นเมืองที่นำมาศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	4
3	แสดงชนิดของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่ใช้ในแต่ละพืช	5
4	เทคนิควิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชก่อนการเลี้ยง	6
5	ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	7
6	แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอก ความสูง จำนวนใบ และเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสแบบปม ของคัพภะสะตอ ในอาหารสูตรต่างๆ	10
7	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต การสร้างยอดรวม จำนวนยอด ของชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม IAA 0.1 มก/ล และ KN 1มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	12
8	พัฒนาการของชิ้นส่วนแคลลัสแบบปมบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมชนิดและความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน	13
9	ผลของชนิดของผงวุ้นและชิ้นส่วนที่มีผลต่อการสร้างยอดของต้นเหรียงหลังการวางเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% BA เข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	18
10	ชนิดของพืชในสกุลมังคุดที่เป็นผักพื้นบ้านไม้ผลพื้นเมืองนำมาศึกษาขยายพันธุ์และอนุรักษ์ในโครงการฯ	22
11	ความสามารถในการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในอาหารสูตรพื้นฐานหรือสูตรดัดแปลง MS เติม BA เข้มข้น 5 มก/ล เป็นเวลา 45 วัน	24
12	ผลของความเข้มข้นของ BA ที่เติมในอาหารสูตร MS ต่อการพัฒนาของยอดรวมหลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน	32
13	วิธีการเตรียมใบโดยการเพาะเลี้ยงยอดแบบต่างๆ ที่มีผลต่อการสร้างยอดรวมโดยตรงในอาหารสูตร WPM เติม BA 0.5 มก/ล และ TU 0.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	36

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	กำเนิดของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของพืชสกุลมังคุดบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% PVP 500 มก/ล BA และ TDZ ความเข้มข้นเท่ากัน 0.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	37
15	ชิ้นส่วนของมังคุดที่เพาะเลี้ยงต่อการสร้าง meristematic nodular callus บนอาหารสูตร MS เติม BA และ TDZ ความเข้มข้นเท่ากัน 0.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	39
16	ความเข้มข้นของ BA ต่อการสร้างยอดจาก meristematic nodular callus บนอาหารสูตร WPM เป็นเวลา 1 เดือน	39
17	สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของพืชในสกุลมังคุดบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% PVP 500 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	41
18	ผลของ BA และ TU ร่วมกันที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อส้มแขกบนอาหารสูตร WPM เป็นเวลา 1 เดือน	43
19	ความเข้มข้นของ NAA ต่อการสร้างรากจากยอดเดี่ยวๆ ส้มแขกที่ตัดแยกไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NN เป็นเวลา 1 เดือน	44
20	สรุปสภาพที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชในสกุลมังคุดด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	46
21	อัตราการสร้างแคลลัสจากดอกที่อายุต่างกันในอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D NAA และ KN ความเข้มข้น 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	49
22	การสร้างแคลลัส และสีของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในสภาพให้แสง และในสภาพมืดบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D NAA และ KN ความเข้มข้น 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	50
23	การสร้างยอดรวม และจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนของมะไฟหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์	53
24	ผลของสูตรอาหารต่อการพัฒนาของยอด และการสร้างรากของต้นมะไฟหลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน	55

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
25	การสร้างยอดรวม และจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนของจำปุลิงหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์	56
26	ผลของสูตรอาหาร และความเข้มข้นของ Dicamba ต่อการสร้างแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงคัพภะหลุมพีเป็นเวลา 2 เดือน	64
27	ผลของชนิดชิ้นส่วนและสูตรอาหารต่อการสร้างแคลลัสของมะรุมหลังวางเลี้ยง 1 เดือน	70
28	ผลของอายุใบอ่อนสีแดงต่อการสร้างแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร MS เติม BA หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มก/ล	76
29	การพัฒนาของชิ้นส่วนใบหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA หรือ 2,4-D ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน	77
30	ผลของพันธุ์ส้มโอต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด	82
31	ผลของพันธุ์ส้มโอต่อเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดและจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน	82
32	ผลของไซโตไคนินชนิดและความเข้มข้นต่างๆ ต่อการสร้างยอดรวมจากชิ้นส่วนลำต้นเหนือใบเลี้ยงต้นกล้าส้มโชกุน หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน	86
33	ผลของ BA และ TDZ ต่อเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวมจากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าส้มโชกุน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน	87
34	ผลของ NAA และ IBA ต่อการสร้างรากจากยอดใหม่ส้มโชกุน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน และการรอดชีวิตหลังย้ายปลูก 1 เดือน	91
35	สถานภาพผักพื้นบ้านไม้ผลพื้นเมืองที่นำมาศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	94

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของต้นสะตอที่พัฒนาบนอาหารทั้ง 4 สูตร	11
2	ลักษณะของชิ้นส่วนสะตอที่วางเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม IAA 0.1มก/ล และ KN 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือนหลังวางเลี้ยง	12
3	แสดงลักษณะของชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์= 1 ซม)	13
4	พัฒนาการของชิ้นส่วนสะตอหลังวางเลี้ยง บนอาหารสูตร MS เติม TDZ 0.5 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มก/ล ที่ไม่เติมผงถ่าน (ก) และอาหารที่เติมผงถ่าน (ข-ง) เป็นเวลา 1 เดือน	14
5	ลักษณะของเมล็ดเหรียงที่จำแนกตามความสุกแก่ของเมล็ด	15
6	ต้นเหรียงที่ได้จากการวางเลี้ยงส่วนของคัพภะ (ซ้าย) และคัพภะที่มีใบเลี้ยงอยู่ครึ่งหนึ่ง (ขวา) บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 เดือน	16
7	ต้นเหรียงที่ได้จากการวางเลี้ยงคัพภะบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 1 เซนติเมตร)	17
8	ผลของชนิดของผงวุ้นและชนิดชิ้นส่วนที่มีผลต่อการสร้างยอดของต้นเหรียงหลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 ซม)	19
9	ผลของผงถ่านต่อการพัฒนาของยอดเหรียงหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 ซม)	20
10	การสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดเมล็ดในอาหารสูตรพื้นฐานหรือสูตรดัดแปลง MS เติม BA เข้มข้น 5 มก/ล เป็นเวลา 45 วัน (บาร์=1 ซม)	25
11	การสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดส้มแขกในอาหารสูตร MS เติม TU และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 60 วัน	26
12	พัฒนาการของโนดูลาแคลลัสบนอาหารชักนำแคลลัส และชักนำยอดรวมบนอาหารชักนำยอด	27
13	อัตราการสร้างแคลลัส และยอดรวมจากเมล็ดมะดันบนอาหารสูตร MS ที่เติมและไม่เติม PVP เข้มข้น 500 มก/ล หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน	28

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	ลักษณะการสร้างแคลลัส และยอดรวม จากชิ้นส่วนเมล็ด บนอาหารที่เติมและไม่เติม PVP เข้มข้น 500 มก/ล หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน (บาร์=0.5 ซม)	29
15	ลักษณะของแคลลัส และยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมะดันบนอาหารที่เติม (ซ้าย) และไม่เติม (ขวา) PVP เข้มข้น 500 มก/ล หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน (บาร์ = 0.5 ซม)	30
16	การเพิ่มปริมาณแคลลัส และยอดรวมมะดัน หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์ = 0.5 ซม)	31
17	การพัฒนาของยอดหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 45 วัน (บาร์ = 1 ซม)	33
18	การเพาะเลี้ยงใบอ่อนมังคุด และพะวาบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% PVP 500 มก/ล BA เข้มข้น 1-5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 30 วัน	34
19	พัฒนาการของยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงต้นกล้าในอาหาร 2 ชั้น ชั้นล่างเป็นอาหารแข็งสูตร MMS เติม BA 1 มก/ล อาหารชั้นที่สองเป็นอาหารเหลว สูตร ½ MS เติม NAA 0.06 มก/ล BA 0.03 มก/ล และTDZ 0.03 มก/ล	35
20	พัฒนาการของยอดโดยตรงจากใบอ่อนส้มแขกบนอาหารสูตร WPM เติม BA 0.5 มก/ล และ TU 0.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน (เตรียมใบโดยเพาะเลี้ยงปลายยอดบนอาหารแข็งสูตร WPM เป็นเวลา 1 เดือน แล้วเติมอาหารเหลวสูตรเดิมลงไปและเพาะเลี้ยงต่ออีกเป็นเวลา 1 เดือน)	36
21	รูปแบบการสร้างแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนมังคุดแคลลัสพัฒนาจากทั้งโคนใบ เส้นกลางใบ และปลายใบ	38
22	ลักษณะแคลลัสที่พัฒนาจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนส้มแขกจากต้นกล้าที่เพาะเมล็ดในหลอดทดลองบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% PVP 500 มก/ล BA และ TDZ ความเข้มข้นเท่ากัน 0.5 มก/ล เป็นเวลา 40 วัน	38
23	ขั้นตอนการขยายพันธุ์มังคุดจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนสีแดงผ่านการสร้างแคลลัส	40
24	พัฒนาการของยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอด (ก) และข้อ (ข) บนอาหาร WPM เติม BA 0.5 มก/ล และ TU 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	43

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
25	พัฒนาการของยอดรวมบริเวณส่วนลำต้นจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ (ก) และราก (ข) บนอาหาร WPM เติม BA 0.5 มก/ล และ TU 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	44
26	การย้ายต้นกล้าที่มีรากสมบูรณ์ลงปลูกในกระถาง 4 นิ้วที่บรรจุดินผสม (ดิน:ขุยมะพร้าว: เวอร์มิคิวไลต์ 1:1:1) (ก) และควบคุมความชื้นและแสงในเรือนกระจก (ข)	45
27	แสดงแคลลัสที่วางเลี้ยงในสภาพต่างกัน (บาร์ = 1 ซม)	50
28	ลักษณะการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (บาร์ = 1 ซม)	54
29	การพัฒนาของยอด และรากจากการเพาะเลี้ยงปลายยอดมะไฟบนอาหารสูตร MS (ก) และ ½ MS (ข) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์=1 ซม)	55
30	ลักษณะการสร้างยอดของจำปุลิงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (บาร์=1 ซม)	57
31	ลักษณะของผล และเมล็ดลังแขที่แยกจากผลเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยง	58
32	ขั้นตอนการเตรียมชิ้นส่วนเมล็ดลังแขเพื่อวางเลี้ยงในหลอดทดลอง	59
33	การสร้างแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ และข้อของลังแข บนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มก/ล เป็นเวลา 6 สัปดาห์	60
34	ลักษณะของแคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนใบ (ก) และ ชิ้นส่วนข้อ (ข) บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 0.5 มก/ล เป็นเวลา 6 สัปดาห์ (บาร์= 0.5 ซม)	60
35	ขั้นตอนการเตรียมชิ้นส่วนคัพภะของหลุมพี และการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำแคลลัส และพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ต่อไป	62
36	พัฒนาการของคัพภะหลุมพีหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน ก-ง อาหารสูตร MS จ-ซ อาหารสูตร Y3 เติม dicamba 0 5 2.5 และ 1 มก/ล (บาร์=1 ซม)	65
37	การเพิ่มปริมาณแคลลัสหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 0.3 และ 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	66

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
38	ลักษณะแคลลัสหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 0.3 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์= 1 ซม)	66
39	การเพิ่มปริมาณแคลลัสด้วยวิธีการย้ายเลี้ยงปกติ และสับแคลลัสเป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนการย้ายเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน	67
40	ลักษณะแคลลัสหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 ซม)	68
41	ลักษณะแคลลัสหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารเติม dicamba ความเข้มข้น 0.1 มก/ล เป็นเวลา 2 เดือน (บาร์ = 1 ซม)	68
42	ลักษณะแคลลัสจากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอด (ซ้าย) และชิ้นส่วนคัพภะอ่อน (ขวา) เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์=1 ซม)	71
43	ต้นมะรุมจากการวางเลี้ยงคัพภะอ่อนบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับ GA_3 เข้มข้น 1 มก/ล และผงถ่าน 0.25% (บาร์= 1 ซม)	72
44	ลักษณะแคลลัสจากการวางเลี้ยงปลายยอดจากต้นในหลอดทดลองบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D 1.5 มก/ล และ BA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 ซม)	72
45	ลักษณะของใบอ่อนสีแดงของอบเชยแต่ละขนาดที่ใช้ในการชักนำแคลลัส	75
46	ลักษณะแคลลัสที่สร้างจากใบอ่อนสีแดงหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์= 1 ซม)	78
47	ลักษณะของแคลลัสจากใบอ่อนสีแดงของอบเชยหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ร่วมกับ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 มก/ล เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (บาร์= 1 ซม)	79
48	ยอดของส้มโอพันธุ์ทองดีบนอาหารสูตร MS เติม BA 1 มก/ล น้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.7% (บาร์ = 0.5 ซม)	83
49	ยอดรวมจากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าส้มโชกุนที่เลี้ยงในอาหารเติม BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน แล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารเติม GA_3 เข้มข้น 0.1 มก/ล ต่ออีกเป็นเวลา 1 เดือน	88

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
50	ผลของ GA_3 เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวมจากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าส้มโชกุน	89
51	รากจากยอดส้มโชกุนที่ชักนำในอาหารเติม NAA หรือ IBA ความเข้มข้นต่างกัน	92
52	ส้มโชกุนต้นใหม่หลังย้ายปลูกลงดิน 1 เดือน	92
53	พัฒนาการของยอดรวมโดยตรงจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงส้มจุกบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) และเติม BA 1 มก/ล (ข)	93

บทนำ

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์พืชมีความเป็นไปได้สูงมาก ชนิดพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจกำลังได้รับความสนใจทั้งในการศึกษาขั้นพื้นฐานเพื่อการขยายพันธุ์สำหรับวัตถุประสงค์นี้ชิ้นส่วนเริ่มต้นที่นำมาเพาะเลี้ยงมักเป็นข้อ ปลายยอด คัพภะ เป็นต้น ทั้งนี้เพราะชักนำให้สร้างยอดรวม หรือยอดแขนงได้ง่าย รวดเร็ว ที่สำคัญคือตรงตามพันธุ์แม่เดิมที่นำมาขยายทุกประการ อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนอื่นๆ เช่นใบอ่อน ช่อดอกอ่อน ราก ลำต้น แล้วชักนำการสร้างยอดแขนงโดยตรงจำนวนมาก หรือชักนำแคลลัสที่มีโครงสร้างของยอดอ่อน (meristematic nodular callus) หรือต้นอ่อนภายใน (embryogenic callus) จากนั้นใช้แคลลัสดังกล่าวเป็นเครื่องมือในการขยายพันธุ์ผักพื้นบ้าน ไม้ผลพื้นเมืองก็นับเป็นการช่วยขยายพันธุ์พืชดังกล่าวได้อีกทางหนึ่งด้วย

ผลสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้างต้นนั้นพบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อพัฒนาการของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง ทั้งนี้เพราะสารควบคุมการเจริญเติบโตส่งเสริมให้เกิดพัฒนาการของยอดรวม แคลลัสที่กล่าวแล้วข้างต้นโดยเฉพาะไซโตไคนินที่ส่งเสริมการแตกยอดรวม ปัจจุบันมีการใช้สารตัวใหม่ๆ เพื่อส่งเสริมการเกิดยอดรวม/ต้นอ่อน เช่นไดแคมบา (Di) ไธไดอะซูรอน (TDZ) เป็นต้น มีรายงานการชักนำโซมาติคเอ็มบริโอเจนิซิสทั้งโดยตรงและผ่านการสร้างแคลลัสจากพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยใช้ไดแคมบา ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน (Kackar *et al.*, 1993; Taylor *et al.*, 1992; Wang, 1990; Te-chato *et al.*, 2002) ความเข้มข้น 1 มก/ล มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อการชักนำแคลลัสเริ่มแรกในกุหลาบ (Murali *et al.*, 1996) ความเข้มข้น 1-2.5 มก/ล ส่งเสริมการสร้างแคลลัสและร่นระยะเวลาการสร้างแคลลัสในปาล์มน้ำมันได้ 15-30 วัน เมื่อลดความเข้มข้นลงเป็น 0.1 มก/ล สามารถชักนำกระบวนการเอ็มบริโอเจนิซิสได้สูงสุด (Te-chato *et al.*, 2002) และเนื่องจาก Di มีความจำเพาะต่อการชักนำแคลลัส/เอ็มบริโอเจนิคแคลลัสในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ดังนั้น Di น่าจะเป็นสารควบคุมที่มีประสิทธิภาพในการชักนำกระบวนการเอ็มบริโอเจนิซิสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนหญ้าแฝกได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถที่จะชักนำเอ็มบริโอเจนิคซัสเพนชั่นเพื่อการผลิตเมล็ดเทียมหญ้าแฝกที่มีประสิทธิภาพ การผลิตเมล็ดเทียมเป็นการค้านั้นมีรายงานในแครอท ซึ่งมีพื้นฐานการศึกษาจาก Fujimura และ Komamine (1979a, b; 1980) นอกจากนี้ Komamine และคณะ (1992) ยังมีรายงานการผลิตเมล็ดเทียมในกล้วยไม้ซิมบิเดียม (Corrie and Tandon, 1993) ข้าวบาร์เลย์ (Datta and Potrykus, 1989) สำหรับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวยืนต้น เช่นปาล์มน้ำมันก็มีการศึกษาการผลิตเมล็ดเทียมจากเอ็มบริโอเจนิคเซลล์ซัสเพนชั่นเช่นเดียวกัน (Duval, *et al.*, 1995) แต่เนื่องด้วยปัญหาการงอกที่ไม่มีประสิทธิภาพและการกลายพันธุ์ที่สูงในพืชนี้จึงทำให้อุตสาหกรรมเมล็ดเทียมปาล์มน้ำมันยังไม่เป็นรูปธรรม

อย่างไรก็ตามการพัฒนาเทคนิคการผลิตเมล็ดเทียมเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษา (Gray *et al.*, 1987, 1995; Senarathna *et al*., 1990; Janick *et al*., 1989; Takahata *et al*., 1993) และพัฒนาระบบการหุ้มห่อ (encapsulate/seed coat) (Dainty *et al.,* 1986; Tay *et al*., 1993) เพื่อให้เมล็ดดังกล่าวเหมือนกับเมล็ดพันธุ์พืชปกติ

พืชผักพื้นบ้าน และไม้ผลพื้นเมืองที่สำคัญในภาคใต้นั้นได้มีการสำรวจ และจัดลำดับความสำคัญตามความเป็นประโยชน์ ความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์โดยนักวิจัย และผู้ใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นจนได้กลุ่มพืชดังกล่าวออกมาดังแสดงในตารางที่ 1 เนื่องจากพืชดังกล่าวเป็นพืชยืนต้น ที่มีการใช้ประโยชน์ของยอดอ่อน ใบ ผล และเมล็ด มาใช้ประโยชน์เพื่อรับประทานเป็นอาหาร ยา และประกอบพิธีกรรมทางศาสนาเป็นต้น หากพืชใดที่สามารถขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดได้ และผลิตเมล็ดเป็นจำนวนมากก็ไม่มีปัญหารุนแรงต่อการสูญพันธุ์ ในทางตรงข้ามพืชใดไม่สร้างเมล็ดก็จะกระจายพันธุ์ได้น้อย การช่วยขยายพันธุ์ด้วยวิธีการต่างๆ จึงจำเป็น ที่ผ่านมาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ผล พืชยืนต้นนั้นต้องมีการศึกษาหาชิ้นส่วน สูตรอาหาร และสภาพการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม ซึ่งโดยทั่วไปใช้เวลานานกว่าพืชล้มลุกทั่วไป มีชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อพัฒนาการในหลอดทดลอง และสามารถที่จะตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตที่คัดเลือกมาใช้ เช่น ไธไดอะซูรอน ไดแคมบา และสามารถที่จะพัฒนาให้พืชต้นใหม่จำนวนมากผ่านกระบวนการ organogenesis หรือ embryogenesis พร้อมที่จะขยายพันธุ์เพื่อลดความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ และยังใช้เป็นวัสดุพืชในการอนุรักษ์ในหลอดทดลองในระยะยาวได้ด้วย

ตารางที่ 1 กลุ่มผักพื้นบ้านไม้ผลพื้นเมืองที่มีการจัดอันดับความสำคัญในการศึกษาวิจัย และอนุรักษ์

สกุล	ชนิดพืช
พืชสกุลหลักผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมือง	
เอกลักษณ์ของภาคใต้	
1. *Parkia*	สะตอ เหรียง ค้อนก้อง ลูกดิ่ง
2. *Archidendron*	เนียง นาง เนียงนก เนียงรอก
3. *Diallium*	หยี
4. *Garcinia*	มังคุด พะวา ส้มแขก ชะมวง มะพูด มะดัน
5. *Lansium*	ลองกอง ลางสาด ดูกู
6. *Mangifera*	มะม่วงเบา มะม่วงคัน มะมุด
7. *Citrus*	ส้มพื้นเมือง
8. *Artocarpus*	ขนุน ขนุนจำปาดะ
9. *Bacaurea*	มะไฟ จำปุลิง ลังแข
ผักพื้นบ้าน ไม้ผลพื้นเมืองที่หายากใกล้สูญพันธ์	
1. *Diospyros*	
2. *Cinnamomum*	อบเชย
3. *Mukia*	
4. *Eugenia*	เนียน อิน จันทน์ ตะโก พลับ
5. *Bouea*	จวง เทพทาโร อบเชย แสวง ธัมมัง เชียด
พันธุ์พืชพื้นเมืองท้องถิ่นภาคใต้	ตะขบ
1. *Brownlowia*	หว้า ขี้ใต้ ฝาด แพร์
2. *Areca*	มะปริง มะปราง
3. *Horrheana*	
4. *Pternandra*	ยูง
5. *Calophyllum*	เค็ด
	พุดทุ่ง
	ตังหน
	โท๊ะ

ดังกล่าวแล้วข้างต้นว่าผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองข้างต้นนั้นมีลักษณะที่แตกต่างกัน การตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงต่างกันออกไป ดังนั้นจึงไม่สามารถที่จะทำได้ทั้งหมดภายในระยะเวลาสั้น ในการศึกษาเบื้องต้นจึงเลือกเฉพาะกลุ่มพืชตัวแทนที่นำมาศึกษาหาวิธีการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ตัวอย่างผักพื้นบ้านไม้ผลพื้นเมืองที่นำมาศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สกุล	ชนิดพืช
พืชสกุลหลักผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองเอกลักษณ์ของภาคใต้	
1. *Parkia*	สะตอ เหรียง
2. *Garcinia*	มังคุด พะวา ส้มแขก ชะมวง มะพูด มะดัน
3. *Citrus*	ส้มพื้นเมือง
4. *Baccaurea*	มะไฟ จำปุลิง ลังแข
ผักพื้นบ้าน ไม้ผลพื้นเมืองที่หายากใกล้สูญพันธุ์	
6. *Cinnamomum*	อบเชย
อื่นๆ	
7. Rhodomytus	โท๊ะ
8. *Eleiodoxa*	หลุมพี
9. Moringa	มะรุม

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อขยายพันธุ์พืชท้องถิ่นที่มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์
2. เพื่อขยายพันธุ์พืชท้องถิ่นให้ได้จำนวนมากด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้เพียงพอต่อการใช้ประโยชน์ และเป็นพืชเงินพืชทองในอนาคต
3. เพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมพืชท้องถิ่นอย่างถาวรเพื่อการปลูกพืชท้องถิ่นที่ยั่งยืน

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

1. วัสดุพืช

ชิ้นส่วนเริ่มต้นของพืชแต่ละชนิดมีผลต่อพัฒนาการในหลอดทดลอง ดังนั้นชิ้นส่วนเริ่มต้นที่ใช้จึงแตกต่างกัน ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ชนิดของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่ใช้ในแต่ละพืช

สกุล	ชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง
พืชสกุลหลักผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมือง	
เอกลักษณ์ของภาคใต้	
1. *Parkia*	คัพภะ
2. *Garcinia*	เมล็ด ใบอ่อนสีแดง
3. *Lansium*	เมล็ด ปลายยอด
4. *Citrus*	เมล็ด ลำต้นของต้นกล้า ปลายยอด
5. *Bacaurea*	เมล็ด ปลายยอด
ผักพื้นบ้าน ไม้ผลพื้นเมืองที่หายากใกล้สูญพันธุ์	
6. *Cinnamomum*	ใบอ่อนสีแดง
อื่น ๆ	
7. *Rhodomyrtus*	เมล็ด อับละอองเกสร
8. *Eleiodoxa*	คัพภะอ่อน
9. *Moringa*	เมล็ดอ่อน

2. การเตรียมชิ้นส่วนพืช

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทุกขั้นตอนจำเป็นต้องปลอดเชื้อ ดังนั้นก่อนทำการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชต้องนำมาล้างด้วยสบู่หรือน้ำยาล้างจานซึ่งมีฤทธิ์เป็นกลางไม่กัด หรือสร้างแผลกับชิ้นส่วนที่เลี้ยง ล้างออกด้วยน้ำประปาหลาย ๆ ครั้ง ตกแต่งให้ชิ้นส่วนมีขนาดพอเหมาะ จากนั้นจึงนำมาจุ่มแช่ในแอลกอฮอล์ 70 % เป็นเวลา 30 วินาที ถึง 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น จุ่มแช่อีกครั้งในคลอร๊อกซ์ 20 % (มีตัวสารออกฤทธิ์โซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 1.25%) ร่วมด้วยทวีน 20 ปริมาตร 2-3 หยดต่อสารละลายฟอกฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10-30 นาที เมื่อครบเวลาในขั้นตอนนี้จึงนำชิ้นส่วนพืชซึ่งจุ่มแช่ในสารละลายคลอร๊อกซ์เข้าในตู้ย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เท

คลอร๊อกซ์ทิ้ง ล้างชิ้นส่วนพืชด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3-5 ครั้ง ซับให้แห้ง สำหรับเทคนิคหรือวิธีการฟอกฆ่าเชื้อแต่ละชิ้นส่วนพืชมีความแตกต่างกันดังสรุปในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชก่อนการเลี้ยง

ชิ้นส่วนพืช	วิธีการ			
	ก่อนฟอกฆ่าเชื้อ	ฟอกฆ่าเชื้อ	หลังฟอกฆ่าเชื้อ	หมายเหตุ
เมล็ด (สะตอ มะไฟ และจำปุลิง)	จุ่มแช่ 70% EtOH นาน 30 วินาทีล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	จุ่มแช่โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1-2% นาน 20 นาที	ล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3-5ครั้ง เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้	ใช้ปลายยอดและข้อสำหรับชักนำยอดรวม
ผล (มะรุมและ โท๊ะ)	ล้างผิวผลด้วยผงซักฟอก ถูด้วยฟองน้ำ	จุ่มแช่ 70-90% EtOH ลนไฟให้ EtOH แห้ง1-2 ครั้ง	ตัดแยกเมล็ดภายในผลมาเพาะเลี้ยง	ใช้ปลายยอดสำหรับชักนำแคลลัสและยอดรวม
ต้นอ่อน (หลุมพี)	ตัดเนื้อในเมล็ดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมก่อนนำมา จุ่มแช่ 70%EtOH 30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่น	จุ่มแช่โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1-2% นาน 13-30 นาที	ล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3-5 ครั้ง	ขั้นตอน (ภาพที่ 35)
ดอก (โท๊ะ)	จุ่มแช่ใน 70%EtOH นาน 30 วินาที	จุ่มแช่โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 20% นาน 15 -30นาที	ล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3-5 ครั้ง	เปิดดอกแยกอับละอองเกสรโดยไม่ให้มีก้านชูติด

3. สูตรอาหาร และวิธีการเตรียม

การศึกษานี้ใช้อาหารสูตรพื้นฐาน ดัดแปลง MS (Murashige and Skoog) สูตร NN (Nistch and Nistch) สูตร WPM (Woody plant medium) และสูตร Y3 (Euwene) อาหารแต่ละสูตร

เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% ปรับ pH 5.6-5.8 ผงวุ้น 0.75% (อาหารแข็ง) แบ่งใส่ภาชนะเพาะเลี้ยง แล้วนำนึ่งฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121°ซ (250°ฟ) ความดัน 1.05 กก/ตร.ซม. เป็นเวลา 15 นาที

4. สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการศึกษานี้ มีทั้ง ออกซิน และ ไซโตไคนิน ซึ่งชนิดและความเข้มข้นที่ใช้แสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้น (มก/ล)
NAA	0.01- 1
2,4-D	0.01- 1
IAA	0.01-5
KN	0.01-1
BA (BAP)	0.01- 5
Dicamba	0.1- 5
TDZ	0.01-2
TU	0.01-2

5. สภาพแวดล้อมการเพาะเลี้ยง

ทุกชิ้นส่วนพืชที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วเพาะเลี้ยงภายใต้การให้แสงจากหลอดไฟฟ้าฟลูออเรสเซนต์ขนาด 40 วัตต์ความเข้ม 10-20 $\mu mol/m^2/s$ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงใน 1 วัน ที่อุณหภูมิ 25-28°ซ ทำการย้ายเลี้ยงไปในอาหารใหม่ที่จำเพาะในพืชแต่ละชนิดเพื่อส่งเสริม และเพิ่มปริมาณยอดรวมทุกๆ เดือน

วิธีการศึกษาในพืชแต่ละชนิดและผลการศึกษา

พืชในสกุลสะตอ

(*Parkia* spp.)

1. สะตอ (*Parkia speciosa*)

1.1 ศึกษาการเพาะเลี้ยงคัพภะสะตอในหลอดทดลอง

นำคัพภะสะตอ วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซิน (NAA หรือ IAA) และไซโตไคนิน (BA หรือ KN) ดังนี้คือ

- MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต
- MS เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS เติม IAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและ KN1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA1 มิลลิกรัมต่อลิตร

วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 2 °ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ศึกษาเปอร์เซ็นต์ความงอกของคัพภะ ความสูง จำนวนใบ และเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสแบบปม เปรียบเทียบกันในแต่ละสูตรอาหาร โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Complete Randomized Design) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's multiple range test)

1.2 ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดโดยวิธีไมโครคัตติ้ง

วางเลี้ยงส่วนของยอด ข้อ ลำต้นใต้ใบเลี้ยง และข้อใบเลี้ยงของสะตอจากการเพาะเลี้ยงคัพภะในการศึกษาที่ 1 บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย KN 1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 2 °ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวม จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน เปรียบเทียบกันในแต่ละชิ้นส่วนเริ่มต้นที่วางเลี้ยง โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

1.3 ศึกษาการชักนำยอดจากแคลลัสแบบปม

วางเลี้ยงชิ้นส่วนแคลลัสแบบปมขนาด 0.5 ซม.ในอาหารแข็ง MS เติม BA หรือ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 26 $\pm$ 2 °ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างยอด จำนวนยอด เปรียบเทียบกันในแต่ละชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต

1.4 ศึกษาผลของผงถ่านต่อการเกิดยอด

วางเลี้ยงชิ้นส่วนแคลลัสแบบปมขนาด 0.5 เซนติเมตร ในอาหารแข็ง MS เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมผงถ่าน 0.2%

และไม่เติม วางเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 28 ± 2 °ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกอัตราการสร้างยอด จำนวนยอด เปรียบเทียบกันในแต่ละสูตรอาหาร

ผลการศึกษา

1.1 ศึกษาการเพาะเลี้ยงคัพภะสะตอในหลอดทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงคัพภะสะตอบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซิน ไซโตไคนิน หรือใช้ร่วมกันระหว่างออกซินและไซโตไคนิน พบว่า คัพภะของสะตอสามารถงอกได้ในอาหารทุกสูตร (ภาพที่ 1) ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด 61% ในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต แต่พบว่าการพัฒนาของต้นอ่อนในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ออกซินร่วมกับไซโตไคนิน) ให้การพัฒนาของต้นอ่อนได้ดีกว่า โดยอาหารที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงของต้นอ่อนสูงสุด 3.80 เซนติเมตร รองลงมาคืออาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ความสูง 3.34 เซนติเมตร และพบว่า อาหารสูตรนี้ให้จำนวนใบมากที่สุด 9.40 ใบ ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสแบบปมมีเปอร์เซ็นต์การเกิดสูงสุดในอาหารเติม IAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ KN ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความงอก ความสูง จำนวนใบ และเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสแบบปมของคัพภะสะตอ ในอาหารสูตรต่างๆ

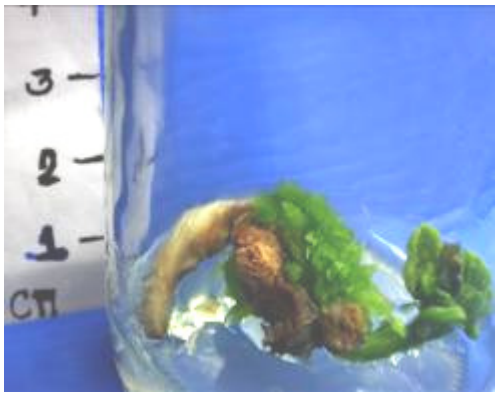
สูตรอาหาร	ความงอกของคัพภะ(%)	ความสูง (ซม)	จำนวนใบ (ใบ)	การเกิดแคลลัสที่เป็นปม (%)
MS free	61	2.30bc	3.80b	18
MS + BA 1 มก/ล	50	1.80c	4.00b	22.2
MS + IAA 0.1 มก/ล + KN 1 มก/ล	27.7	3.80a	4.80b	60
MS + NAA 0.1 มก/ล+ BA 1 มก/ล	55.5	3.34ab	9.40a	40
F – test		*	*	
C.V. (%)		29.25	58.35	

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

ก

ข



ค

ง

ภาพที่ 1 ลักษณะของต้นสะตอที่พัฒนาบนอาหารทั้ง 4 สูตร

(ก) อาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

(ข) อาหารสูตร MS เติม BA 1 มก/ล

(ค) อาหารสูตร MS เติม NAA 0.1 มก/ล และBA 1 มก/ล

(ง) อาหารสูตร MS เติม IAA 0.1 มก/ล และ KN 1 มก/ล

1.2 ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดโดยวิธีไมโครคัตติ้ง

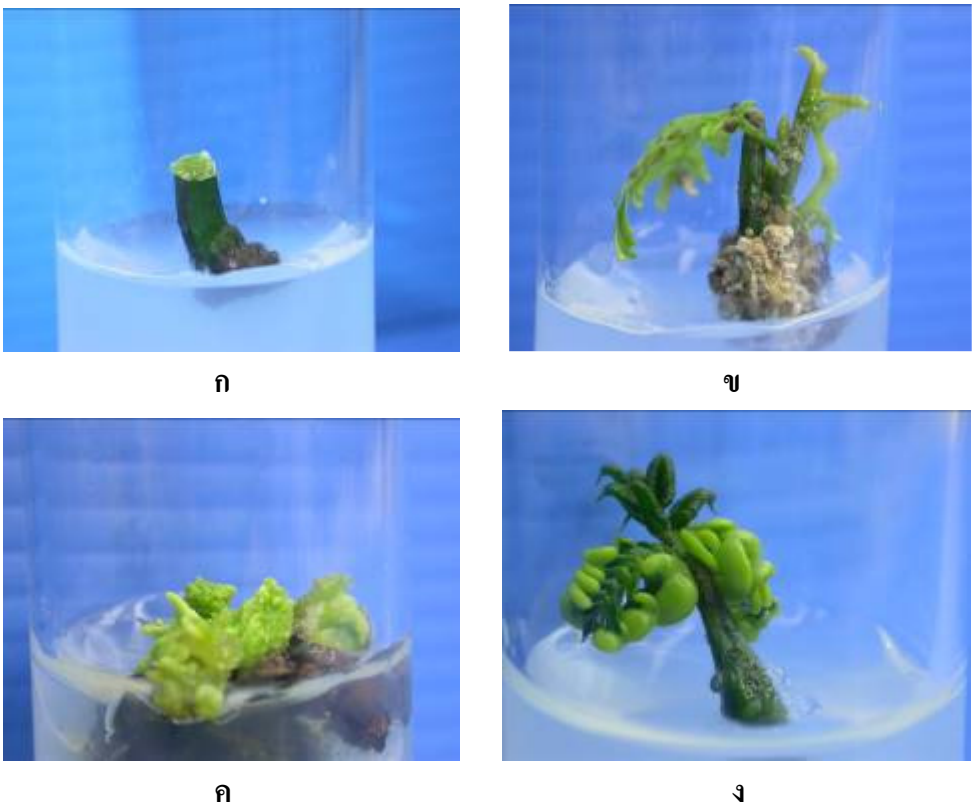
จากการวางเลี้ยงส่วนของยอด ข้อ ลำต้นใต้ใบเลี้ยง และส่วนของแคลลัสแบบปม ของสะตอจากการเพาะเลี้ยงคัพภะในการศึกษาที่ 1 บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย KN 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนข้อและแคลลัสแบบปมให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% ซึ่งชิ้นส่วนข้อให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวม จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนสูงสุด 86.67 1.37 ตามลำดับ (ตารางที่ 7) ส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงสร้างสารสีน้ำตาล จนทำให้ชิ้นส่วนเหี่ยวตาย (ภาพที่ 2 ก) และชิ้นส่วนของแคลลัสแบบปมไม่มีการสร้างยอด แต่มีการขยายขนาดของชิ้นส่วนที่วางเลี้ยง และชิ้นส่วนยอดที่วางเลี้ยงเกิดการขยายขนาดของแผ่นใบ (ภาพที่ 2 ง)

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต การสร้างยอดรวม จำนวนยอด ของชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม IAA 0.1 มก/ล และ KN 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน

ชิ้นส่วน	การรอดชีวิต(%)	การสร้างยอดรวม(%)	จำนวนยอด/ชิ้นส่วน
ยอด	86.67a	20.00b	0.67
ข้อ	100 .00a	86.67a	1..37
ลำต้นใต้ใบเลี้ยง	53.33 b	20.00b	0.67
แคลลัสแบบปม	100.00a	0	0
F – test	*	*	ns
C.V. (%)	19.21	48.24	56.29

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ



ก ข

ค ง

ภาพที่ 2 ลักษณะของชิ้นส่วนสะตอที่วางเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม IAA 0.1มก/ล และ KN 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือนหลังวางเลี้ยง

(ก) ลำต้นใต้ใบเลี้ยง (ข) ข้อ

(ค) แคลลัสแบบปม (ง) ยอด

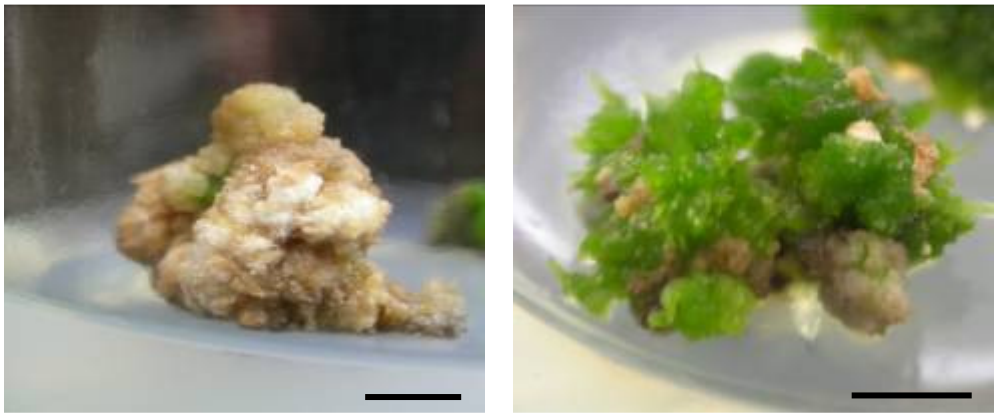
1.3 ศึกษาการชักนำยอดจากชิ้นส่วนแคลลัสแบบปม

จากการศึกษาพบว่าชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ ให้การพัฒนาของชิ้นส่วนได้ดีกว่าอาหารที่เติม BA และระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมคือ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งให้การพัฒนาของชิ้นส่วนได้ดีที่สุด (ตารางที่ 8) และพบว่า ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในอาหารทุกสูตร และในอาหารที่ไม่เติม TDZ ชิ้นส่วนมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในปริมาณมากกว่าอาหารที่เติม TDZ (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 8 พัฒนาการของชิ้นส่วนแคลลัสแบบปมบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมชนิดและความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน

	2,4-D (มก/ล)	พัฒนาการของแคลลัส
BA (0.5 มก/ล)	0.05	+
	0.1	+
	0.2	++
TDZ(0.5 มก/ล)	0.05	++
	0.1	+++++
	0.2	+++

\+ ชิ้นส่วนมีการเพิ่มปริมาณได้ 1-20 % ++ ชิ้นส่วนมีการเพิ่มปริมาณได้ 21-40%
+++ ชิ้นส่วนมีการเพิ่มปริมาณได้ 41-60% +++++ ชิ้นส่วนมีการเพิ่มปริมาณได้ 81-100%

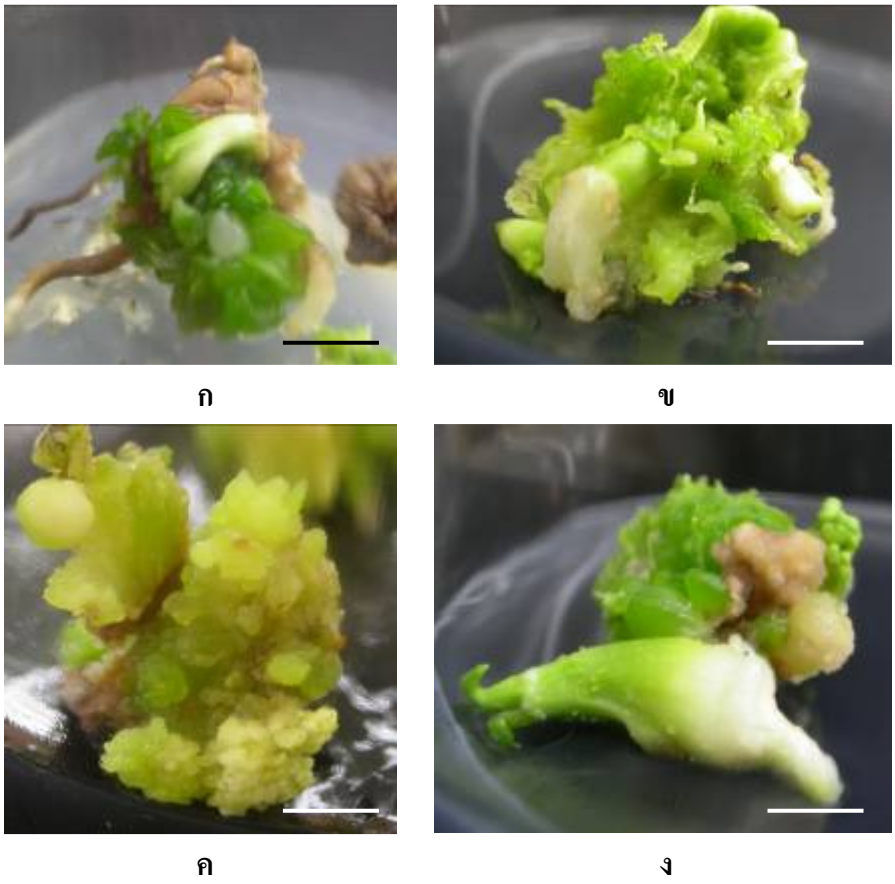


ก ข

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์= 1 ซม)
ก : MS+ BA(0.5 มก/ล)+ 2,4-D (0.1 มก/ล) ข: MS+ TDZ (0.5 มก/ล)+ 2,4-D (0.1 มก/ล)

1.4 ศึกษาผลของผงถ่านต่อการเกิดยอด

จากการศึกษาพบว่า อาหารที่เติมผงถ่านให้การพัฒนาของชิ้นส่วนได้ดีกว่าอาหารที่ไม่เติมผงถ่านโดยชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมผงถ่านชิ้นส่วนยังคงมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในปริมาณมาก ส่วนในอาหารที่เติมผงถ่านมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 พัฒนาการของชิ้นส่วนหลังวางเลี้ยง บนอาหารสูตร MS เติม TDZ 0.5 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มก/ล ที่ไม่เติมผงถ่าน (ก) และอาหารที่เติมผงถ่าน (ข-ง) เป็นเวลา 1 เดือน

2. เหรียง (*Parkia timoriana* Merr.)

2.1 ผลของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกและความสมบูรณ์ของต้นกล้าเหรียง

นำคัพภะเหรียงที่ตัดแยกออกจากใบเลี้ยง และคัพภะที่ยังมีส่วนของใบเลี้ยงอยู่ครึ่งหนึ่งมาวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.75% วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 2 ^{o}ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอกของคัพภะเปรียบเทียบกันในแต่ละชิ้นส่วน

2.2 ผลของอายุคัพภะที่มีต่อการงอกและการพัฒนาของคัพภะเหรียง

นำคัพภะเหรียงที่อายุต่างๆ หลังผสมเกสร (ภาพที่ 5) มาวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% วุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 2 °ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอกของคัพภะ เปรียบเทียบกันในแต่ละอายุของชิ้นส่วน

ภาพที่ 5 ลักษณะของเมล็ดเหรียงที่จำแนกตามความสุกแก่ของเมล็ด

2.3 ผลของชนิดผงวุ้นและชิ้นส่วนที่มีผลต่อการชักนำยอดของต้นเหรียง

วางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ บนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตรดังกล่าวเติมผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ หรือ ไฟตาเจลเข้มข้น 0.2 % วางเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 28 $\pm$ 2 °ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างยอด จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน เปรียบเทียบกันในแต่ละชนิดของชิ้นส่วนและชนิดของผงวุ้น

2.4 ศึกษาผลของผงถ่านต่อการเกิดยอด

วางเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ บนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมผงวุ้น 0.75% เปรียบเทียบระหว่างการเติมหรือไม่เติมผงถ่านเข้มข้น 0.2% วางเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 28 $\pm$ 2 °ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างยอด จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน เปรียบเทียบกันระหว่างการเติมหรือไม่เติมผงถ่าน

ผลการศึกษา

2.1 ผลของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกและความสมบูรณ์ของต้นกล้าเหรียง

จากการนำคัพภะเหรียงที่ตัดแยกออกจากใบเลี้ยง และคัพภะที่ยังมีส่วนของใบเลี้ยงอยู่ครึ่งหนึ่ง มาวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3 % วุ้น 0.75 % พบว่า คัพภะที่ตัดแยกออกจากใบเลี้ยงให้อัตราการงอกที่เร็วกว่าคัพภะที่วางเลี้ยงทั้งใบเลี้ยงในช่วง 1 สัปดาห์แรก เนื่องจากคัพภะที่วางเลี้ยงบนอาหารโดยตรงสามารถดูดซึมธาตุอาหารได้ดีกว่า ในขณะที่คัพภะที่วางเลี้ยงทั้งใบเลี้ยงยังไม่งอกในช่วงสัปดาห์แรก แต่เมื่อวางเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์พบว่าเริ่มมีเปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้น หลังจากวางเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ต้นกล้าที่ได้จากการวางเลี้ยงคัพภะที่ยังมีส่วนของใบเลี้ยงอยู่นั้นให้ต้นที่มีความสมบูรณ์มากว่าต้นที่ตัดแยกออกจากใบเลี้ยง (ภาพที่ 6)

ภาพที่ 6 ต้นเหรียงที่ได้จากการวางเลี้ยงส่วนของคัพภะ (ซ้าย) และคัพภะที่มีใบเลี้ยงอยู่ครึ่งหนึ่ง (ขวา) บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 1 เดือน

2.2 ผลของอายุคัพภะที่มีต่อการงอกและการพัฒนาของคัพภะเหรียง

จากการวางเลี้ยงคัพภะเหรียงที่อายุต่างๆ บนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% วุ้น 0.75% พบว่า อายุของคัพภะไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอก โดยทุกระยะของคัพภะให้เปอร์เซ็นต์การงอก 100% และสามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์พร้อมออกปลูกได้หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน (ภาพที่ 7)

ภาพที่ 7 ต้นเหรียงที่ได้จากการวางเลี้ยงคัพภะบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 1 เซนติเมตร)

2.3 ผลของชนิดผงวุ้นและชิ้นส่วนที่มีผลต่อการชักนำยอดของต้นเหรียง

จากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ บนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมผงวุ้น 0.75% หรือ ไฟตาเจลเข้มข้น 0.2% พบว่า ชิ้นส่วนข้อให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดสูงกว่าชิ้นส่วนปลายยอดในอาหารที่เติมวุ้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันในอาหารที่เติมไฟตาเจล และเมื่อพิจารณาจำนวนยอดจากการวางเลี้ยงข้อ พบว่า อาหารที่เติมไฟตาเจลให้จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนเฉลี่ย 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน สูงกว่าอาหารที่เติมวุ้นที่ให้จำนวนยอด 2.33 ยอดต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 9) โดยยอดที่ได้จากอาหารที่เติมไฟตาเจลจะมีการยืดยาวของยอดได้ดีกว่าอาหารที่เติมผงวุ้น (ภาพที่ 8)

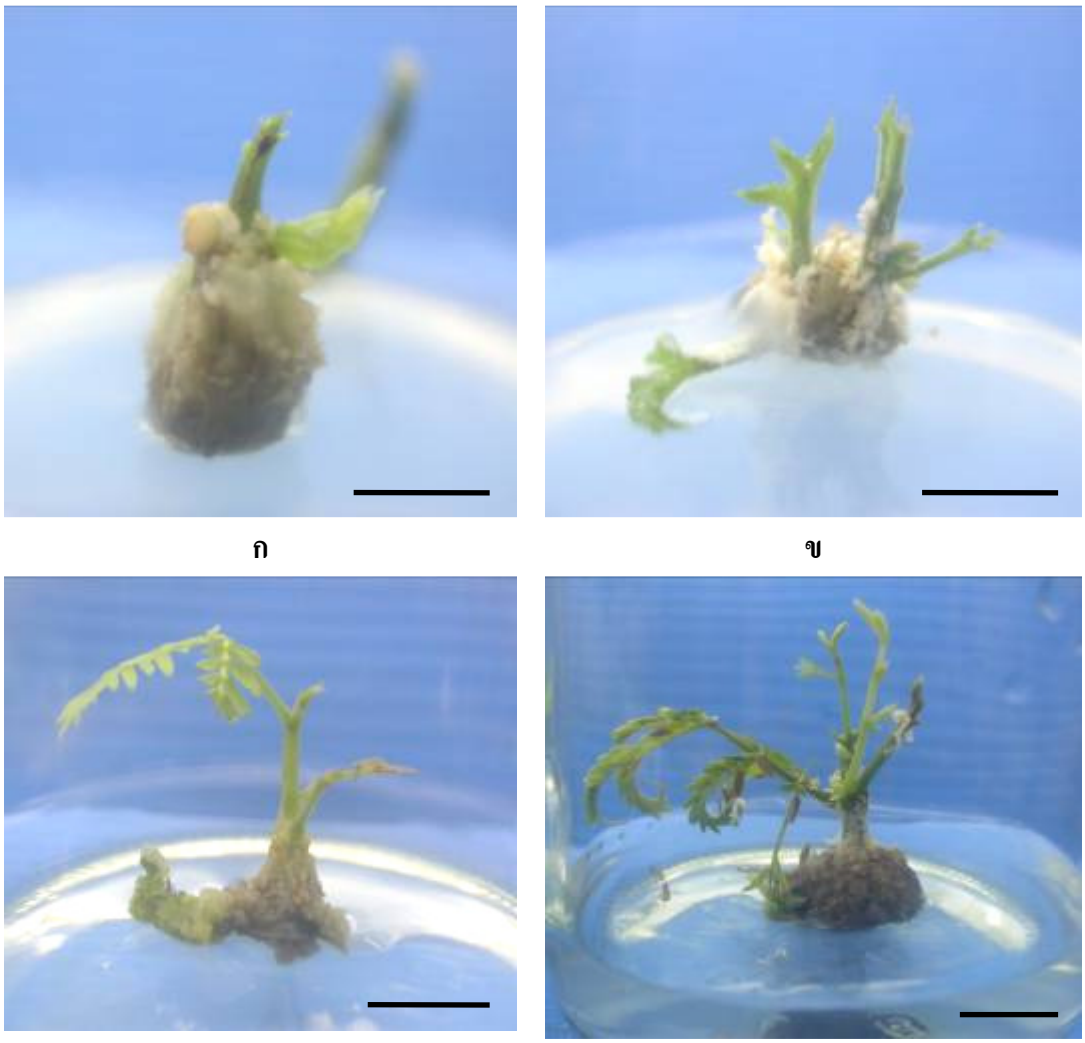
ตารางที่ 9 ผลของชนิดของผงวุ้นและชิ้นส่วนที่มีผลต่อการสร้างยอดของต้นเหรียงหลังการวางเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% BA เข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน

ชนิดผงวุ้น	ชนิดชิ้นส่วน	เปอร์เซ็นต์การสร้างยอด	จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน
ผงวุ้น	ข้อ	100	2.33b
	ปลายยอด	66.67	1.00c
ไฟตาเจล	ข้อ	100	3.33a
	ปลายยอด	100	1.00c
F-test		ns	*
C.V. (%)		31.49	21.29

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อวิเคราะห์ด้วย DMRT



ก ข

ค ง

ภาพที่ 8 ผลของชนิดของผงวุ้นและชนิดชิ้นส่วนที่มีผลต่อการสร้างยอดของต้นเหรียงหลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 ซม)

ก ชิ้นส่วนข้อวางเลี้ยงบนอาหารเติมผงวุ้น

ข ชิ้นส่วนปลายยอดวางเลี้ยงบนอาหารเติมผงวุ้น

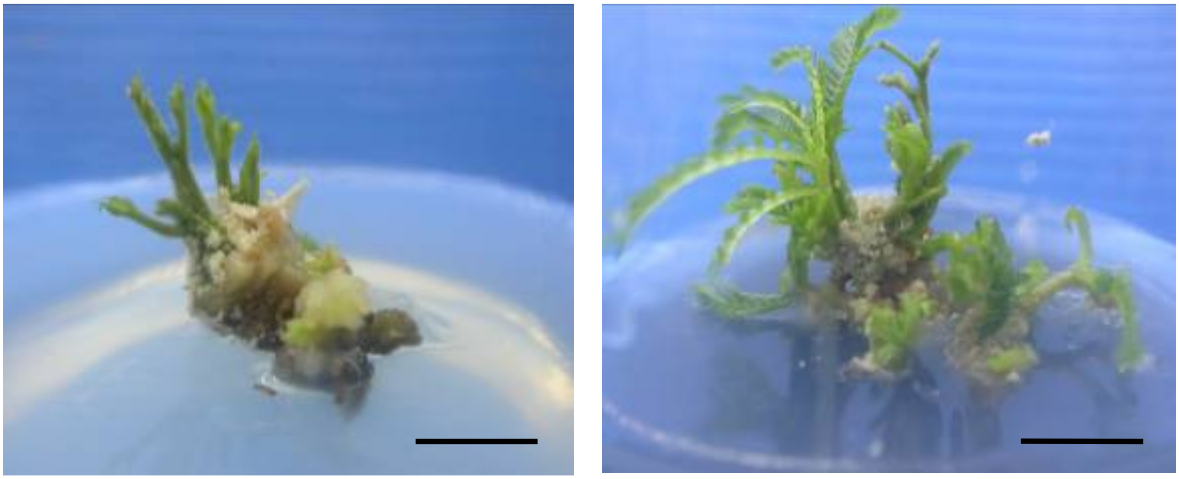
ค ชิ้นส่วนข้อวางเลี้ยงบนอาหารเติมไฟตาเจล

ง ชิ้นส่วนปลายยอดวางเลี้ยงบนอาหารเติมไฟตาเจล

2.4 ศึกษาผลของผงถ่านต่อการเกิดยอด

จากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ บนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมผงวุ้น 0.75% เปรียบเทียบระหว่างการเติมผงถ่านเข้มข้น 0.2% หรือไม่เติม พบว่า อาหารที่เติมผงถ่านให้จำนวน

ยอดเฉลี่ย 4.33 ยอดต่อชิ้นส่วน สูงกว่าอาหารที่ไม่เติมผงถ่าน และมีการพัฒนาของใบได้เร็วกว่าชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมผงถ่าน (ภาพที่ 9)



ก **ข**

ภาพที่ 9 ผลของผงถ่านต่อการพัฒนาของยอดเหรียงหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 ซม)

ก อาหารที่ไม่เติมผงถ่าน

ข อาหารที่เติมผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์

พืชในสกุลมังคุด

(*Garcinia* spp.)

1. พืชสกุลมังคุด

พืชในสกุลนี้จัดเป็นไม้ผลที่เป็นประเภทไม้ยืนต้นแบบไม่มีการผลัดใบชนิดหนึ่งที่อยู่ในวงศ์ Guttiferae มีขนาดเล็ก-กลาง สูง 5-10 เมตร ไม่ผลัดใบ ทรงพุ่มเขียวชอุ่ม มีรัศมีทรงพุ่มประมาณ 4-5 เมตร เปลือกต้นเรียบสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม ลำต้นตรงมีกิ่งแขนงแตกตั้งฉากออกรอบลำต้น ปลายกิ่งโค้งลง กิ่งแขนงมีเปลือกสีเขียวเข้ม ผลนั้นมีลักษณะแตกต่างกันออไปขึ้นกับชนิดมีทั้งที่กลม ยาวรี ผิวเรียบถึงมีร่อง เมื่อผลแก่มีสีเขียวและก็มีรสชาติที่เปรี้ยวจัดถึงฝาด เมื่อสุกเปลี่ยนเป็นสีชมพู แดงถึงเลือดหมู เป็นผลไม้ที่มีวิตามินซี กรดไฮดรอกซีซิตริคสูง นำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับสุขภาพ ในเปลือกผลบางชนิดเช่นมังคุดมีสารการ์ซินซึงใช้รักษาโรคทั้งในมนุษย์และสัตว์ ส่วนใบนั้นมีลักษณะสีเขียวเป็นรูปหอก นำมาใช้เป็นผักพื้นบ้านประกอบอาหาร เช่นชะมวง มะดันเป็นต้น

การกระจายพันธุ์ พบตามลำธาร และหนอง บึง ในป่าดงดิบแล้ง เจริญเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิด แต่ชอบดินร่วนโปร่ง มีการระบายน้ำดี มีความชื้นสูงและมีความอุดมสมบูรณ์สูง ปัจจุบันมีปลูกตามบ้านเรือนหรือสวนทั่วๆไป สามารถพบต้นมะดันในพื้นที่ทุกภาคของประเทศไทยแต่พบในปริมาณน้อย ปัจจุบันการใช้พื้นที่เพื่อการเกษตร และอาคารสิ่งก่อสร้างเพิ่มมากขึ้น การทำลายพืชป่าดั้งเดิมมีมากขึ้น ความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ในพืชดังกล่าวจึงมีสูงมาก นอกจากมะดันเป็นผลไม้ที่มีประโยชน์ทั้งด้านการเป็นอาหารที่มีคุณค่าด้านโภชนาการมีวิตามินซีสูง และเป็นพืชสมุนไพร ที่คนนิยมบริโภคกันมากแล้ว ยังมีการใช้ประโยชน์ทางด้านนิเวศน์ ป้องกันการพังทลายของหน้าดิน รักษาความชุ่มชื้นในบรรยากาศ เป็นแนวกันลมอีกด้วย ชนิดที่นำมาศึกษาเพื่อการขยายพันธุ์และอนุรักษ์ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ชนิดของพืชในสกุลมังคุดที่เป็นผักพื้นบ้านไม้ผลพื้นเมืองนำมาศึกษาขยายพันธุ์และอนุรักษ์ในโครงการฯ

ชนิดพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง
มังคุด	*G. mangostana*	เมล็ด ใบอ่อนสีแดง
พะวา	*G. speciosa*	เมล็ด
ส้มแขก	*G. atroviridis*	เมล็ด ใบอ่อน ลำต้น
มะดัน	*G. schombergkiana*	เมล็ด

1.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเมล็ด

ตัดแยกเมล็ดจากผล ทำความสะอาดตามวิธีการมาตรฐาน เพาะเลี้ยงทั้งเมล็ด หรือตัดแบ่งเป็นส่วนๆ บนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% BA (6-benzyladenine) เข้มข้น 0-5 มิลลิกรัมต่อลิตร PVP (Polyvinylpyrrolidone) เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร วุ้นไฟตาเจลเข้มข้น 0.2% วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 $\pm$ 4 °ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวมในแต่ละชนิดที่เพาะเลี้ยง ใช้ใบอ่อน และลำต้นจากต้นกล้าที่งอกในหลอดทดลองอายุ 1 เดือนหลังงอกมาเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำยอดรวมโดยตรงหรือแคลลัสเพื่อช่วยเพิ่มปริมาณพืชดังกล่าวจำนวนมากในระยะเวลาสั้นในสูตรอาหารต่างๆ เช่น สูตร MS WPM ซึ่งอาหารแต่ละสูตรเติมสารควบคุมชนิดและความเข้มข้นต่างๆ กัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 เดือน (ย้ายเลี้ยงทุกเดือน) ตรวจสอบความสามารถในการสร้างแคลลัสยอดรวมจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในแต่ละชนิดพืชต่อไป

1.2 การชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนเมล็ด ใบ และลำต้น

นำเมล็ดมะดันที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาตัดตามขวางที่มีความหนา 2 มิลลิเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% BA เข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับ TDZ หรือ TU เข้มข้น 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร PVP เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร วุ้น ไฟตาเจล เข้มข้น 0.2% วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 $\pm$ 4 °ซ ให้แสง 15 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และการสร้างยอดรวม

1.3 ผลของ PVP (Polyvinylpyrrolidone) ต่อการชักนำแคลลัสและการชักนำยอด

นำชิ้นส่วนเมล็ด/ใบ/ลำต้น ที่มีการสร้างแคลลัสแล้วในการศึกษาข้างต้น มาตัดแยกส่วนของแคลลัสออกจากชิ้นส่วนเมล็ด หลังจากนั้น นำแคลลัสและชิ้นส่วนเมล็ดดังกล่าว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมและ อาหารที่เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยที่อาหารทั้งสองสูตรนั้นมี การเติม หรือไม่เติม PVP เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร วุ้น ไฟตาเจล เข้มข้น 0.2% วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 $\pm$ 4 °ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และการสร้างยอดรวม เปรียบเทียบกันระหว่างการเติมหรือไม่เติม PVP ในอาหารทั้งสองสูตร

1.4 ศึกษาความเข้มข้นของ BA ต่อการพัฒนาของยอด

นำกลุ่มยอดรวมมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 3% และเติม BA เข้มข้น 0 0.5 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร วุ้นไฟตาเจลเข้มข้น 0.2% วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 $\pm$ 4 °ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกการเกิดยอด เปรียบเทียบกันในแต่ละความเข้มข้นของ BA โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ผลการศึกษา

1.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเมล็ด

1.1.1 การสร้างยอดรวม

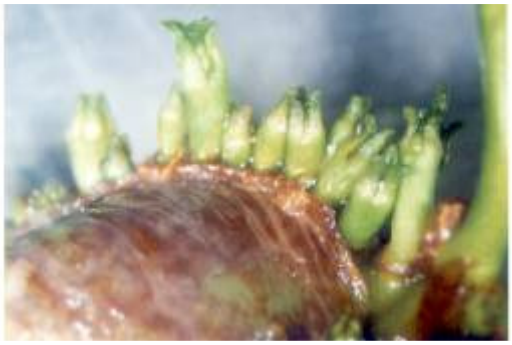
จากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนของเมล็ดพืชในสกุลมังคุดบนอาหารแข็งสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร PVP ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร วุ้นไฟตาเจลความเข้มข้น 0.2% เป็นเวลา 30 วัน เมล็ดที่วางเลี้ยงเกิดเป็นตายอด และเมื่อวางเลี้ยงต่ออีกเป็นเวลา 15 วัน (รวมเวลาการเพาะเลี้ยง 45 วัน) โดยไม่มีการย้ายเลี้ยง พบว่า ตายอดมีการยืดยาว (ภาพที่ 10) อัตราการเกิดยอดรวมแตกต่างกันขึ้นกับชนิดพืช ในมังคุด พะวา และมะดันให้การสร้างยอดรวม 100% ส่วนส้มแขกนั้นคงให้การสร้างยอดเพียงยอดเดียวเท่านั้น (ตารางที่ 11) เมื่อพิจารณาจำนวนยอดที่สร้างก็แตกต่างกันออกไป สำหรับพันธุ์ป่าโดยเฉพาะพะวาให้จำนวนยอดต่อเมล็ดที่เพาะเลี้ยงสูงมากถึง 40 ยอด รองลงมาเป็นมะดัน 25-30 ยอด และมังคุด 20 ยอดตามลำดับ ให้จำนวนยอดที่มีความสูงมากกว่า 2 เซนติเมตรเฉลี่ย 3 ยอด (2-5) ต่อชิ้นส่วน ยอดที่มีขนาดเล็ก (0.3-0.5 เซนติเมตร) มีจำนวนเฉลี่ย 6 ยอด (4-8 ยอด) ต่อชิ้นส่วน เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรดังกล่าวเป็นเวลา 60 วัน พบว่า มีการแตกตายอดเพิ่มขึ้นจากชิ้นส่วนเดิม (ภาพที่ 10)

ตารางที่ 11 ความสามารถในการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในอาหารสูตรพื้นฐานหรือสูตรดัดแปลง MS เติม BA เข้มข้น 5 มก/ล เป็นเวลา 45 วัน

ชนิด	ชื่อวิทยาศาสตร์	การสร้างยอดรวม	อัตราการสร้างยอดรวม (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด)
มังคุด	*G. mangostana*	+	73	20
พะวา	*G. speciosa*	+	100	40
ส้มแขก	*G. atroviridis*	-	0	1
มะดัน	*G. schombergkiana*	+	100	25

+ มีการสร้างยอดรวม

- ไม่มีการสร้างยอดรวม



ก

ข

ค

ภาพที่ 10 การสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในอาหารสูตรพื้นฐานหรือสูตรดัดแปลง MS เติม BA เข้มข้น 5 มก/ล เป็นเวลา 45 วัน (บาร์=1 ซม)
ก: เมล็ดพะวา ข: เมล็ดมะดัน ค: เมล็ดมังคุด

อย่างไรก็ตามในกรณีของส้มแขกนั้นเมื่อเปลี่ยนชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตโดยใช้ TU ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าส่งเสริมการสร้างยอดรวมได้ ให้ยอดรวมมากกว่า 5 ยอดต่อเมล็ด เมื่อใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตดังกล่าวร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่ำ 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างยอดรวมได้แต่น้อยกว่าการใช้ TU เพียงลำพัง แม้ว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสองให้จำนวนมากขึ้นแต่การเพิ่มความเข้มข้นของ BA สูงขึ้นส่งผลให้ยอดมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 11)

ภาพที่ 11 การสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดส้มแขกในอาหารสูตร MS เติม TU และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 60 วัน

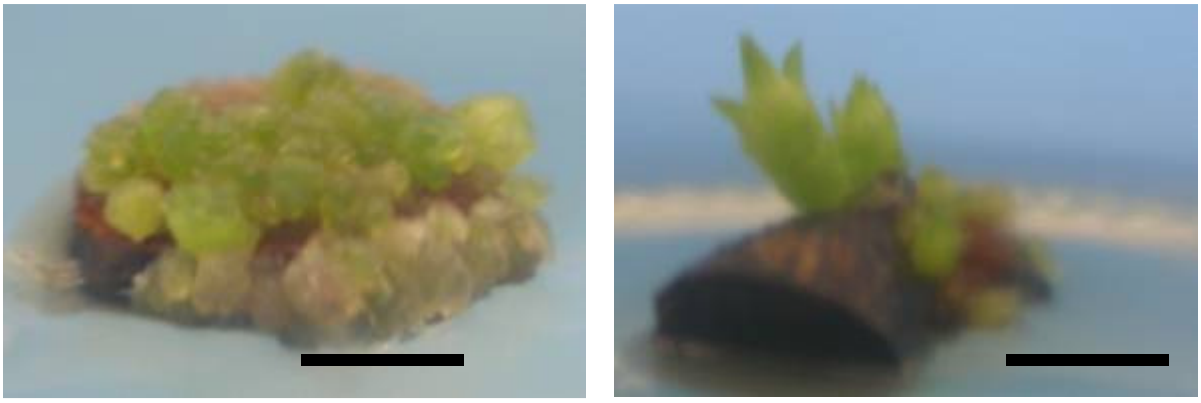
ก: TU 0.1 มก/ล ข: TU 0.1 มก/ล+BA 0.5 มก/ล

ค: TU 0.1 มก/ล+BA 1 มก/ล ง: TU 0.5 มก/ล+BA 0.1 มก/ล

จ: TU 0.5 มก/ล+BA 0.5 มก/ล ฉ: TU 0.5 มก/ล+BA 1 มก/ล

1.1.2 การชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนเมล็ด

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของเมล็ดมะดันตัดตามขวางที่มีความหนา 2 มิลลิเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร PVP เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร วุ้น ไฟตาเจล เข้มข้น 2% เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงสามารถพัฒนาให้แคลลัส 30% จากจำนวนชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงทั้งหมด แคลลัสมีลักษณะเป็นปมสีเหลืองใสถึงสีเขียวอ่อน และเกาะกลุ่มกันอย่างแน่น (compact callus) (ภาพที่ 12ก) แคลลัสดังกล่าวมีลักษณะคล้ายแคลลัสมังคุดที่ชักนำบนสูตรอาหารเดียวกัน แต่ละปมของแคลลัสคาดว่ามีองค์ประกอบของเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด เช่นเดียวกับที่ตรวจสอบเนื้อเยื่อวิทยาในมังคุด และมีความพร้อมที่จะพัฒนาให้ยอดหนึ่งยอดต่อหนึ่งปม เมื่อย้ายเลี้ยงแคลลัสนี้ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอด (MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร PVP ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟตาเจล ความเข้มข้น 0.2% พบว่า สามารถชักนำให้เกิดยอดรวม 100% (ภาพที่ 12ข) หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน



ก ข

ภาพที่ 12 พัฒนาการของโนดูลาแคลลัสบนอาหารชักนำแคลลัส และชักนำยอดรวมบนอาหารชักนำยอด

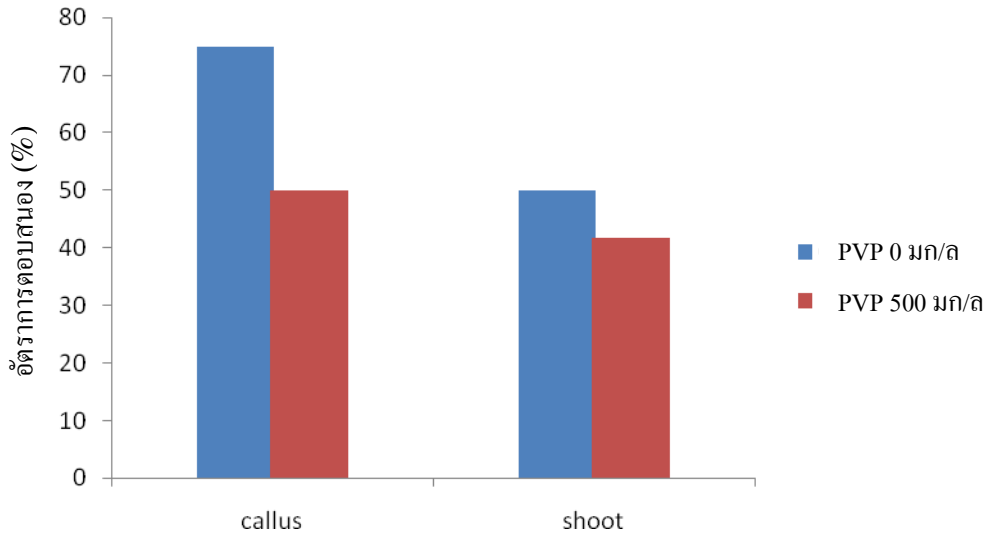
ก. แคลลัสวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% BA เข้มข้น 0.5 มก/ล TDZ เข้มข้น 0.5 มก/ล PVP เข้มข้น 500 มก/ล ไฟตาเจลเข้มข้น 2% หลังจากวางลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์= 0.5 ซม)

ข. ยอดรวมวางเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอด สูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% BA เข้มข้น 5 มก/ล PVP เข้มข้น 500 มก/ล ไฟตาเจลเข้มข้น 0.2% เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์= 1.0 ซม)

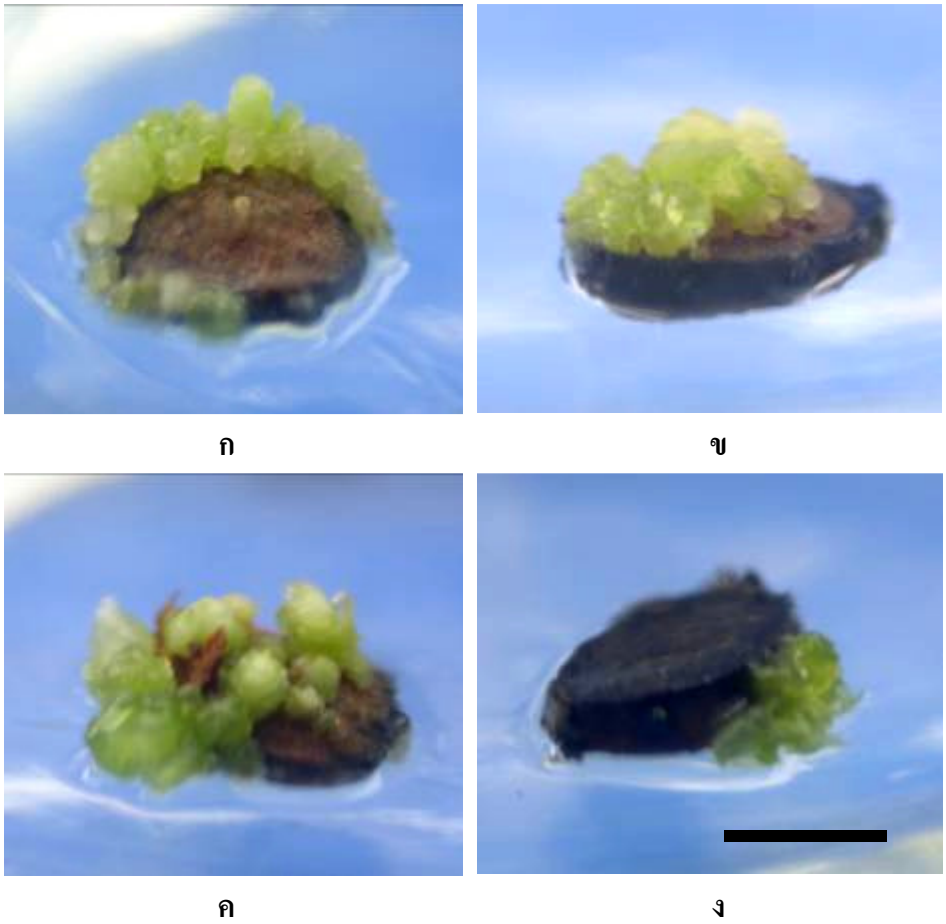
1.1.3 ผลของ PVP(Polyvinylpyrrolidone) ต่อการชักนำแคลลัสและการชักนำยอด

เมื่อนำชิ้นส่วนเมล็ดที่มีการสร้างแคลลัส มาตัดแยกแคลลัสออก เพื่อนำชิ้นส่วนเมล็ดมาชักนำแคลลัสอีกครั้ง พบว่า ชิ้นส่วนเมล็ดยังคงสร้างแคลลัสได้ โดยให้เปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัส 75% บนอาหารที่ไม่เติม PVP และ 50% บนอาหารที่เติม PVP ซึ่งสูงกว่าการชักนำแคลลัสในรอบแรก (30%) และให้ผลเช่นเดียวกันกับ อาหารชักนำยอด พบว่าอาหารที่ไม่เติม PVP ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดสูงกว่าอาหารที่เติม PVP (ภาพที่ 13 และ 14) และเมื่อตัดแยกชิ้นส่วนแคลลัสและยอดรวมที่ชักนำได้ไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม พบว่า ให้ผลเช่นเดียวกันกับการชักนำแคลลัสคือ อาหารที่ไม่เติม PVP ให้การพัฒนาของแคลลัสและยอดได้ดีกว่าอาหารที่เติม PVP ซึ่งแคลลัสและยอดที่วางเลี้ยงบนอาหารที่เติม PVP จะมีการสร้างสารประกอบพวกฟีนอล หลังวางเลี้ยงเพียงแค่ 1 สัปดาห์ โดยสังเกตุได้จากสีของอาหารที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างเห็นได้ชัด หลังจากนั้นชิ้นส่วนจะค่อยๆซีด และไม่มีการพัฒนาต่อ (ภาพที่ 15)

โดยทั่วไปแล้ว สาร PVP เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อลดการสร้างสารประกอบฟีนอล เช่น ในการเพาะเลี้ยงมังคุด ส้มแขก พะวา ได้มีการเติมสาร PVP เพื่อช่วยลดการสร้างสารประกอบฟีนอลแต่ในกรณีของมะดันพบว่า การเติม PVP ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเมล็ดของมะดันนั้น ให้ผลที่แตกต่างไปจากพืชชนิดอื่น ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าชิ้นส่วนของมะดันมีการสร้างสารบางอย่างที่ทำปฏิกิริยากับสาร PVP จึงส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสรอบแรกค่อนข้างต่ำ แต่เมื่อทำการย้ายเลี้ยงแคลลัสและยอดรวมบนอาหารที่ไม่เติม PVP พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสและยอดได้ดี (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 13 อัตราการสร้างแคลลัส (%) และยอดรวม (%) จากเมล็ดมะดันบนอาหารสูตร MS ที่เติมและไม่เติม PVP เข้มข้น 500 มก/ล หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน



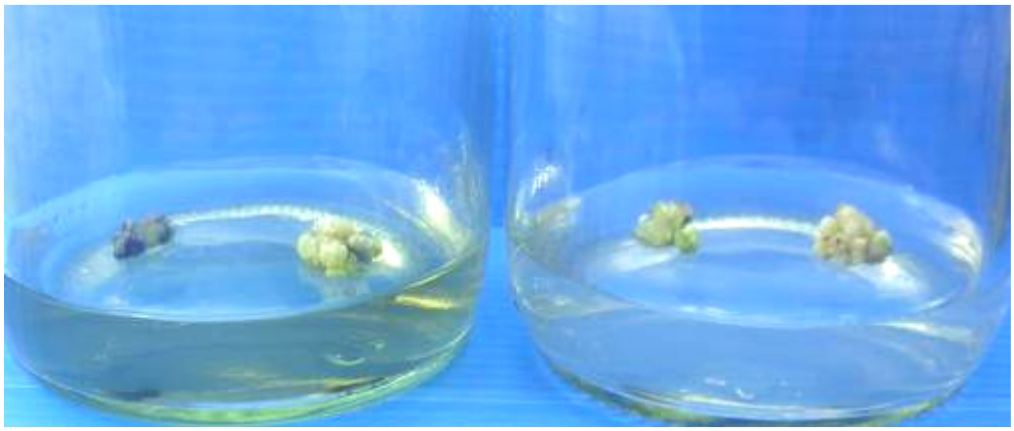
ภาพที่ 14 ลักษณะการสร้างแคลลัส และยอดรวม จากชิ้นส่วนเมล็ดของมะดัน บนอาหารที่เติมและไม่เติม PVP เข้มข้น 500 มก/ล หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน (บาร์ = 0.5 ซม)

ก อาหารสูตร MS เติม BA 0.5 มก/ล TDZ 0.5 มก/ล

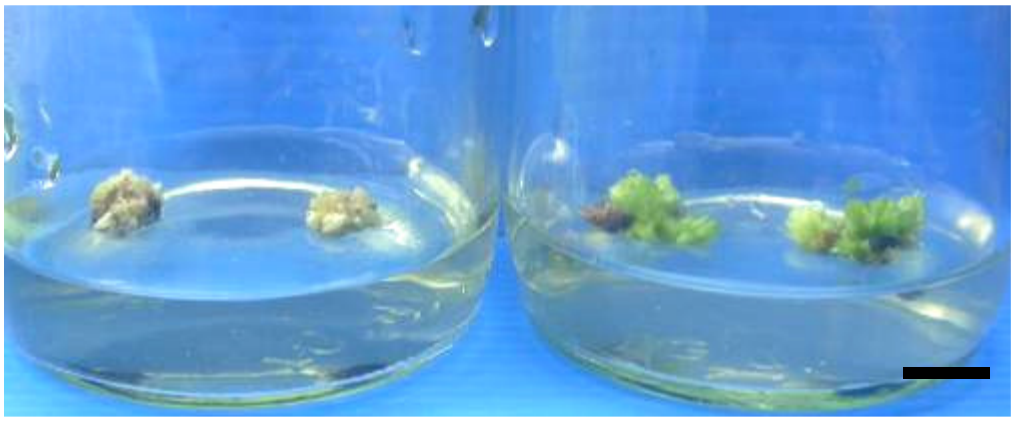
ข อาหารสูตร MS เติม BA 0.5 มก/ล TDZ 0.5 มก/ล PVP 500 มก/ล

ค อาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มก/ล

ง อาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มก/ล PVP เข้มข้น 500 มก/ล



ก

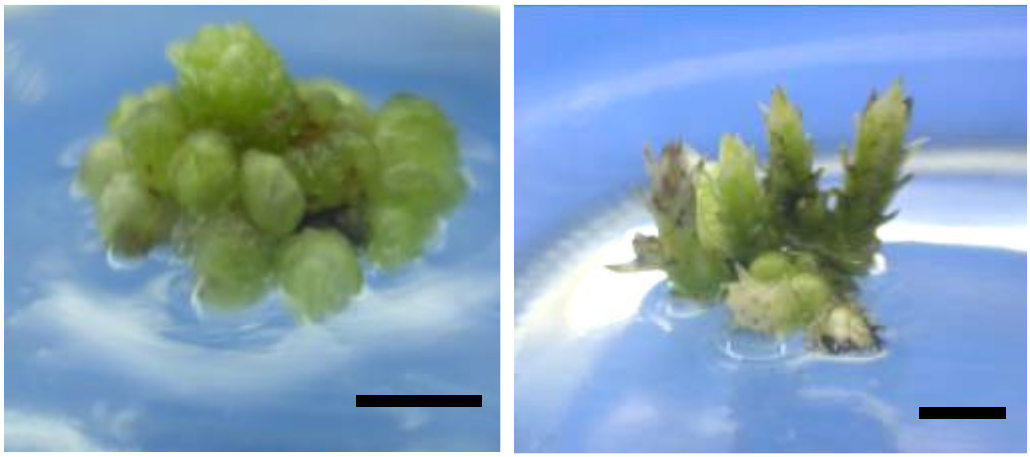


ข

ภาพที่ 15 ลักษณะของแคลลัส และยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมะดันบนอาหารที่เติม (ซ้าย) และไม่เติม (ขวา) PVP เข้มข้น 500 มก/ล หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน (บาร์ = 0.5 ซม)

ก อาหารสูตร MS เติม BA 0.5 มก/ล TDZ 0.5 มก/ล

ข อาหารสูตร MS เติม BA 5 มก/ล



ก ข

ภาพที่ 16 การเพิ่มปริมาณแคลลัส และยอดรวมมะดัน หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์ = 0.5 ซม)

ก อาหารสูตร MS เติม BA 0.5 มก/ล TDZ 0.5 มก/ล

ข อาหารสูตร MS เติม BA 5 มก/ล

1.1.4 ผลของความเข้มข้นของ BA ต่อการพัฒนาของยอดมะดัน

จากการวางเลี้ยงกลุ่มยอดรวมเริ่มต้น กลุ่มละ 4-5 ยอด บนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำยอดรวมได้จำนวนสูงสุด แต่อย่างไรก็ตาม จะเห็นว่าการใช้ BA ที่ความเข้มข้นสูง ให้ต้นอ่อนที่มีขนาดเล็กจำนวนมากที่สุด 13.67 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับทรีตเมนต์อื่นๆ ในขณะที่ความเข้มข้นของ BA ต่ำส่งเสริมการยืดยาวของยอด ยอดยืดยาวได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามในอาหารที่ไม่เติม BA ซึ่งให้ยอดที่มีความสูงมากกว่า 3 เซนติเมตรสูงสุด 9 ยอดต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 12) นอกจากนี้เห็นได้ว่า ที่ BA ความเข้มข้นสูงนั้นใบมีขนาดเล็ก และติดกับลำต้น เมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่เติม BA ให้ต้นที่มีใบขนาดใหญ่และจำนวนใบมากกว่า (ภาพที่ 17)

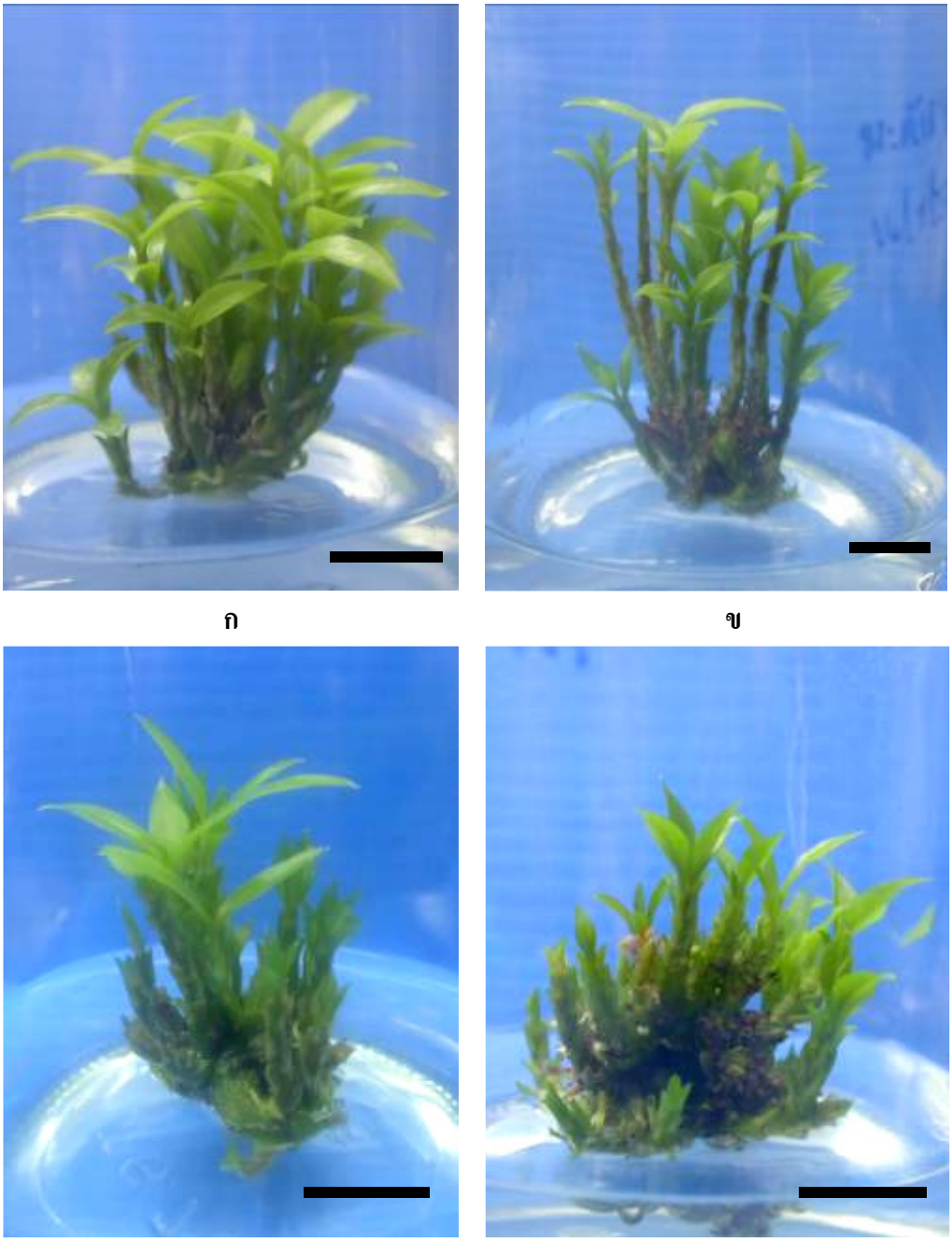
ตารางที่ 12 ผลของความเข้มข้นของ BA ที่เติมในอาหารสูตร MS ต่อการพัฒนาของยอดรวมของมะดันหลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน

BA (มก/ล)	จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน		
	< 1 ซม	1-3 ซม	> 3 ซม
0	1.33c	2.00	9.00a
0.5	2.33c	2.67	7.33a
3	8.67b	2.33	2.00b
5	13.67a	2.67	0.00c
F-test	*	ns	*
C.V. (%)	14.04	35.83	22.70

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT



ก ข

ค ง

ภาพที่ 17 การพัฒนาของยอดมะดันหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 45 วัน (บาร์ = 1 ซม)

ก BA เข้มข้น 0 มก/ล ข BA เข้มข้น 0.5 มก/ล

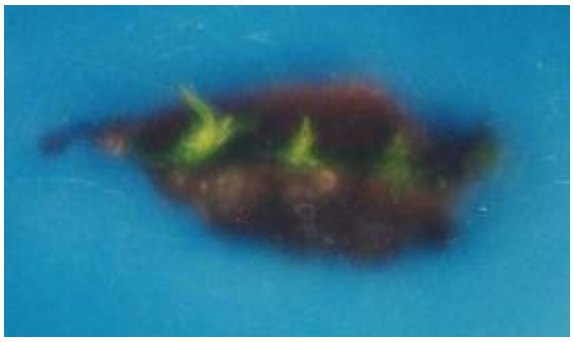
ค BA เข้มข้น 3 มก/ล ง BA เข้มข้น 5 มก/ล

1.2 การเพาะเลี้ยงใบอ่อน

1.2.1 การชักนำยอดโดยตรง

จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนสีแดง (มังคุด) และใบอ่อนสีเขียว (ส้มแขก พะวา และมะดัน) บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% PVP 500 มก/ล BA เข้มข้น 1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามังคุด และพะวาเท่านั้นที่มีการสร้างยอดรวมโดยตรงไม่ผ่านการสร้างแคลลัส ส่วนส้มแขกและมะดันไม่มีการสร้างยอดรวม ใบอ่อนจากนอกหลอดทดลองให้การสร้างยอดรวมน้อยกว่าใบอ่อนจากในหลอดทดลอง การตัดใบแบ่งเป็นส่วนๆ (3 ส่วน ส่วนโคนใบ กลางใบ และปลายใบ) และกรีดที่เส้นกลางใบ ส่งเสริมการสร้างยอดรวมโดยตรงได้ดีในใบพะวา (ภาพที่ 18 ก ค) ส่วนใบมังคุดให้การตอบสนองได้ดีเมื่อสร้างบาดแผลตรงเส้นกลางใบ (ภาพที่ 18 ข)

ก



ข

ค

ภาพที่ 18 การเพาะเลี้ยงใบอ่อนมังคุด และพะวาบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% PVP เข้มข้น500 มก/ล และ BA เข้มข้น 1-5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 30 วัน
ก: ใบพะวาที่ตัดแบ่ง 3 ส่วน ข: ใบมังคุดที่กรีดเส้นกลางใบ 3 รอย
ข: ใบพะวาที่กรีดเส้นกลางใบ 3 รอย

ในกรณีของใบมังคุดที่ชักนำจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงโดยการเติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเติมอาหารเหลวสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นขององค์ประกอบลงครึ่งหนึ่ง (1/2 MS) เติม NAA 0.06 มิลลิกรัม/ลิตร BA 0.03 มิลลิกรัม/ลิตร และ TDZ 0.03 มิลลิกรัม/ลิตรเท่ากัน ช่วยส่งเสริมให้ใบอ่อนสีแดงสร้างยอดรวมจำนวนมากจากเซลล์ผิวใบ (ภาพที่ 19)

ภาพที่ 19 พัฒนาการของยอดรวมของมังคุดจากการเพาะเลี้ยงต้นกล้าในอาหาร 2 ชั้น ชั้นล่างเป็นอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงโดยเติม BA 1 มก/ล อาหารชั้นที่สองเป็นอาหารเหลวสูตร ½ MS เติม NAA 0.06 มก/ล BA 0.03 มก/ล และ TDZ 0.03 มก/ล

ในกรณีใบส้มแขกก็เช่นเดียวกัน การเตรียมใบที่ใช้เพาะเลี้ยงมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการชักนำยอดรวม จากการเตรียมใบโดยการเพาะเลี้ยงยอด 3 วิธีคือ 1) เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว 1 เดือน 2) เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง 1 เดือนแล้วย้ายลงอาหารเหลว 1 เดือน และ 3) เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง 1 เดือนแล้วย้ายลงอาหารอาหารแข็งต่ออีกเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งหรืออาหารเหลวเพียงอย่างเดียวไม่เกิดการสร้างยอด แต่ในการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวสลับกัน พบว่า มีการสร้างยอดโดยตรงจากใบ (ภาพที่ 20) มีอัตราการสร้างยอด 56.17% จำนวนยอดเฉลี่ย 2.64 ยอดต่อใบ (ตารางที่ 13) ซึ่งเป็นรูปแบบอาหารที่เหมาะสมในการเตรียมใบเพื่อชักนำยอดโดยตรง อย่างไรก็ตามจำนวนยอดที่ได้ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการ

เพาะเลี้ยงใบมังคุด (สมปอง, 2540) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพันธุ์ที่แตกต่างกัน และการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ในกรณีส้มแขกไม่ตอบสนองต่อการสร้างแอนโธไซยานินเมื่อใช้ TDZ ในขณะที่ใบมังคุดตอบสนองได้มากว่า 50% และแอนโธไซยานินเป็นตัวส่งเสริมการสร้างยอดจำนวนมากโดยตรงจากใบ (>50 ยอด/ใบ) (สมปอง, 2540)

ภาพที่ 20 พัฒนาการของยอดโดยตรงจากใบอ่อนส้มแขกบนอาหารสูตร WPM เติม BA 0.5 มก/ล และ TU 0.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน (เตรียมใบโดยเพาะเลี้ยงปลายยอดบนอาหารแข็งสูตร WPM เป็นเวลา 1 เดือน แล้วเติมอาหารเหลวสูตรเดิมลงไปและเพาะเลี้ยงต่ออีกเป็นเวลา 1 เดือน)

ตารางที่ 13 วิธีการเตรียมใบโดยการเพาะเลี้ยงยอดแบบต่างๆ ที่มีผลต่อการสร้างยอดรวมโดยตรงของส้มแขกในอาหารสูตร WPM เติม BA 0.5 มก/ล และ TU 0.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน

วิธีการเตรียม	อัตราการสร้างยอดรวมเฉลี่ย (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย/ใบ
1) Solidified medium	0b	0b
2) Solidified medium+liquidified medium+ Solidified medium	56.1a	2.64a
3) Liquidified medium	0b	0b
F-Test	**	**
C.V. (%)	11.78	36.31

** : แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)

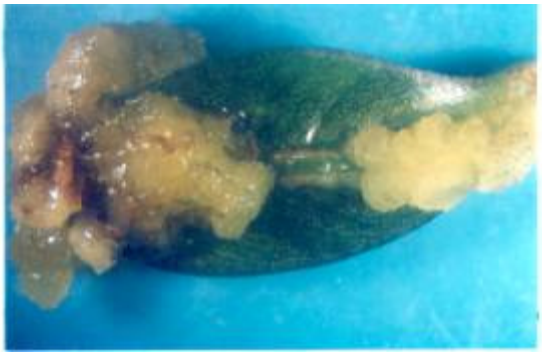
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

1.2.2 การชักนำยอดรวมผ่านแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนสีแดง (มังคุด) และใบอ่อนสีเขียว (ส้มแขก พะวา และมะดัน) บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% PVP 500 มิลลิกรัมต่อลิตร BA และ TDZ ความเข้มข้นเท่ากัน 0.5 มิลลิกรัมลิตร พบว่า ใบอ่อนของพืชทั้ง 4 ชนิดให้แคลลัสได้เช่นเดียวกัน แต่อัตราการสร้าง และลักษณะของแคลลัสแตกต่างกัน (ตารางที่ 14) มังคุดเท่านั้นที่ให้แคลลัสที่เกาะกันแน่น มีลักษณะเป็น meristematic nodular callus เกิดทั้งโคน กลาง และปลายใบ (ภาพที่ 21) และพัฒนาให้ยอดรวมได้ในอาหารที่พัฒนาเพื่อชักนำยอดรวม ส่วนส้มแขก และมะดันคงมีแต่การสร้างแคลลัสทั้งแบบเกาะกันแน่น และเกาะกันแบบหลวมๆ ไม่มีการสร้างยอดรวม ในกรณีของส้มแขกนั้นมีการสร้างแคลลัสแบบเกาะกันแน่นเมื่อตัดใบเป็น 3 ส่วนแล้วนำไปเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 22 ก) หากไม่ตัดแบ่งใบเป็นส่วนแต่สร้างบาดแผลตรงเส้นกลางใบให้การสร้างแคลลัสที่เกาะกันหลวมๆ (ภาพที่ 22 ข) อย่างไรก็ตามแคลลัสที่ชักนำได้ไม่สามารถพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้ ไม่ว่าจะย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรใดๆ

ตารางที่ 14 กำเนิดของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของพืชสกุล *Garcinia* บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% PVP 500 มก/ล BA และ TDZ ความเข้มข้นเท่ากัน 0.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน

ชนิด	% แคลลัส	กำเนิดของแคลลัส		
		ด้านโคนใบ	ด้านกลางใบ	ด้านปลายใบ
G. mangostana	89.7	51.6	16.0	14.0
G. speciosa	55.5	41.6	13.9	0
G. atroviridis	15.4	15.4	0	0
G. schomberkiana	25.5	16.5	0	0
n	50			



ภาพที่ 21 รูปแบบการสร้างแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนมังคุด
แคลลัสพัฒนาจากทั้งโคนใบ เส้นกลางใบ และปลายใบ

ก ข

ภาพที่ 22 ลักษณะแคลลัสที่พัฒนาจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนส้มแขกจากต้นกล้าที่เพาะเมล็ดในหลอดทดลองบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% PVP 500 มก/ล BA และ TDZ ความเข้มข้นเท่ากัน 0.5 มก/ล เป็นเวลา 40 วัน
ก: ใบที่ตัดแบ่งเป็น 3 ส่วน ข: ใบที่สร้างแผลโดยกรีดเส้นกลางใบ 2 รอย

ใบอ่อนสีแดงของมังคุดนั้นมีการสร้างแคลลัสที่มีลักษณะเกาะกันแน่นเป็นปมในอาหารสูตรดังกล่าวข้างต้น แคลลัสดังกล่าวเรียกชื่อเฉพาะว่า meristematic nodular callus ใบอ่อนสีเขียวก็สร้างแคลลัสได้ใกล้เคียงกัน แต่จำนวนปมที่สร้างมีน้อยกว่า (ตารางที่15) หากต้องการเพิ่มปริมาณปมเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดก็ย้ายเลี้ยงในอาหารใหม่สูตรเดิม (MS เติม BA และ TDZ ความเข้มข้นเท่ากัน 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร) เมื่อย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร WPM เติม BA อย่างเดียวความเข้มข้น 0.44 ไมโครโมลาร์ ส่งเสริมการยืดยาวของยอดจากแต่ละปมได้ดีที่สุด

(ตารางที่ 16) ยอดยืดยาวได้ดีหากเติมอาหารเหลวสูตร ½ MS เติม NAA 0.06 มิลลิกรัม/ลิตร และ BA 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ขั้นตอนการขยายพันธุ์มังคุดด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงใบอ่อนผ่านการสร้าง meristematic nodular callus ดังภาพที่ 23 ส่วนรูปแบบหรือกำเนิดของการสร้างแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนพืชสกุลมังคุดดังตารางที่ 17

ตารางที่ 15 ผลของชิ้นส่วนของมังคุดที่เพาะเลี้ยงต่อการสร้าง meristematic nodular callus บนอาหารสูตร MS เติม BA และ TDZ ความเข้มข้นเท่ากัน 0.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน

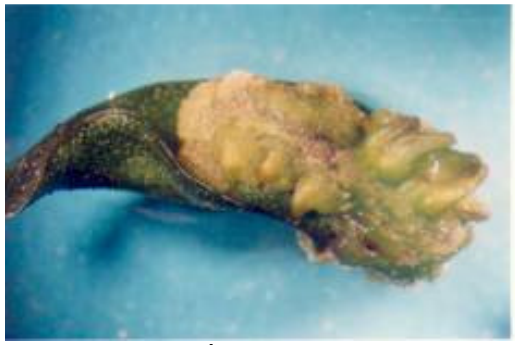
ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง	ชิ้นส่วนที่สร้างแคลลัส	จำนวนปมต่อชิ้นส่วน
ใบอ่อนสีแดง	93.3a	8.3a
ใบอ่อนสีเขียว	93.3a	4.6b
ก้านใบ	36.3b	7.3a

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT

ตารางที่16 ความเข้มข้นของ BA ต่อการสร้างยอดจาก meristematic nodular callus ของมังคุดบนอาหารสูตร WPM หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

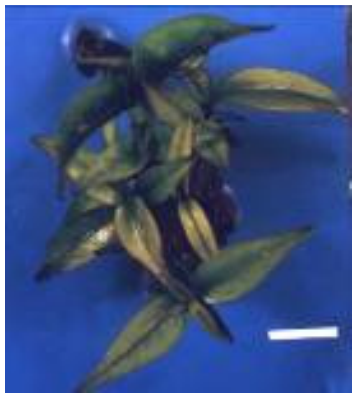
ความเข้มข้น BA	จำนวนยอดรวมที่มีความยาว (ซม)		
(μM)	0-5	6-10	>10
0.44	2-19	0-7	0-6
2.22	3-19	0-6	0-5
4.45	1-13	0-5	0-5

(1)ใบอ่อนสีแดงที่เลือกมาเพาะเลี้ยง



(2) ชักนำแคลลัสที่เกาะกันแน่น

(3) การเพิ่มปริมาณ meristematic nodular callus



(4) ชักนำการยืดยาวยอด

(5) ชักนำราก

ภาพที่ 23 ขั้นตอนการขยายพันธุ์มังคุดจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนสีแดงผ่านการสร้างแคลลัส

ตารางที่ 17 สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของพืชในสกุล *Garcinia* บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% PVP 500 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน

ชนิดพืช	สารควบคุมการเจริญ				% แคลลัส	ชนิดแคลลัส
	BA	TDZ	TU	NAA		
G. mangostana	0.5	1	-	-	15.0a	
(มังคุด)	0.5	0.5	-	-	68.8a	
	0.5	0.5	-	0.5	0c	mreristematic
	1.0	0.5	-	-	66.7a	nodular callus
	1.0	1.0	-	-	25.0b	
C.V. (%)					10.3	
G. speciosa	0.1	0.5	-	-	25.4bc	
(พะวา)	0.5	0.5	-	-	54.1ab	
	0.5	1.0	-	-	26.4bc	meristematic
	0.1	-	-	0.1	66.6a	nodular callus
	0.5	-	-	0.5	8.8c	
	2.5	-	-	0.25	90.0a	
C.V.(%)					31.3	
G. atroviridis	0.5	-	0.5	-	15.4b	friable callus
(ส้มแขก)	0.5	0.5	-	-	0c	
	1.0	-	-	0.5	34.5a	
C.V.(%)					25.2	

1.3 การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้น

การเตรียมชิ้นส่วน

ในการศึกษานี้ใช้ชิ้นส่วนยอด และข้อของส้มแขกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร WPM เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร TU เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน มาตัดแยกให้มีขนาด 1 เซนติเมตร นำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ โดยยอดเลี้ยงบนอาหารเหลวในฟลาสค์ ๆ ละ 3 ยอด/ข้อ เลี้ยงบนอาหารแข็งในขวด 4 ออนซ์ ขวดละ 1 ชิ้น เมื่อได้จำนวนยอดมากพอแล้ว จึงนำไปศึกษาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM เติม BA ร่วมกับ TU และ IBA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน นำไปวางเลี้ยงภายใต้การให้แสงนาน 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 15 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที อุณหภูมิ 26±2 °ซ เป็นเวลา 1 เดือน

1.3.1 ผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวม

นำชิ้นส่วนยอดหรือข้อมา เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TU ที่ความเข้มข้น 0.25 0.5 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้การให้แสงนาน 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 15 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที อุณหภูมิ 26±2 °ซ เป็นเวลา 1 เดือน ตรวจสอบอัตราการเกิดยอดรวม และจำนวนตายอด เปรียบเทียบกันในแต่ละชนิด และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยใช้แบบการทดลองแบบสุ่มตลอด แต่ละสิ่งทดลองทำ 3 ซ้ำๆ ละ 5 หลอดทดลอง (หลอดละ 1 ยอด)

1.3.2 ผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำราก

นำยอดซึ่งจุ่มแช่ใน IBA เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 15 นาที มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร NN เติม NAA เข้มข้น 0.25 0.5 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงยอดในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนย้ายไปเลี้ยงในสภาพแวดล้อมเดียวกับข้างต้นเป็นเวลาอีก 6 สัปดาห์ ตรวจผลการชักนำราก (อัตราการสร้างราก จำนวนราก/ยอด และความยาวราก) วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด แต่ละทรีตเมนต์ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 5 ตัวอย่าง

ผลการศึกษา

1.3.1 ผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวม

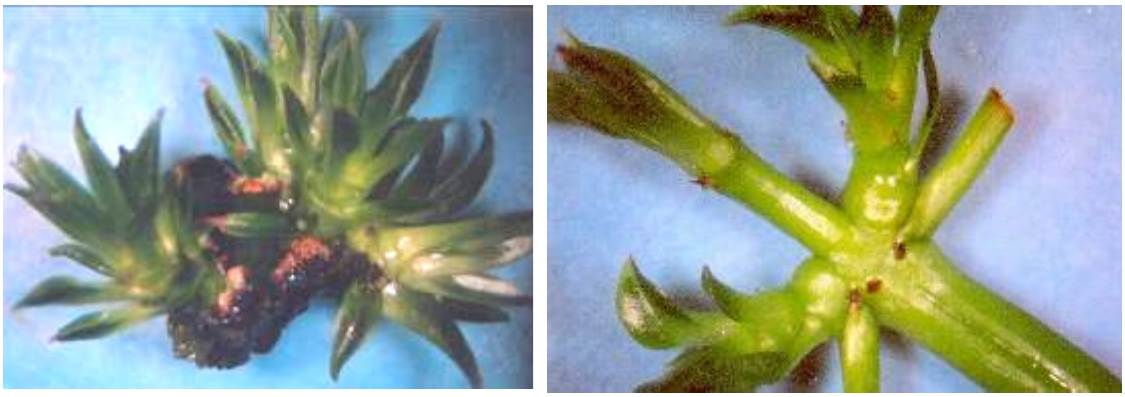
การเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารสูตร WPM เติม BA เข้มข้น 0.5 ร่วมกับ TU เข้มข้น 0.25 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สร้างยอดรวมสูงสุด 100% แต่ในอาหารสูตรที่เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TU เข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 4 ยอด (ตารางที่ 18

ภาพที่ 24 ก ข) และพบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงส่วนข้อโดยตัดปลายด้านเหนือข้อให้มีความยาวมากส่งเสริมการสร้างยอดรวมขนาดเล็กจำนวนมาก (>10 ยอด/ชิ้นส่วน) โดยไม่ผ่านการสร้างแคลลัส (ภาพที่ 25ก) สำหรับชิ้นส่วนรากนั้นให้การสร้างยอดรวมโดยตรง ไม่ผ่านการสร้างแคลลัสได้เช่นกันจำนวน 3-5 ยอด/ราก (ภาพที่ 25 ข) เมื่อตรวจสอบกำเนิดของยอดดังกล่าวพบว่า มาจากเซลล์เดี่ยวๆ หรือกลุ่มเซลล์บริเวณเซลล์ผิวของลำต้น สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงใบมังคุด แต่ในมังคุดไม่มีรายงานการชักนำยอดรวมโดยตรงจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนราก และข้อที่มีปลายยาว (สมปอง, 2540)

ตารางที่ 18 ผลของ BA และ TU ร่วมกันที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อส้มแขกบนอาหารสูตร WPM เป็นเวลา 1 เดือน

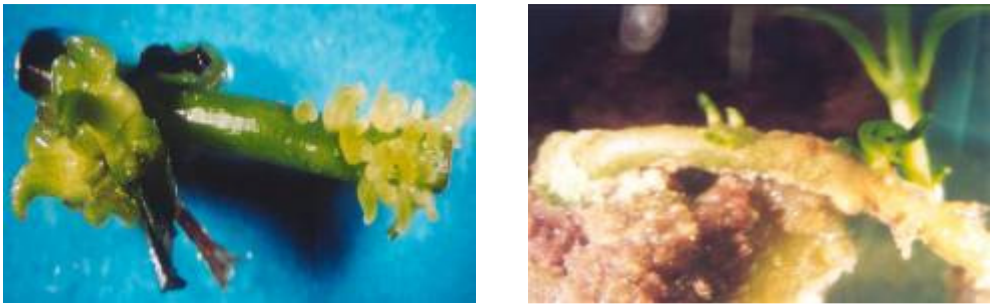
สารควบคุมการเจริญ (มก/ล)	การสร้างยอดรวม (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย ยอด/ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง
BA(0.5)+TU(0.25)	100	3.13
BA(0.5)+TU(0.5)	93.33	3.88
BA(0.5)+TU(0.75)	86.67	4.00
BA(0.5)+TU(1)	100	3.8
F-test	ns	ns
C.V. (%)	8.59	40.87

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ



ก ข

ภาพที่ 24 พัฒนาการของยอดรวมของส้มแขกจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอด (ก) และข้อ (ข) บนอาหาร WPM เติม BA 0.5 มก/ล และ TU 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน



ก ข

ภาพที่ 25 พัฒนาการยอดของส้มแขกรวมบริเวณส่วนลำต้นจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ (ก) และราก (ข) บนอาหาร WPM เติม BA 0.5 มก/ล และ TU 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน

1.3.2 ผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำราก

อาหารสูตร NN เติม NAA ทุกความเข้มข้นชักนำรากได้ไม่แตกต่างกัน (55%) NAA เข้มข้น 0.25 มก./ล. ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 1.48 ซม. (ตารางที่ 19) ต้นกล้าที่ชักนำรากได้แล้วเมื่อนำไปอนุบาลนอกหลอดทดลองโดยปลูกในกระถางที่มีผสม ขุยมะพร้าว เวอมิคูไรท์ และพีทมอส ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เป็นเวลา 12 วัน มีอัตรารอดชีวิต 38.89% (ภาพที่ 26) เนื่องจากใบส้มแขกมีลักษณะบาง มีนวลและไขน้อยเมื่อเทียบกับใบมังคุด ดังนั้นการคายน้ำในช่วงแรกสูงมาก ส่งผลให้อัตรารอดชีวิตต่ำ ดังนั้นก่อนอนุบาลลงดินปลูกอาจต้องเติมพาโคลบิวทราโซลลงไปเพื่อปรับโครงสร้างของใบช่วยให้อัตรารอดสูงขึ้น

ตารางที่ 19 ความเข้มข้นของ NAA ต่อการสร้างรากจากยอดเดี่ยวๆ ของส้มแขกที่ตัดแยกไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NN เป็นเวลา 1 เดือน

สารควบคุมการเจริญ (มก/ล)	อัตราการสร้างราก (%)	จำนวนรากที่สร้าง (ราก/ยอด)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
NAA (0.25)	55.56	1.5	1.48
NAA (0.5)	55.56	2.67	0.97
NAA (0.75)	55.56	1.67	1.15
NAA (1.00)	55.55	1.33	1.25
F-test	ns	ns	ns
C.V. (%)	36.56	54.04	56.62

ns: ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ก ข

ภาพที่ 26 การย้ายต้นกล้าส้มแขกที่มีรากสมบูรณ์ลงปลูกในกระถาง 4 นิ้วที่บรรจุดินผสม (ดิน:ขุยมะพร้าว:เวอร์มิคิวไลต์ 1:1:1) (ก) และควบคุมความชื้นและแสงในเรือนกระจก (ข)

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์พืชในสกุล *Garinia* พบการตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันออกไปขึ้นกับชนิด และชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง นอกจากนี้สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตก็แตกต่างกันออกไป เช่นในการชักนำยอด รวมมังคุดมีความจำเป็นต้องดัดแปลงสูตรอาหาร MS โดยการเติมอินทรียสารโดยเฉพาะไมโออินโนซิตอลเพิ่มขึ้นถึง 50 เท่าหรือมากกว่า ส่วนชนิดอื่นๆ ไม่มีความจำเป็น การใช้สูตรอาหารพื้นฐาน MS เท่านั้นก็เพียงพอ ในชนิดที่เป็นพันธุ์ป่า หรือดั้งเดิม เช่น มะดันมีการสร้างประกอบฟีนอลน้อยกว่าชนิดอื่นๆ ดังนั้นการเติมสารแอนติออกซิแดนท์ PVP ลงไปเพื่อยับยั้งการสร้างสารกลับเป็นการยับยั้ง การสร้างยอดรวมด้วย ดังนั้นในมะดันไม่มีความจำเป็นในการเติม PVP ในขณะที่มังคุดและพะวา มีความจำเป็น สำหรับรายละเอียดของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะต่อการขยายพันธุ์พืชในสกุลนี้ได้สรุปไว้ใน ตารางที่ 20

ตารางที่ 20 สรุปสภาพที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชในสกุล *Garinia* ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชนิดพืช	ชิ้นส่วน	สูตรอาหาร/สารควบคุมการเจริญ	จำนวนยอดเฉลี่ย/ชิ้นส่วน
G. mangostana	เมล็ด	MMS+5mg/l BA	20
(มังคุด)	ใบ	WPM+5mg/l BA	2-5
	แคลลัส	MS+0.5mg/l BA+0.5mg/l TDZ (1)	
		WPM+0.1mg/l BA (2)	
		overlayed medium (3)	10
G. speciosa	เมล็ด	MMS+5mg/l BA	50
(พะวา)	ใบ	WPM+5mg/l BA	2-5
	แคลลัส	MS+0.25mg/l NAA+2.5mg/l BA(1)	
		overlayed medium(2)	20
G. atroviridis	เมล็ด	MMS+5mg/l BA	1
(ส้มแขก)	ใบ	WPM+5mg/l BA	0
		WPM+0.5mg/l BA+0.5mg/l TU	2.5
	ข้อ/ลำต้น	WPM+0.1mg/l TU (1)	
		overlayed medium (2)	20-30
G.schomburgkiaia	เมล็ด	MS+5mg/l BA	25
na (มะดัน)	แคลลัส	MS+0.5mg/l BA+0.5mg/l TDZ (1)	
		MS+0-0.1mg/l BA (2/3)	15

MMS: modified MS medium

WPM: woody plant medium, BA:benzyladenine

NAA:naphthaleneacetic acid, TDZ:thidiazuron

TU:thiourera

overlayed medium: อาหารเหลวสูตร ½ MS เติม NAA 0.06 มก/ล และ BA 0.03 มก/ล

(1) (2) และ (3) เป็นสูตรอาหารชักนำแคลลัส สูตรอาหารชักนำยอด และสูตรอาหารชักนำการยืดยาวยอดตามลำดับ

พืชในสกุลโท๊ะ

(*Rhodomyrthus* spp.)

1. โท๊ะ

1.1 ผลของอายุดอกและชนิดของอาหารต่อการสร้างแคลลัสของอับละอองเกสรดอกโทะ

วางเลี้ยงส่วนของอับละอองเกสรจากดอกโทะที่อายุต่างกันบนอาหารวุ้นและอาหารเหลว สูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D NAA และ KN ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงจำนวน 30 อับละอองเกสรต่อขวด วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 $\pm$ 4^{o} ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัส เปรียบเทียบกันในแต่ละอายุดอก โดยใช้แผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล 2 ปัจจัยใน CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

1.2 ผลของสภาพการวางเลี้ยงต่อการสร้างแคลลัสของอับละอองเกสรของดอกโทะ

วางเลี้ยงส่วนของอับละอองเกสรจากดอกโทะที่อายุต่างกัน บนอาหารเหลวสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D, NAA และ KN ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงจำนวน 30 อับละอองเกสรต่อขวด วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 2 ^{o} ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวันและในสภาพมืด หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัส สีของแคลลัส เปรียบเทียบกันในแต่ละสภาพการวางเลี้ยง โดยใช้แผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล 2 ปัจจัยใน CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ผลการศึกษา

1.1 ผลของอายุดอกและชนิดของอาหารต่อการสร้างแคลลัสของอับละอองเกสร

จากการวางเลี้ยอับละอองเกสรจากดอกโทะที่อายุต่างกัน บนอาหารวุ้นและอาหารเหลวสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D NAA และ KN ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสของอับละอองเกสรจากดอกที่อายุต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติซึ่งดอกขนาดที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสสูงสุด รองลงมาคือขนาดที่สองและขนาดที่สามตามลำดับซึ่งขนาดของดอกมีผลต่อการสร้างแคลลัสแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนลักษณะอาหารเหลวและอาหารแข็งต่อเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 อัตราการสร้างแคลลัสจากดอกโท๊ะที่อายุต่างกันในอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D NAA และ KN ความเข้มข้น 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน

ลักษณะอาหาร	อายุดอก (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง)			เฉลี่ย	F-test
	8 มม.	6 มม.	4 มม.		
อาหารแข็ง	21.8	18.2	0.6	13.53	ns
อาหารเหลว	21.6	21.2	2.6	15.13	
เฉลี่ย	21.7a	19.7a	1.6b		
F-test	**				ns

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT

2.2 ผลของสภาพการวางเลี้ยงต่อการสร้างแคลลัสของอับละอองเกสร

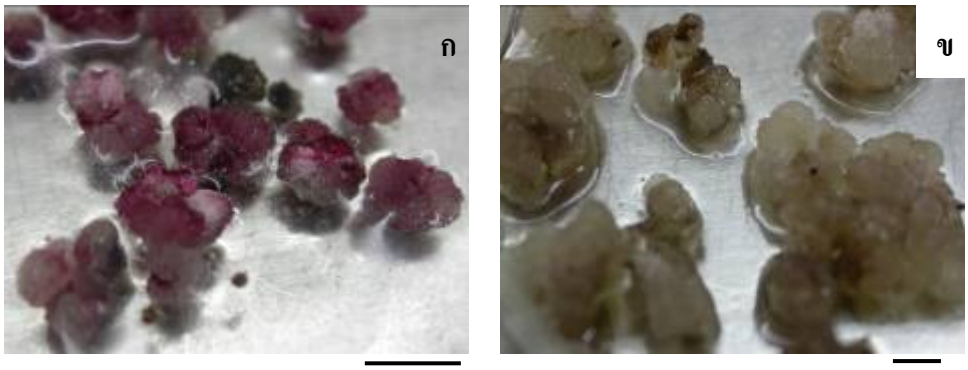
จากการวางเลี้ยงอับละอองเกสรดอกโทะที่มีอายุต่างกัน และนำไปวางเลี้ยงในสภาพมืดและให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า การสร้างแคลลัสสูงสุดในการวางเลี้ยงอับละอองเกสรดอกโทะขนาด 8 มิลลิเมตร ในสภาพให้แสง 50.46% และการวางเลี้ยงในสภาพต่างกันส่งผลให้การสีของแคลลัสแตกต่างกัน (ภาพที่ 27) โดยการวางเลี้ยงในที่มืดแคลลัสมีสีเหลือง ส่วนการวางเลี้ยงในสภาพที่ให้แสงแคลลัสมีการสร้างสารแอนโธไซยานิน มีสีม่วงแดงสูงสุด 70.48% แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22 การสร้างแคลลัส และสีแคลลัสของโท๊ะที่เพาะเลี้ยงในสภาพให้แสง และในสภาพมืด บนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D NAA และ KN ความเข้มข้น 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน

สภาพวางเลี้ยง	อายุดอก (สัปดาห์)	การสร้างแคลลัส(%)	การเกิดแคลลัสสีเหลือง (%)	การเกิดแคลลัสสีม่วง (%)
สว่าง	1	47.04a	31.56b	68.44a
	2	44.62a	45.90b	54.10a
	3	50.46a	29.52b	70.48a
มืด	1	29.45ab	79.71a	20.86b
	2	40.05ab	89.61a	10.39b
	3	19.71b	77.33a	22.67b
F-test		*	*	*
C.V. (%)		41.08	35.42	50.64

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 27 แสดงแคลลัสของโท๊ะที่วางเลี้ยงในสภาพต่างกัน (บาร์ = 1 ซม)

(ก) วางเลี้ยงในสภาพมีแสง

(ข) วางเลี้ยงในสภาพมืด

พืชในสกุลมะไฟ

(*Baccaurea* spp.)

1. มะไฟ (*Baccaurea ramiflora* Lour.)

1.1 การชักนำยอดรวมในหลอดทดลองของมะไฟ

นำเมล็ดมะไฟที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ เมล็ดงอกเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์จึงตัดส่วนของปลายยอดมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดซึ่งทดสอบ 5 สูตรดังนี้คือ (1) สูตร MS เติม BA 3 มก/ล และ KN 0.25 มก/ล (2) สูตร MS เติม TDZ 0.5 มก/ล และ NAA 0.5 มก/ล (3) สูตร MS เติม BA 5.63 มก/ล (4) สูตร MS เติม BA 3 มก/ล และ (5) สูตร MS เติม BA 3 มก/ล และ NAA 0.25 มก/ล วางเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26 ±2 ^{o} ซ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวม และจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนเปรียบเทียบกันในแต่ละสูตรอาหาร โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

1.2 การพัฒนาของยอดและการชักนำราก

นำยอดที่ชักนำได้มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ ½ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมน้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.75% วางเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26 ±2 ^{o} ซ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต และการสร้างรากของต้นมะไฟ เปรียบเทียบกันในแต่ละสูตรอาหาร

ผลการศึกษา

1.1 การชักนำยอดรวมในหลอดทดลองของมะไฟ

จากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดมะไฟบนอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่า การเติม BA ในอาหารเพาะเลี้ยงให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดสูง 80 – 100 % ส่วนอาหารที่ไม่เติม BA ให้อัตราการสร้างยอด 75% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ในส่วนของจำนวนยอดที่สร้างต่อชิ้นส่วนพบว่า ให้จำนวนยอดสูงสุด 2.5 ยอดต่อชิ้นส่วนในอาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตรอื่นๆ (ตารางที่ 23 ภาพที่ 28)

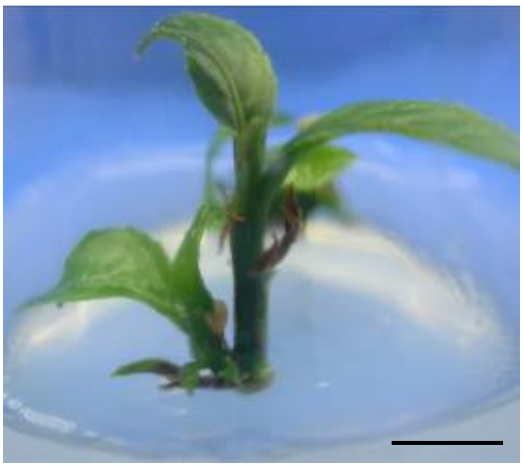
ตารางที่ 23 การสร้างยอดรวม และจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนของมะไฟหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	การสร้างยอด (%)	จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน
1)MS+ BA (3 มก/ล)+ KN (0.25 มก/ล)	80	1.4bc
2)MS+TDZ (0.5 มก/ล)+NAA(0.5 มก/ล)	75	1.0c
3)MS+ BA (5.63 มก/ล)	100	2.2ab
4)MS+ BA (3 มก/ล)	80	0.8c
5)MS+ BA (3 มก/ล) + NAA (0.25 มก/ล)	100	2.5a
F-test	ns	*
C.V.(%)	41.55	42.06

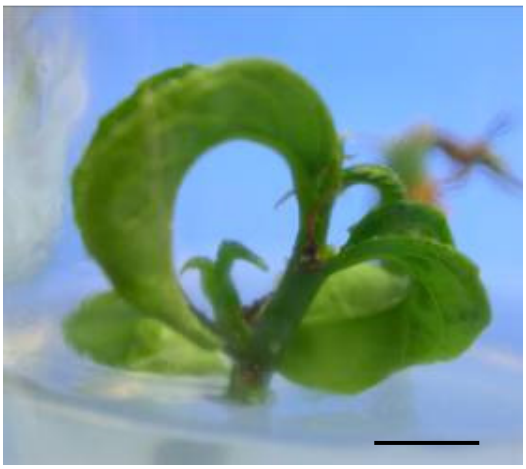
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

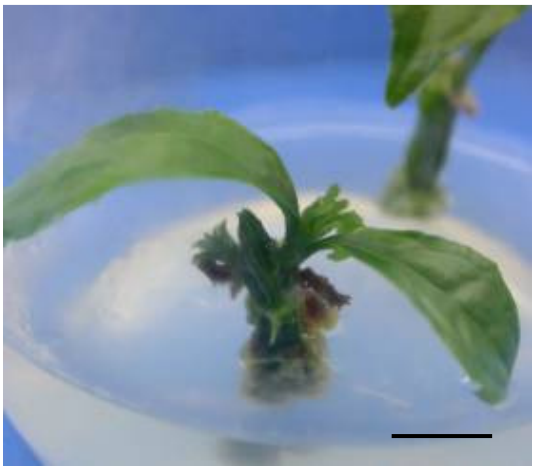
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT



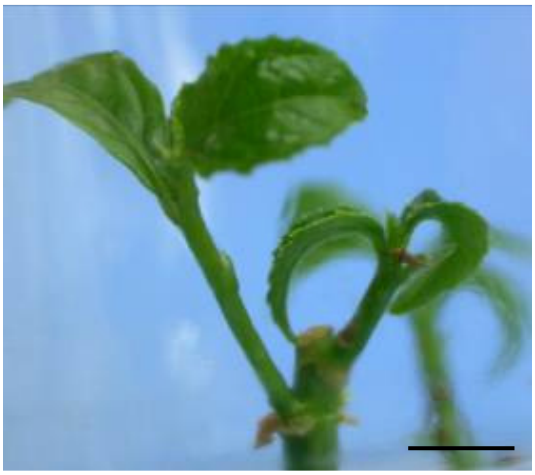
ก



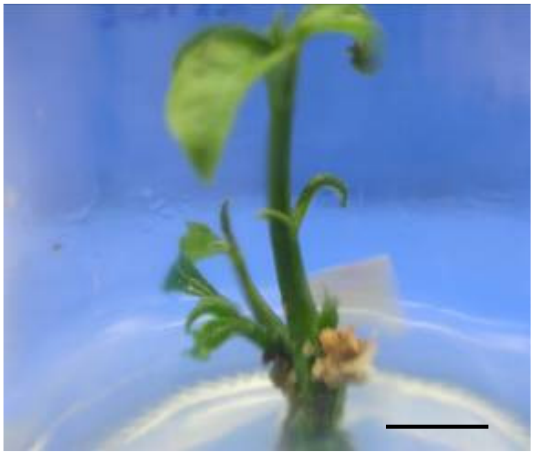
ข



ค



ง



จ

ภาพที่ 28 ลักษณะการสร้างยอดรวมของมะไฟจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (บาร์ = 1 ซม)

ก: MS+ BA (3 มก/ล)+ KN (0.25 มก/ล) ข: MS+ TDZ (0.5 มก/ล) + NAA (0.5 มก/ล)

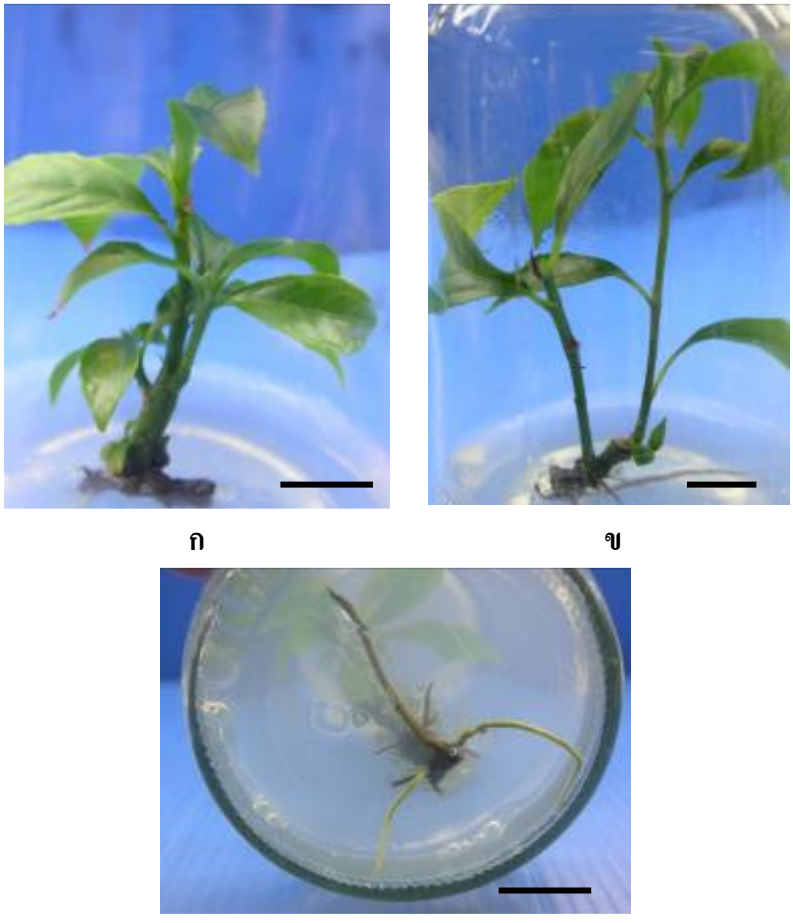
ค: MS+ BA (5.63 มก/ล) ง: MS+BA (3 มก/ล) จ: MS+ BA (3 มก/ล) + (0.25 มก/ล)NAA

1.2 การพัฒนาของยอดและการชักนำราก

จากการวางเลี้ยงยอดความสูง 1- 1.5 เซนติเมตร บนอาหารสูตร MS และ ½ MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า อาหารสูตร ½ MS ให้การพัฒนายอดสูง 5.33 เซนติเมตร และให้จำนวนใบ 5.25 ใบ และให้อัตราการเกิดราก 100% สูงกว่าอาหารสูตร MS (ตารางที่ 24 ภาพที่ 29)

ตารางที่ 24 ผลของสูตรอาหารต่อการพัฒนาของยอด และการสร้างรากของต้นมะไฟหลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

สูตรอาหาร	ความสูง (ซม)	จำนวนใบ	การเกิดราก (%)	จำนวนราก/ชิ้นส่วน
MS	3.86	4.75	50	2.0
½ MS	5.33	5.25	100	2.75



ก ข

ค

ภาพที่ 29 การพัฒนาของยอด และรากจากการเพาะเลี้ยงปลายยอดมะไฟบนอาหารสูตร MS (ก) และ ½ MS (ข) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์=1 ซม)

2. จำปุลิง (*Baccaurea polyneura* Hook. f.)

2.1 การชักนำยอดรวมในหลอดทดลองของจำปุลิง

นำเมล็ดจำปุลิงที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว วางเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ เมล็ดงอกเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์จึงตัดส่วนของปลายยอดมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอด 5 สูตรคือ (1) สูตร MS เติม BA 3 มก/ล และ KN 0.25มก/ล (2) สูตร MS เติม TDZ 0.5 มก/ล และ NAA 0.5 มก/ล (3) สูตร MS เติม BA 5.63 มก/ล (4) สูตร MS เติม BA 3 มก/ล และ (5) สูตร MS เติม BA 3 มก/ล และ NAA 0.25 มก/ล วางเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26 ±2 $^{\circ}$ซ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวม และจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนเปรียบเทียบกันในแต่ละสูตรอาหาร โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ผลการศึกษา

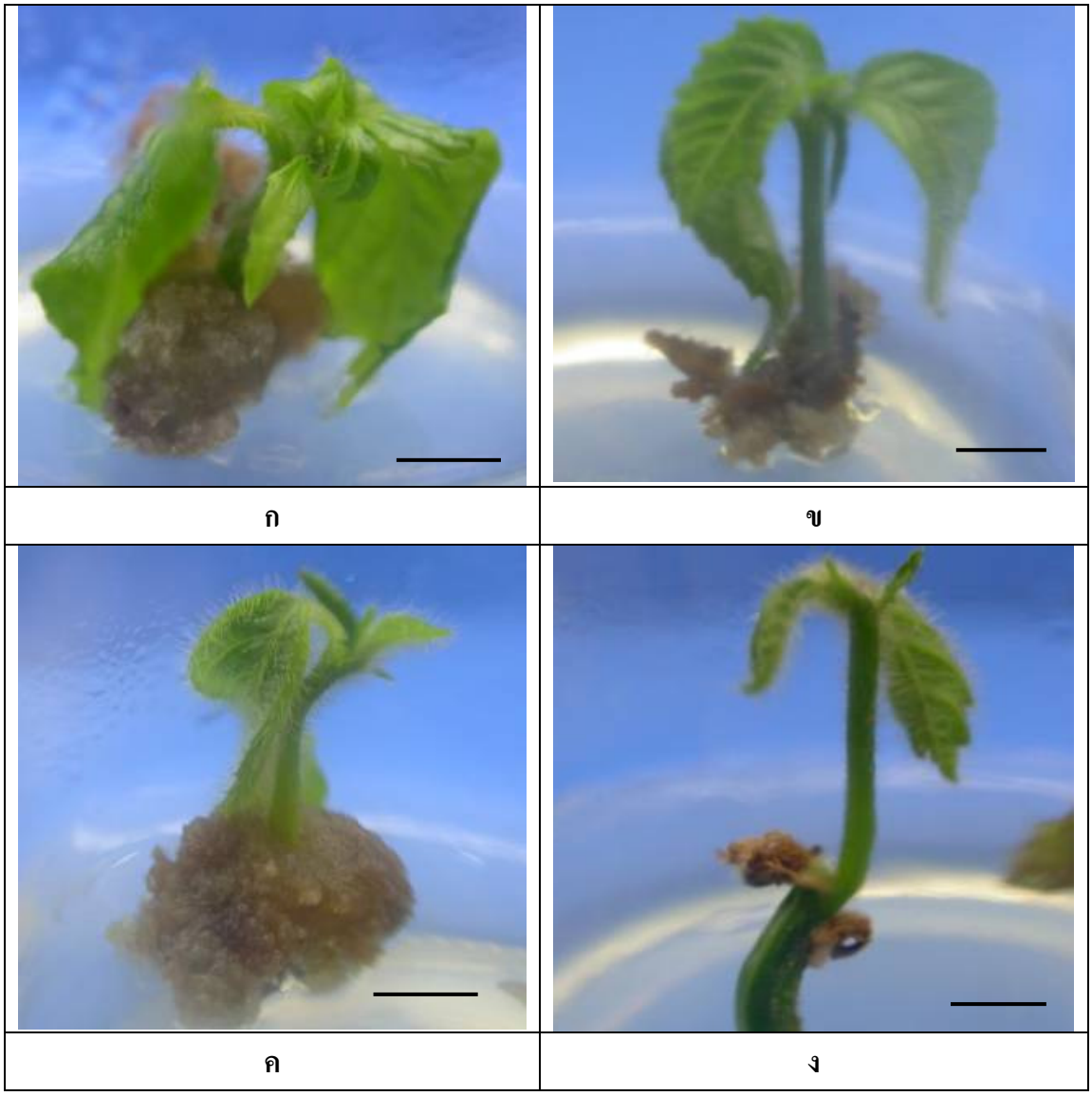
2.1 การชักนำยอดรวมในหลอดทดลองของจำปุลิง

จากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของจำปุลิงพบว่า ยังไม่สามารถชักนำยอดรวมได้ อาหารทุกสูตรให้การสร้างยอดเพียงยอดเดียว (ตารางที่ 25) ซึ่งในการศึกษานี้ได้ใช้อาหารสูตรเดียวกันกับมะไฟเนื่องจากเป็นพืชในสกุลเดียวกัน ในกรณีของมะไฟนั้นมีการสร้างยอดรวมเฉลี่ยสูงสุดเฉลี่ย 2.5 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นนี้อาจยังไม่เหมาะสมในการชักนำยอดรวมในจำปุลิงแต่จะพบว่ามีการสร้างแคลลัสเกิดขึ้น (ภาพที่ 30) จึงจำเป็นที่จะต้องทดลองหาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อไป

ตารางที่ 25 การสร้างยอดรวม และจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนของจำปุลิงหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	การสร้างยอด (%)	จำนวนยอด/ชิ้นส่วน
MS+BA (3 มก/ล)+KN (0.25 มก/ล)	60	1
MS+TDZ (0.5 มก/ล)+ NAA (0.25 มก/ล)	0	0
MS+ BA (3 มก/ล) +NAA (0.25 มก/ล)	60	1
MS+BA (3 มก/ล)	50	1
MS+BA (5.63 มก/ล)	60	1
F-test	ns	
C.V.(%)	107.35	

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 30 ลักษณะการสร้างยอดของจำปุลิงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (บาร์=1 ซม)

ก MS+ BA (3 มก/ล)+ KN (0.25 มก/ล)

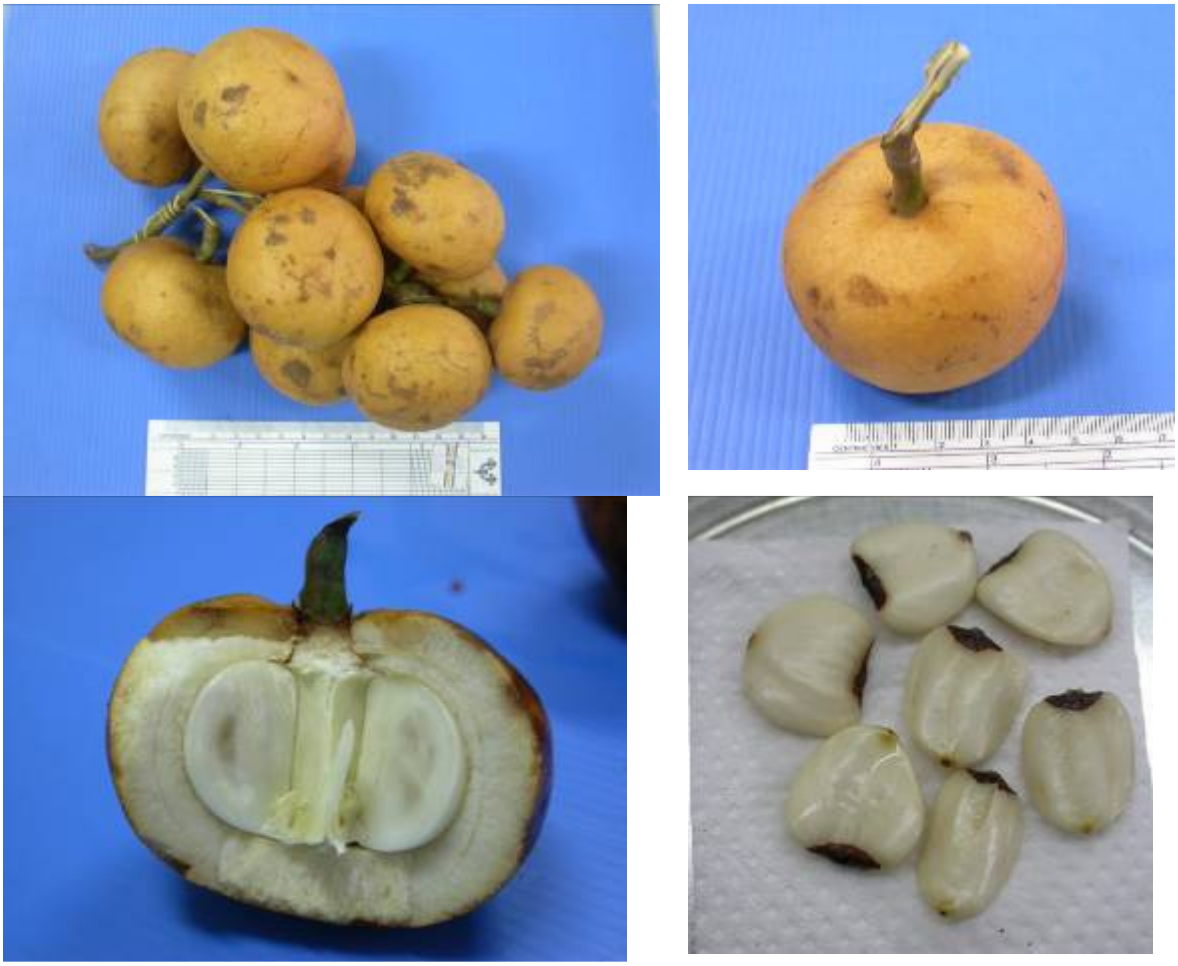
ข MS+ BA (3 มก/ล)+NAA (0.25 มก/ล)

ค MS+BA (3 มก/ล)

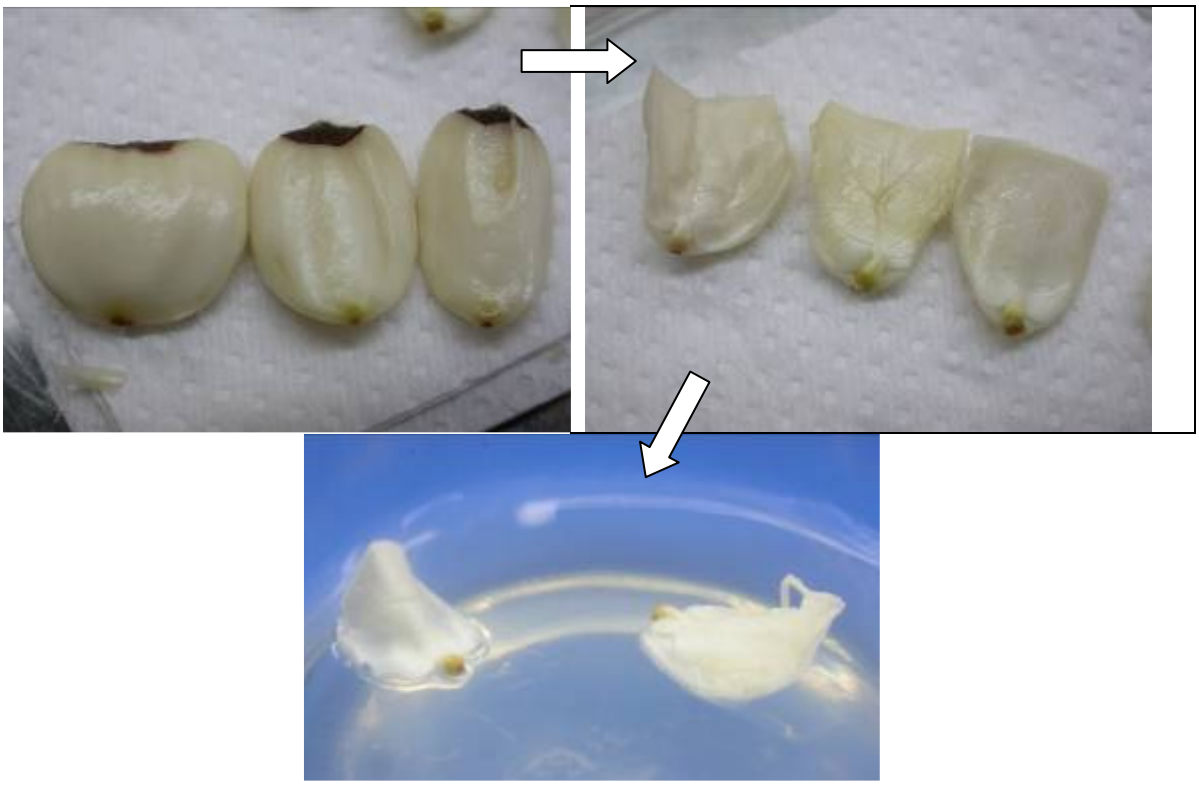
ง MS+BA (5.63 มก/ล)

3. ลังแข (*Baccaurea macrophylla* Mull. Arg.)

แยกเมล็ดลังแขจากผล (ภาพที่ 31) มาฟอกฆ่าเชื้อด้วย แอลกอฮอล์ 70 % นาน 30 วินาที ตามด้วยคลอร๊อกซ์เข้มข้น 20% เป็นเวลา 20 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง จึงเพาะเมล็ดลังแขบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ภาพที่ 32) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมล็ดงอกเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์จึงตัดส่วนของ ใบ และ ข้อ วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 28 $\pm 2^{\circ}$ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสเปรียบเทียบกันในแต่ละชิ้นส่วน วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT



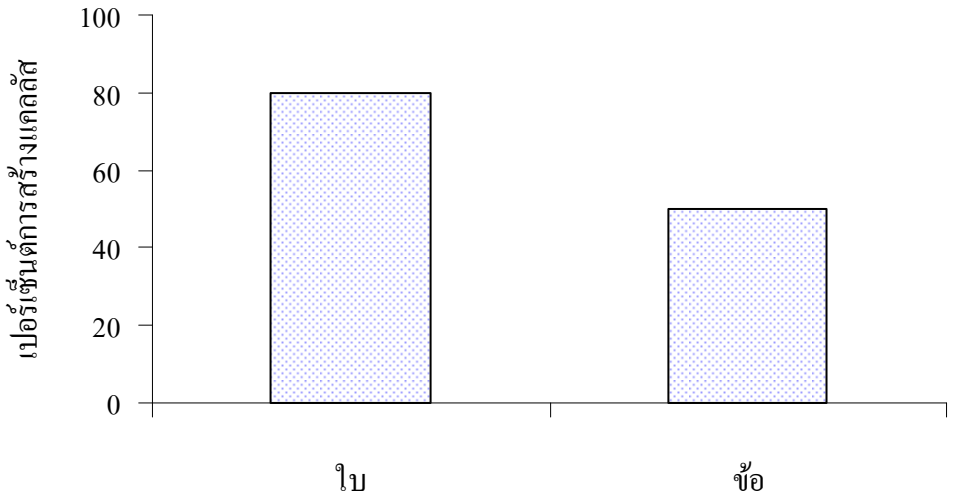
ภาพที่ 31 ลักษณะของผล และเมล็ดลังแขที่แยกจากผลเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยง



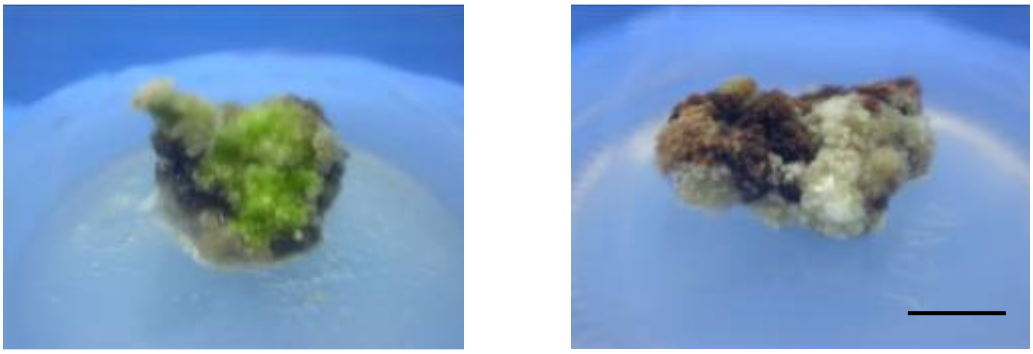
ภาพที่ 32 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นส่วนเมล็ดลังแขเพื่อวางเลี้ยงในหลอดทดลอง

ผลการศึกษา

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน ข้อ และ ใบ บนอาหารแข็งสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนทั้งสองชนิดสามารถสร้างแคลลัสได้หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยที่ชิ้นส่วนใบให้การสร้างแคลลัสได้สูงกว่าชิ้นส่วนข้อ (ภาพที่ 33) และแคลลัสที่สร้างจากใบจะให้แคลลัสที่มีสีเขียว ส่วนแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนข้อมีสีเขียวอ่อนจนถึงสีครีม (ภาพที่ 34)



ภาพที่ 33 การสร้างแคลลัสของลังแขจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ และข้อของลังแข บนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มก/ล เป็นเวลา 6 สัปดาห์



ก **ข**

ภาพที่ 34 ลักษณะแคลลัสของลังแขที่ชักนำจากชิ้นส่วนใบ (ก) และ ชิ้นส่วนข้อ (ข) บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 0.5 มก/ล เป็นเวลา 6 สัปดาห์ (บาร์= 0.5 ซม)

พืชในสกุลหลุมพี

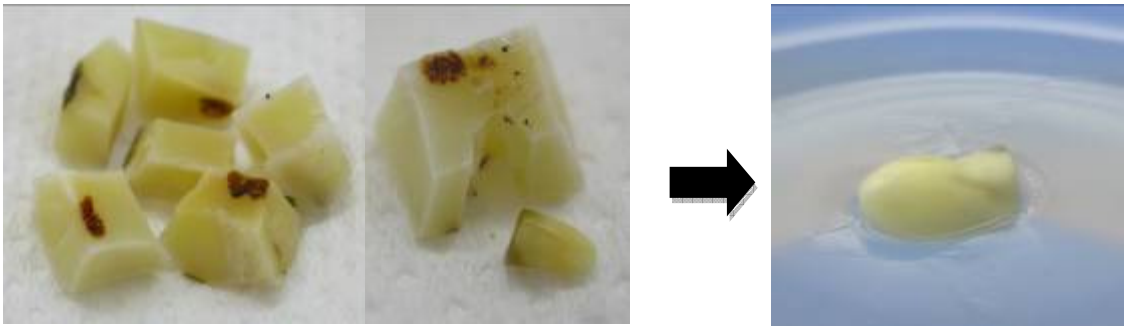
(*Eleiodoxa* spp.)

1. หลุมพี [*Eleiodoxa conferta* (Griff.) Burr.]

1.1 การเพาะเลี้ยงคัพภะ

การเตรียมคัพภะ การเตรียมคัพภะเพื่อการเพาะเลี้ยงแสดงดังภาพที่ 35

แยกผลออกจากทะลาย แกะเนื้อออกจากผลโดยใช้กรรไกรตัดแต่ง



ตัดเนื้อในเมล็ดที่ห่อหุ้มคัพภะขนาด ~ 0.3 x 0.3 x 0.8 ซม นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70% 1 นาที ตามด้วยคลอร๊อกซ์เข้มข้น 20% 20 นาที (เขย่า) และล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

ตัดแยกคัพภะออกจากเนื้อในเมล็ดเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์

ภาพที่ 35 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นส่วนคัพภะของหลุมพี และการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำแคลลัส และพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ต่อไป

5.1 ผลของสูตรอาหารและความเข้มข้นของ dicamba ต่อการสร้างแคลลัสจากชิ้นส่วนคัพภะ

เพาะเลี้ยงคัพภะหลุมพีบนอาหารสูตร MS และ Y3 ที่เติม dicamba ความเข้มข้น 0 1 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26 ±2 °ซ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสเปรียบเทียบกันในแต่ละสูตรอาหาร โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

5.2 ผลของความเข้มข้นของ dicamba ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัส

นำแคลลัสที่ชักนำได้จากเมล็ดหนัก 250 มิลลิกรัม มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 0.3 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 26 ±2 °ซ หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือนบันทึกการเปลี่ยนแปลงเปรียบเทียบกันในแต่ละความเข้มข้นของ dicamba

5.3 การเพิ่มปริมาณแคลลัสโดยการสับแคลลัสเดิมเป็นชิ้นเล็ก ๆ

นำแคลลัสที่ชักนำจากเมล็ดหนัก 250 มิลลิกรัม มาสับให้เป็นชิ้นเล็กๆ และวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 26 ±2 °ซ หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือนบันทึกการเปลี่ยนแปลงเปรียบเทียบกันระหว่างแคลลัสปกติและแคลลัสที่สับเป็นชิ้นเล็กๆ

ผลการศึกษา

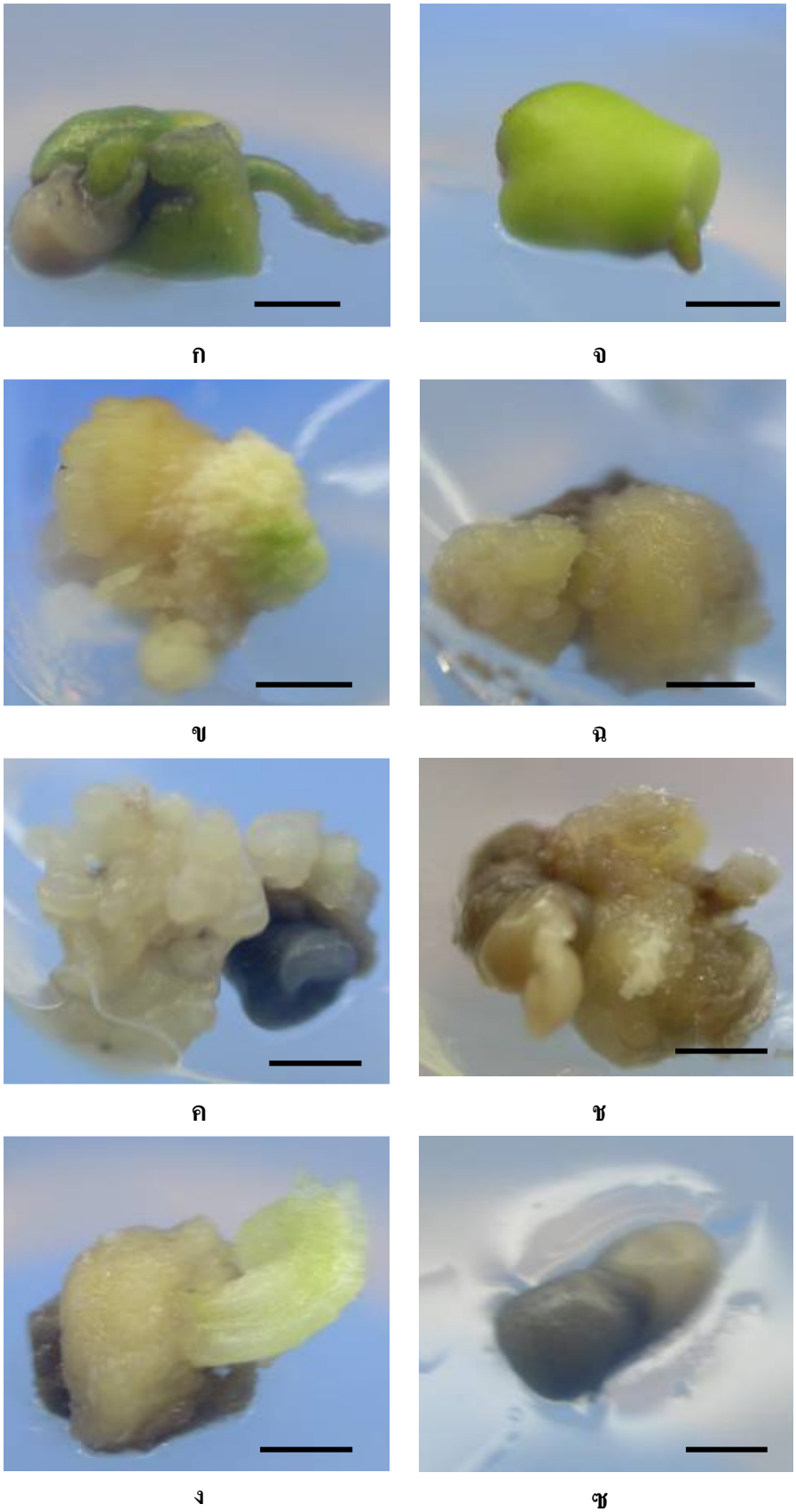
5.1 ผลของสูตรอาหารและความเข้มข้นของ dicamba ต่อการสร้างแคลลัสจากชิ้นส่วนคัพภะ

จากการวางเลี้ยงคัพภะหลุมพีบนอาหารทั้ง 2 สูตรพบว่า อาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตรให้การสร้างแคลลัสสูงสุด 66.67% สูงกว่าอาหารสูตร Y3 และอาหารทั้งสองสูตรที่เติม dicamba ความเข้มข้นต่ำกว่า 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่สร้างแคลลัส (ตารางที่ 26 ภาพที่ 36)

ตารางที่ 26 ผลของสูตรอาหาร และความเข้มข้นของ Dicamba ต่อการสร้างแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงคัพภะหลุมพีเป็นเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร	Dicamba (มก/ล)	การสร้างแคลลัส(%)
MS	0	0
	1	0
	2.5	66.67
	5	66.67
Y3	0	0
	1	0
	2.5	33.33
	5	33.33
F-test		ns
C.V.(%)		163.29

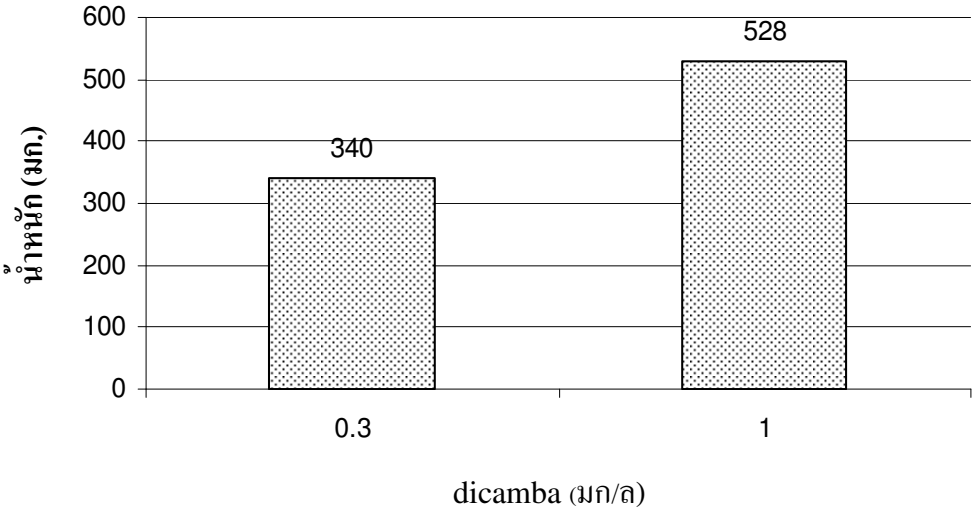
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



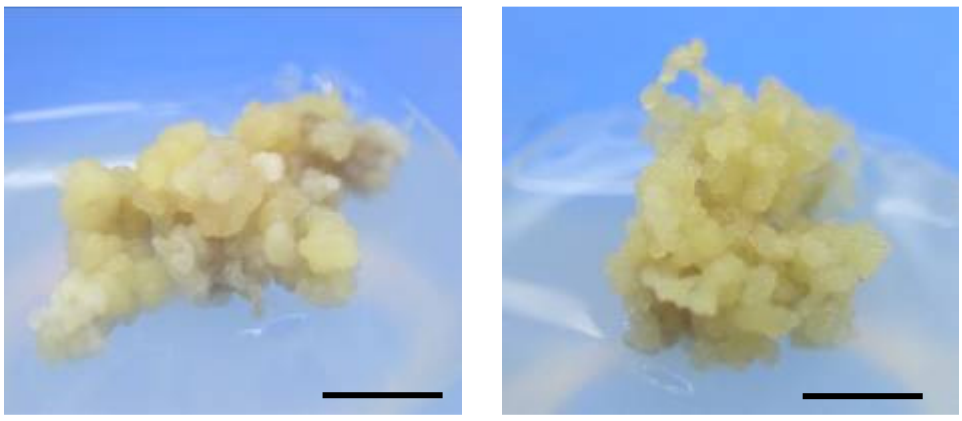
ภาพที่ 36 พัฒนาการของคัพภะหลุมพีหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน
ก-ง อาหารสูตร MS จ-ซ อาหารสูตร Y3 เติม dicamba 0 5 2.5 และ 1 มก/ล (บาร์=1 ซม)

5.2 ผลของความเข้มข้นของ dicamba ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัส

จากการศึกษาพบว่าแคลลัสที่วางเลี้ยงบนอาหารเติม dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักแคลลัส 528 มิลลิกรัม มากกว่าแคลลัสที่วางเลี้ยงบนอาหารที่เติม dicamba เข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้น้ำหนักแคลลัสเท่ากับ 340 มิลลิกรัม (ภาพที่ 37 และ 38)



ภาพที่ 37 การเพิ่มปริมาณแคลลัสของหลุมพืหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 0.3 และ 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน



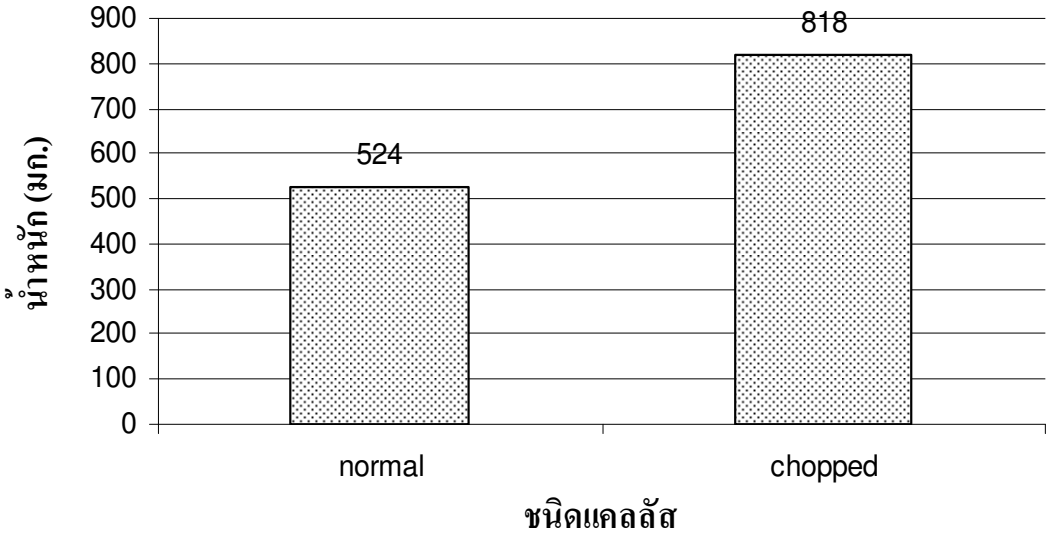
ก **ข**

ภาพที่ 38 ลักษณะแคลลัสของหลุมพืหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 0.3 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์= 1 ซม)

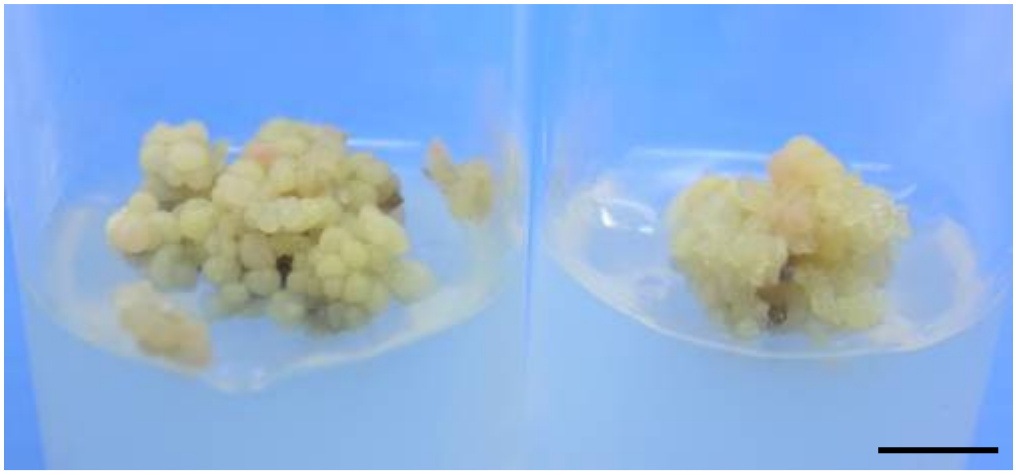
ก dicamba 0.3 มก/ล ข dicamba 1.0 มก/ล

5.3 การเพิ่มปริมาณแคลลัสโดยการสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ก่อนวางเลี้ยง

จากการศึกษา พบว่าแคลลัสที่ผ่านการสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ให้การเพิ่มปริมาณได้เร็วกว่า โดยให้น้ำหนักแคลลัส 818 มิลลิกรัมสูงกว่าแคลลัสปกติซึ่งให้น้ำหนักแคลลัส 524 มิลลิกรัม หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (ภาพที่ 39) และลักษณะของแคลลัสที่ได้จากการสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ มีขนาดใหญ่กว่าแคลลัสปกติ (ภาพที่ 40) และเมื่อวางเลี้ยงแคลลัสทั้งสองชนิดบนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสที่ผ่านการสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ มีการพัฒนาไปเป็นโซมาติกเอ็มบริโอได้ (ภาพที่ 41)



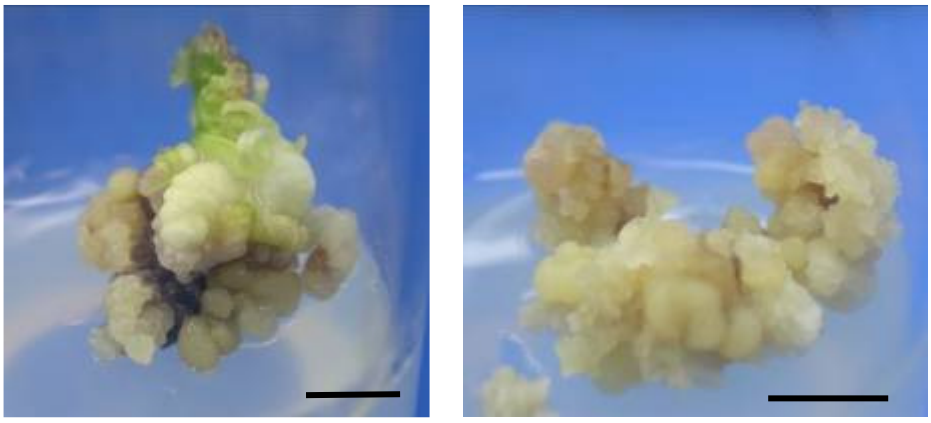
ภาพที่ 39 การเพิ่มปริมาณแคลลัสของหลุมพีด้วยวิธีการย้ายเลี้ยงปกติ และสับแคลลัสเป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนการย้ายเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน



ก ข

ภาพที่ 40 ลักษณะแคลลัสของหลุมพีหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 1 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 ซม)

ก: แคลลัสที่สับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ข: แคลลัสที่ย้ายเลี้ยงปกติ



ก ข

ภาพที่ 41 ลักษณะแคลลัสของหลุมพีหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารเติม dicamba ความเข้มข้น 0.1 มก/ล เป็นเวลา 2 เดือน (บาร์ = 1 ซม)

ก แคลลัสที่สับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ข แคลลัสที่ย้ายเลี้ยงปกติ

พืชในสกุลมะรุม

(*Moringa oleifera* Lam.)

1. มะรุม (*Moringa oleifera* Lam.)

1.1 ผลของสูตรอาหารและชิ้นส่วนเริ่มต้นต่อการพัฒนาของต้นมะรุม

ใช้ชิ้นส่วนปลายยอด และคัพภะอ่อนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS เติม TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26 ±2 ° ซ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกการเปลี่ยนแปลงเปรียบเทียบกันในแต่ละชิ้นส่วนและสูตรอาหาร

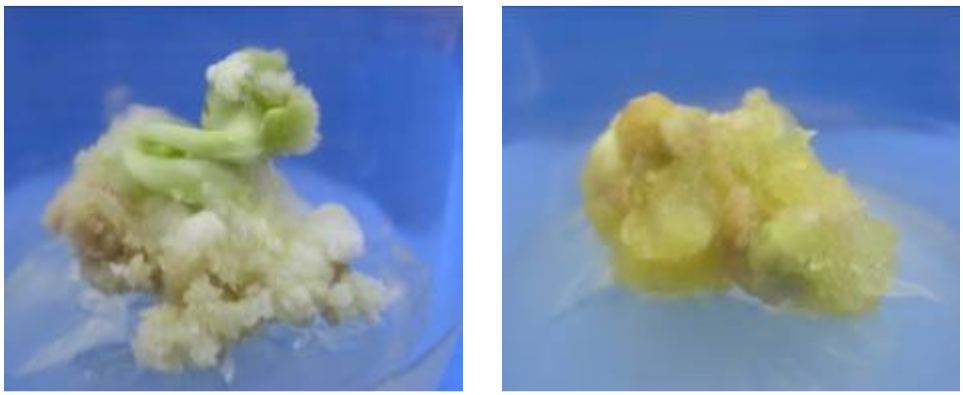
ผลการศึกษา

1.1 ผลของสูตรอาหารและชิ้นส่วนเริ่มต้นต่อการพัฒนาของต้นมะรุม

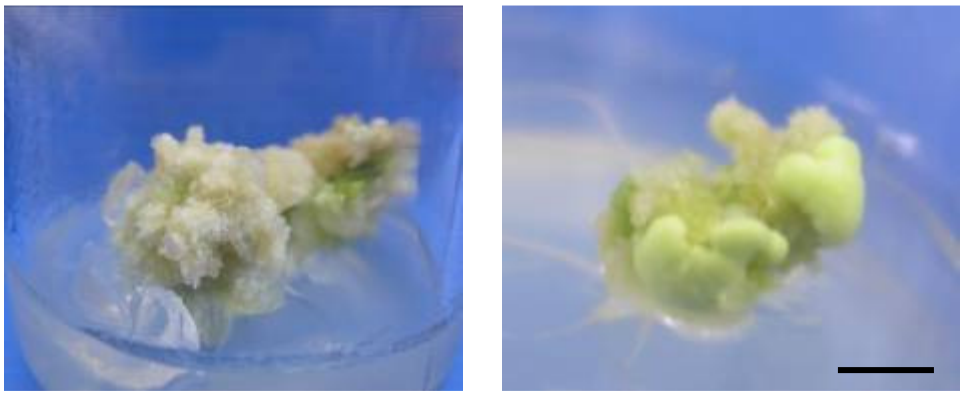
จากการศึกษาพบว่า ชิ้นส่วนทั้งหมดสร้างแคลลัสหลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (ตารางที่ 27) โดยชิ้นส่วนปลายยอดให้แคลลัสที่มีลักษณะเป็นปุยสีขาวในอาหารทั้ง 2 สูตร ส่วนชิ้นส่วนคัพภะอ่อนให้แคลลัสที่มีลักษณะเกาะกันแน่น สีเหลืองจนถึงเขียว (ภาพที่ 42) แต่เมื่อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ GA_3 เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน 0.25% มีการพัฒนาและยืดยาวของยอดหลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ภาพที่ 43) เมื่อตัดส่วนปลายยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างแคลลัสที่เกาะกันหลวม (friable callus) สีเหลือง (ภาพที่ 44) ซึ่งเป็นสูตรเดียวกันกับที่ใช้วางเลี้ยงยอดที่ได้จากต้นนอกหลอดดังกล่าวข้างต้น แสดงว่ายอดที่ได้จากในหลอดทดลองสามารถสร้างแคลลัสได้ดีกว่า และมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ต่อไปได้

ตารางที่ 27 ผลของชนิดชิ้นส่วนและสูตรอาหารต่อการสร้างแคลลัสของมะรุมหลังวางเลี้ยง 1 เดือน

สูตรอาหาร	การสร้างแคลลัส(%)	
	ปลายยอด	คัพภะอ่อน
MS+2,4-D 1.5 มก/ล + BA 0.5มก/ล	100	100
MS+ TDZ 0.5 มก/ล + NAA 0.1มก/ล	100	100



ก



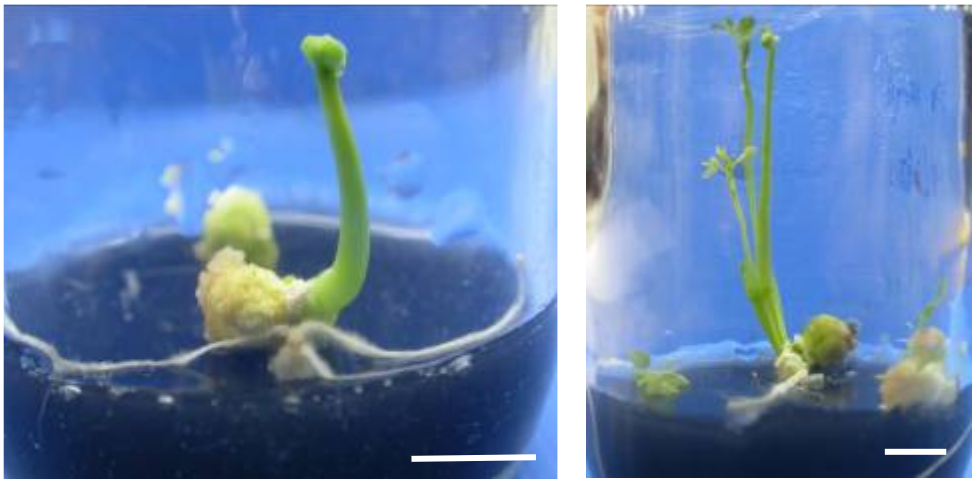
ข

ภาพที่ 42 ลักษณะแคลลัสของมะรุมจากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอด (ซ้าย) และชิ้นส่วนคัพภะอ่อน

(ขวา) เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์=1 ซม)

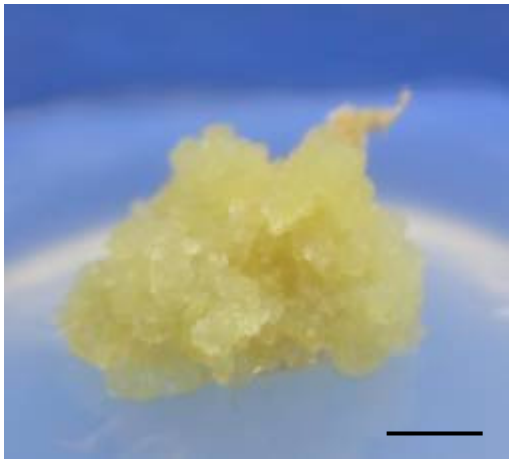
ก: MS+ 2,4-D (1.5 มก/ล)+ BA (0.5 มก/ล)

ข: MS+ TDZ (0.5 มก/ล)+ NAA (0.1 มก/ล)



ก ข

ภาพที่ 43 ต้นมะรุมจากการวางเลี้ยงคัพภะอ่อนบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับ GA_3 เข้มข้น 1 มก/ล และผงถ่าน 0.25% (บาร์= 1 ซม)
ก หลังวางเลี้ยง 2 สัปดาห์ ข หลังวางเลี้ยง 4 สัปดาห์



ภาพที่ 44 ลักษณะแคลลัสของมะรุมจากการวางเลี้ยงปลายยอดจากต้นในหลอดทดลองบนอาหารสูตรMS เติม 2,4-D 1.5 มก/ล และ BA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 ซม)

พืชในสกุลอบเชย

(*Cinnamomum verum*)

1. อบเชย (Cinnamon; *Cinnamomum verum*)

1.1 ศึกษาอายุของใบอ่อนสีแดงต่อการชักนำแคลลัส

เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนที่อายุต่างกันโดยใช้ขนาดของใบเป็นเกณฑ์ (ภาพที่ 45) นำใบขนาดต่างๆ มาฟอกฆ่าเชื้อโดยการแช่ในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70% เป็นเวลา 30 วินาที หลังจากนั้นแช่ในสารละลายคลอร๊อกซ์เข้มข้น 15% เป็นเวลา 15 นาที นำเข้าตู้ย้ายเลี้ยง และล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3-4 ครั้ง หลังจากนั้นตัดใบให้มีขนาดกว้าง 1 ซม ยาว 1 ซม และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}$ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสเปรียบเทียบกันในแต่ละขนาดของใบวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

1.2 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำแคลลัส

วางเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนขนาดที่ให้การสร้างแคลลัสสูงสุดจากการศึกษาที่ 1 นำใบ มาฟอกฆ่าเชื้อโดยการแช่ในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70% เป็นเวลา 30 วินาที หลังจากนั้นแช่ในสารละลายคลอร๊อกซ์เข้มข้น 15% เป็นเวลา 15 นาที นำเข้าตู้ย้ายเลี้ยง และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3-4 ครั้ง หลังจากนั้นตัดใบให้มีขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร ยาว 1 เซนติเมตร และวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติม BA หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}$ซ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกอัตราการสร้างแคลลัสเปรียบเทียบกันในแต่ละชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

L1 L2 L3

ภาพที่ 45 ลักษณะของใบอ่อนสีแดงของอบเชยแต่ละขนาดที่ใช้ในการชักนำแคลลัส

L1: อายุ 3 วันหลังจากแตกยอด

L2: อายุ 5 วันหลังจากแตกยอด

L3: อายุ 7 วันหลังจากแตกยอด

ผลการศึกษา

1.1 อายุของใบอ่อนสีแดงต่อการชักนำแคลลัส

จากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนสีแดงของอบเชยทั้ง 3 ขนาดพบว่า ใบ L2 ให้การสร้างแคลลัสได้สูงสุด 46% รองลงมาคือ L3 และ L1 ซึ่งให้การสร้างแคลลัส 26 และ 13% ตามลำดับ เนื่องจาก L1 เป็นใบที่อ่อนที่สุด เมื่อผ่านการฟอกฆ่าเชื้อทำให้ใบเปื่อย เนื้อเยื่อได้รับความเสียหายมากกว่าขนาดอื่น ส่งผลให้การสร้างแคลลัสต่ำ ในขณะที่ใบ L3 เป็นใบที่มีอายุมากสุด ระยะพัฒนาการของเซลล์แก่กว่า L2 จึงทำให้การสร้างแคลลัสต่ำกว่า ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่า ใบ L2 เป็นใบที่มีระยะพัฒนาที่เหมาะสม สามารถนำมาใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการชักนำแคลลัสได้ดีที่สุด (ตารางที่ 28)

ตารางที่ 28 ผลของอายุใบอ่อนสีแดงของอบเชยต่อการสร้างแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร MS เติม BA หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มก/ล

อายุใบอ่อนสีแดง	การสร้างแคลลัส (%)
L1	13.33b
L2	46.67a
L3	26.67ab
F-test	*
C.V. (%)	75.96

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT

1.2 ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำแคลลัส

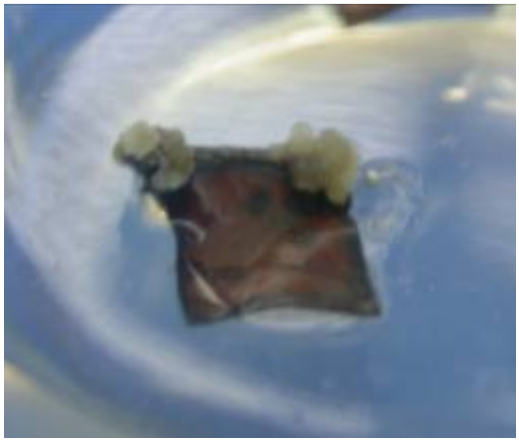
จากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนสีแดง (L2) บนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D หรือ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ TDZ ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า อาหารเติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) กับทรีตเมนต์อื่น ซึ่งจะเห็นว่าอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D หรือ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวให้การสร้างแคลลัสต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ร่วมกับ TDZ (ตารางที่ 29) สอดคล้องกับการศึกษาของ สมปอง และคณะ (1995) จากการศึกษาสารควบคุมที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสมังคุดโดยใช้ BA หรือ TDZ เพียงอย่างเดียว และ BA ร่วมกับ TDZ พบว่า การเติม BA ร่วมกับ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้ดีกว่าการใช้ BA หรือ TDZ เพียงอย่างเดียว ซึ่งจากการเลี้ยงแคลลัสอบเชยเพื่อเพิ่มปริมาณ พบว่า แคลลัสอบเชยมีการเกิดสีน้ำตาล ซึ่งสามารถลดการสร้างได้โดยการเติม PVP (polyvinylpyrroridone) ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 46 และ 47)

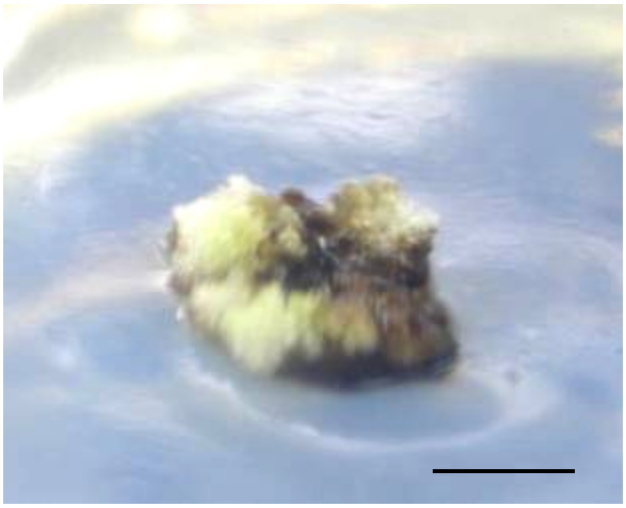
ตารางที่ 29 การพัฒนาของชิ้นส่วนใบของอบเชยหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA หรือ 2,4-D ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน

	TDZ (มก/ล)	การสร้างแคลลัส (%)
2,4-D (0.5 มก/ล)	0	6.67b
	0.5	40.00ab
	1.0	33.33ab
BA (0.5 มก/ล)	0	26.66ab
	0.5	53.33a
	0.1	60.00a
F-test		**
C.V. (%)		53.79

* * แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT





ภาพที่ 47 ลักษณะของแคลลัสจากใบอ่อนสีแดงของอบเชยหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ร่วมกับ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 มก/ล เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (บาร์= 1 ซม)

พืชในสกุลส้ม

(*Citrus* spp.)

1. ส้มโอ (*Citrus maxima* Merr.)

1.1 ผลของพันธุ์ส้มโอต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด

นำเมล็ดส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ทับทิมสยาม ฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 วินาที และคลอรอกซ์ 20% เป็นเวลา 20 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ภายในตู้ย้ายเลี้ยง วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.70% ปรับ pH เป็น 5.7 วางเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 26±2° ซ บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอก และการตอบสนองที่เกิดขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงทุกสัปดาห์เป็นเวลา 1 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD (Least significant difference) แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 หลอด หลอดละ 1 เมล็ด

1.2 ผลของพันธุ์ส้มโอต่อเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดและจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

นำลำต้นใต้ใบเลี้ยงของส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ทับทิมสยาม จากการทดลองที่ 1 ขนาดความยาว 1 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.7% ปรับ pH เป็น 5.7 ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26±2° ซ บันทึกเปอร์เซ็นต์การสร้างยอด และจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD แต่ละการทดลองทำ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ขวด ขวดละ 4 ชิ้นส่วน

ผลการศึกษา

1.1 ผลของพันธุ์ส้มโอต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด

จากการศึกษาพบว่าเมล็ดของส้มโอพันธุ์ทองดีให้เปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าส้มโอพันธุ์ทับทิมสยาม โดยให้เปอร์เซ็นต์ความงอก 97.67 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 30)

ตารางที่ 30 ผลของพันธุ์ส้มโอต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด

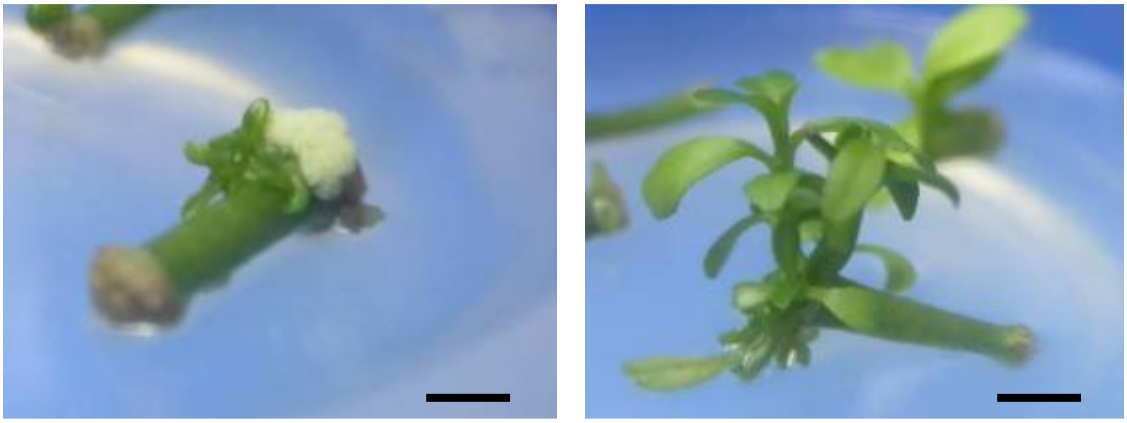
พันธุ์ส้มโอ	เปอร์เซ็นต์ความงอก
ทองดี	97.67
ทับทิมสยาม	63.33
$LSD_{.05}$	12.28
C.V.(%)	6.73

1.2 ผลของพันธุ์ส้มโอต่อเปอร์เซ็นต์การสร้าง ยอดรวม และจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

จากการศึกษาพบว่าส้มโอพันธุ์ทองดีให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดและจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนสูงกว่าส้มโอพันธุ์ทับทิมสยาม โดยให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอด 91.75 และจำนวนยอด 3.50 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 31) ซึ่งหลังจากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นเป็นเวลา 1 เดือน ปรากฏตายอดบริเวณรอยตัด (ภาพที่ 48 ก) และเมื่อวางเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน ตายอดเกิดการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 48 ข)

ตารางที่ 31 ผลของพันธุ์ส้มโอต่อเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดและจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

พันธุ์ส้มโอ	เปอร์เซ็นต์การสร้างยอด	จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน
ทองดี	91.75	3.50
ทับทิมสยาม	30.00	0.58
$LSD_{.05}$	16.03	0.66
C.V.(%)	15.22	18.74



ก ข

ภาพที่ 48 ยอดของส้มโอพันธุ์ทองดีบนอาหารสูตร MS เติม BA 1 มก/ล น้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.7%
(บาร์ = 0.5 ซม)
ก : ยอดของส้มโอพันธุ์ทองดีอายุ 1 เดือน
ข : ยอดของส้มโอพันธุ์ทองดีอายุ 2 เดือน

2. ส้มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco)

นำเมล็ดส้มโชกุนจากผลที่แก่เต็มที่ แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 3% เป็นเวลา 25 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง เพาะเมล็ดบนอาหาร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต วางเลี้ยงภายใต้ความเข้มแสง 15 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที เป็นเวลา 14 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 26±2° ซ เป็นเวลา 1 เดือน เมื่อเมล็ดงอกเป็นต้นกล้าใช้ชิ้นส่วนต่างๆ มาเพาะเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์ต่อไป

2.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการสร้างยอดรวมจากชิ้นของต้นกล้า

ใช้ชิ้นส่วนลำต้นเหนือใบเลี้ยงวางเลี้ยง ปลายยอด จากต้นกล้า และตาข้างจากยอดใหม่ที่ชักนำในหลอดทดลอง วางเลี้ยงในแนวตั้งให้ด้านโคนสัมผัสอาหารในอาหารสูตร MS เติม BA หรือ KN หรือ 2-iP หรือ TDZ ความเข้มข้น 0.1 0.3 0.5 0.7 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน ตรวจผลความสามารถในการสร้างยอดรวม จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนและความยาวยอดเปรียบเทียบกันในแต่ละความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด แต่ละหน่วยทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 15 ชิ้น

2.2 ผลของความเข้มข้นองค์ประกอบอาหาร NAA และ IBA ต่อการสร้างราก

ใช้ยอดรวมที่ชักนำในหลอดทดลอง มาวางเลี้ยงในอาหารสูตร MS หรือ ½ MS เติม NAA ความเข้มข้น 1 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ IBA เข้มข้น 0.5 1 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 เดือน ตรวจผลความสามารถ ในการสร้างราก จำนวนรากต่อยอด ความยาวราก และการรอดชวิตหลังย้ายปลูก เปรียบเทียบกันในแต่ละความเข้มข้นของ NAA และหรือ IBA โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด แต่ละหน่วยทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ยอด

ผลการศึกษา

2.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการสร้างยอดรวมจากชิ้นของต้นกล้า

จากการทดลองชักนำยอดรวมจากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าส้มโชกุนบนอาหาร สูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนิน ชนิด และความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า BA ให้การสร้างยอดรวมมากที่สุด 58.33% รองลงมาคือ KN ส่วน 2-iP ชักนำยอดรวมได้ต่ำสุด (ตารางที่ 32) ส่วนความเข้มข้นของไซโตไคนินที่เหมาะสม พบว่า BA เข้มข้น 0.5 มก./ล. ให้ยอดรวมสูงสุด 75% แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับการใช้ KN และ 2-iP ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันหรือสูงกว่า ในทำนองเดียวกับจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน พบว่า อาหารเติม BA ให้จำนวนยอดรวมมากที่สุด 1.36 ยอด รองลงมาคือ KN ในขณะที่ 2-iP ให้ยอดเฉลี่ยเพียงยอดเดียว ในทำนองเดียวกับเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวม BA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 1.65 ยอด แตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$) กับการใช้ KN ความเข้มข้นอื่นๆ และ 2-iP ทุกความเข้มข้น (ตารางที่ 32) สำหรับความยาวยอดนั้นไซโตไคนินทุกชนิด และความเข้มข้นให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม KN และ 2-iP มีแนวโน้มให้ความยาวยอดสูงกว่า BA นอกจากนี้ยังพบว่า จำนวน และความยาวยอดที่สร้างมีความสัมพันธ์แบบผกผันซึ่งกันและกัน

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นเหนือใบเลี้ยง ปลายยอด จากต้นกล้าและตาข้างจากยอดใหม่ส้มโชกุนที่ชักนำในหลอดทดลอง ในอาหารสูตร MS เติม BA หรือ TDZ ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนปลายยอดให้การตอบสนองต่อการสร้างยอดรวมสูงที่สุด รองลงมาเป็นชิ้นส่วนลำต้นเหนือใบเลี้ยง ส่วนชิ้นส่วนตาด้านข้างหรือข้อให้ยอดรวมต่ำสุดเป็นไปในทำนองเดียวกันทั้งในอาหารเติม BA และ TDZ (ตารางที่ 33) เมื่อพิจารณาชนิดของไซโตไคนินที่ทดสอบ พบว่า BA ส่งเสริมการสร้างยอดรวมจากทุกชิ้นส่วนได้ดีกว่า TDZ ชิ้นส่วนที่ต่างกันตอบสนองต่อความเข้มข้นของ BA แตกต่างกันออกไป ชิ้นส่วนตาด้านข้าง หรือข้อให้ยอดรวมสูงสุดในอาหารที่

ปราศจาก BA ในขณะที่ชิ้นส่วนลำต้นเหนือใบเลี้ยงให้ยอดรวมสูงสุดในอาหารเติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาจำนวน และความยาวยอดเฉลี่ย พบว่า ชิ้นส่วนปลายยอดให้ค่าตัวแปรทั้งสองเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาเป็นชิ้นส่วนลำต้นเหนือใบเลี้ยง ส่วนชิ้นส่วนตาข้างให้ค่าต่ำที่สุด (ภาพที่ 49) BA เข้มข้น 0.5 มก./ล. ให้จำนวนยอดจากชิ้นส่วนปลายยอดสูงสุด 2.33 ยอด การเพิ่มความเข้มข้นของไซโตไคนินสูงขึ้นส่งผลให้ความยาวยอดลดลง ผลดังกล่าวเห็นได้ชัดเจนในการเลี้ยงที่เติม TDZ และโดยเฉพาะชิ้นส่วนปลายยอด และเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารเติม GA_3 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างยอดรวมได้มากกว่า 5 ยอด/ชิ้นส่วน (ภาพที่ 50)

ตารางที่ 32 ผลของไซโตไคนินชนิดและความเข้มข้นต่างๆ ต่อการสร้างยอดรวมจากชิ้นส่วนลำต้นเหนือใบเลี้ยงต้นกล้าส้มโชกุน หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

ไซโตไคนิน		การสร้างยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย	ความยาวยอด
(มก/ล)		(%)	ต่อชิ้นส่วน	(มม)
	0	41.66bc	1.08bc	1.4
BA	0.1	58.33abc	1.28abc	1.3
	0.3	66.66ab	1.42ab	1.8
	0.5	75.00a	1.65a	1.8
	0.7	58.33abc	1.45ab	1.3
	1.0	50.00abc	1.29abc	1.2
เฉลี่ย		58.33	1.36	1.4
KN	0.1	50.00abc	1.16bc	2.0
	0.3	66.66ab	1.16bc	2.1
	0.5	41.66bc	1.27abc	1.8
	0.7	41.66bc	1.00c	1.9
	1.0	35.66bc	0.95c	1.6
เฉลี่ย		46.22	1.10	1.8
2-iP	0.1	58.33abc	1.00c	1.9
	0.3	41.66bc	1.00c	1.6
	0.5	41.66bc	1.16bc	1.5
	0.7	33.33c	1.00c	2.2
	1.0	31.00c	0.90c	1.4
เฉลี่ย		41.27	1.02	1.6
F-test		*	**	ns
C.V. (%)		24.27	13.18	29.05

*,** : แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$ และ 0.01

ns : ไม่แตกต่างทางสถิติ

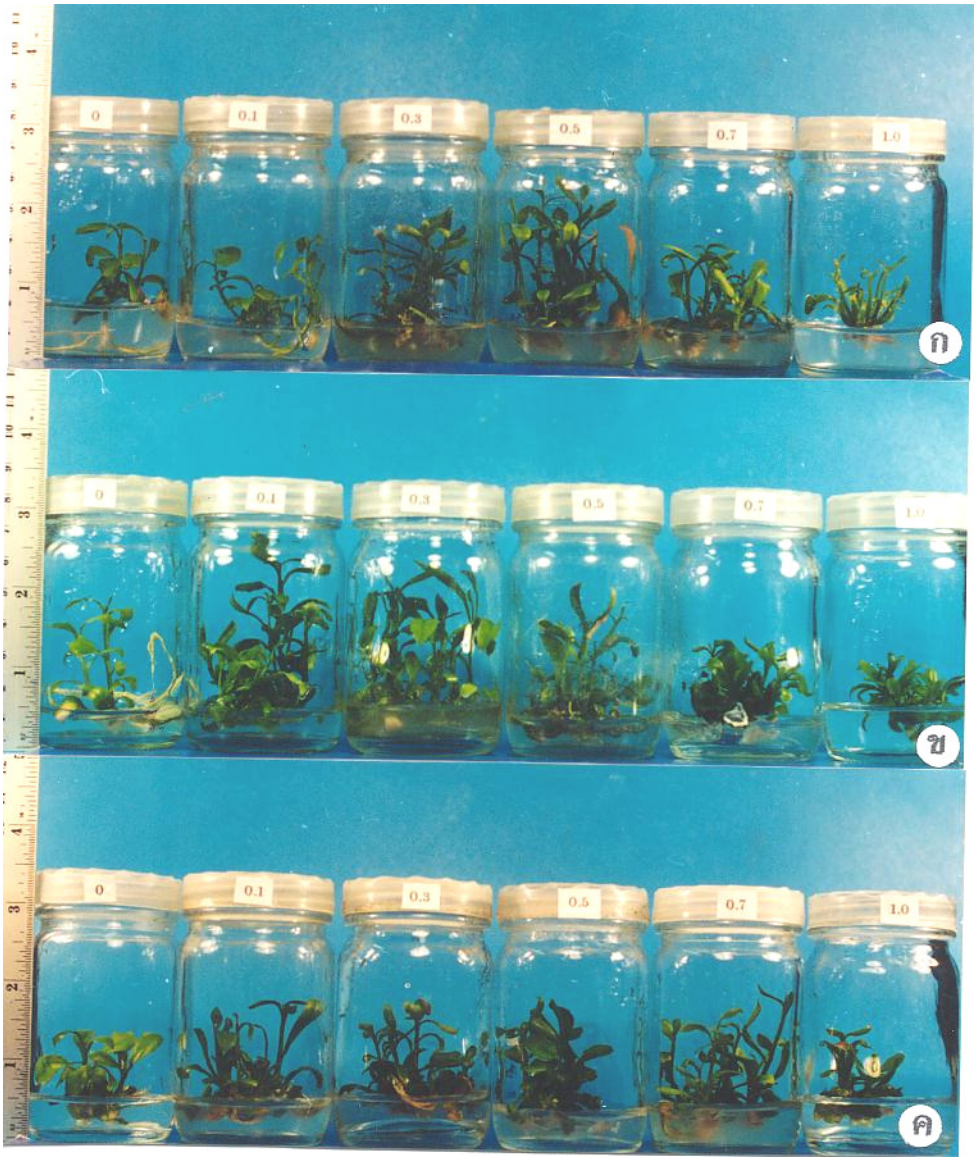
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติจากการตรวจสอบโดยวิธี DMRT

ตารางที่ 33 ผลของ BA และ TDZ ต่อเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวมจากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าส้มโชกุน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

TDZ	BA	เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวมจากชิ้นส่วน			ค่าเฉลี่ย
		ลำต้นเหนือใบเลี้ยง	ปลายยอด	ตาข้าง	
(มก./ล.)					
0	0	72.22a	70.00b	40.00a	60.74ab
0	0.1	77.50a	90.00a	12.50c	60.00ab
0	0.5	78.48a	90.00a	12.50c	60.31ab
0	0.7	72.22a	96.00a	25.00b	64.40a
0	1.0	61.78b	90.00a	25.00b	58.92ab
ค่าเฉลี่ย		72.49	91.50	18.75	60.90
0.1	0	0.00c	40.00c	12.50c	17.50abc
0.5	0	0.00c	12.50d	12.50c	8.33bc
0.7	0	0.00c	37.50c	12.50c	16.66abc
1.0	0	0.00c	12.50d	0.00d	4.16c
ค่าเฉลี่ย		0.00	25.62	9.37	11.66
F-test		**	**	**	*
C.V. (%)		5.07	9.97	16.61	71.80

*,** : แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$ และ 0.01)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติจากการตรวจสอบโดยวิธี DMRT

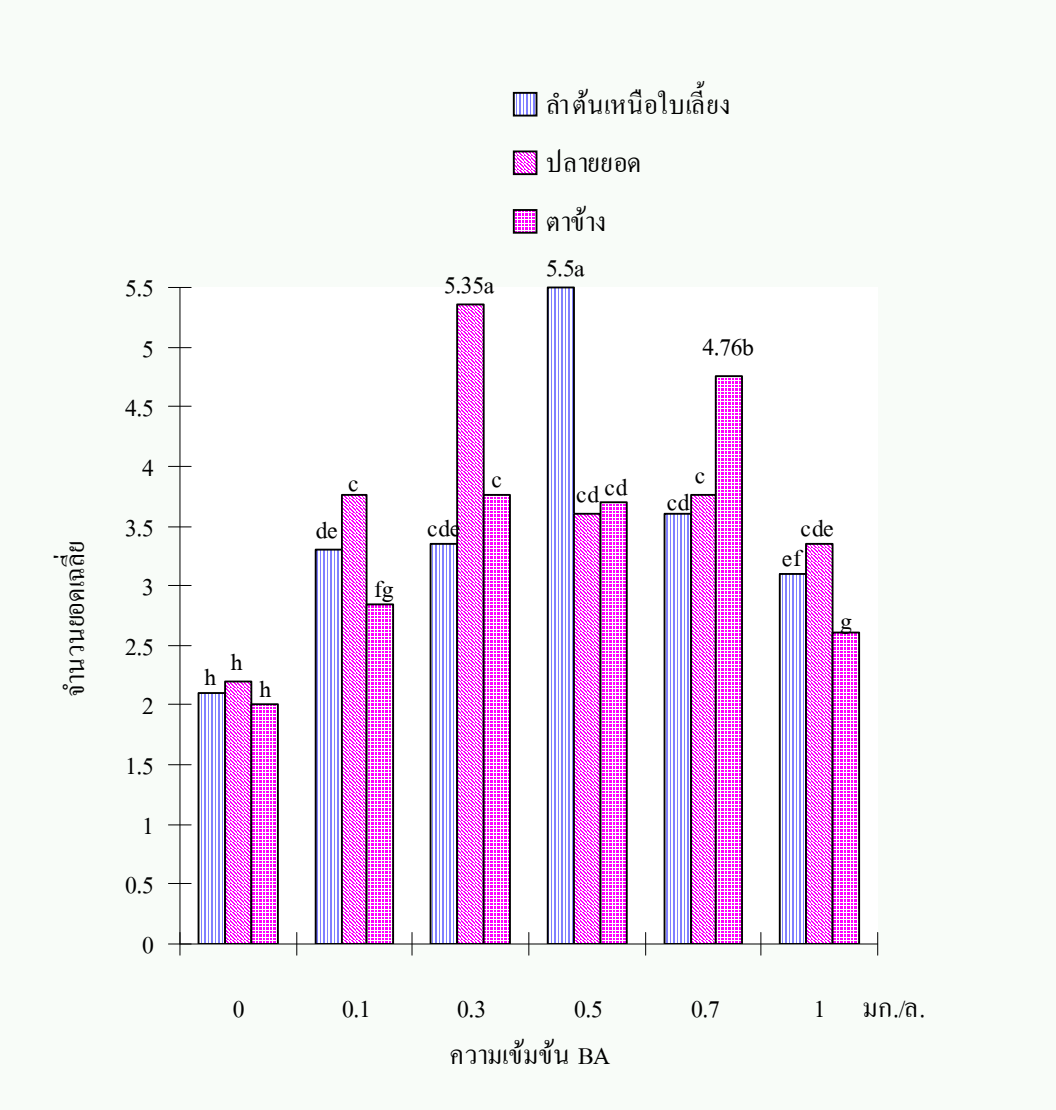


ภาพที่ 49 ยอดรวมจากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าส้มโชกุนที่เลี้ยงในอาหารเติม BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน แล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารเติม GA_3 เข้มข้น 0.1 มก/ล ต่ออีกเป็นเวลา 1 เดือน

ก : ยอดรวมจากลำต้นเหนือใบเลี้ยง

ข : ยอดรวมจากปลายยอด

ค : ยอดรวมจากตาข้าง



ภาพที่ 50 ผลของ GA_3 เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวมจากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าส้มโชกุน

ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติจากการตรวจสอบโดยวิธี DMRT

2.2 ผลของความเข้มข้นองค์ประกอบอาหาร NAA และ IBA ต่อการสร้างราก

อาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง เติม NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เปอร์เซ็นต์การสร้างราก และจำนวนรากสูงสุด 78.33% และ 2.86 ราก ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร MS ที่มีองค์ประกอบครบ และสูตรอาหารที่ปราศจากออกซิน (ตารางที่ 34) ในอาหาร MS ที่มีองค์ประกอบของธาตุอาหารครบชักนำรากได้ดีเมื่อใช้ NAA ในขณะที่สูตรอาหารที่ลดความเข้มข้นขององค์ประกอบลงครึ่งหนึ่งชักนำรากได้ดีเมื่อเติม IBA อย่างไรก็ตามการใช้ออกซินทั้งสองชนิดในระดับความเข้มข้นสูงขึ้นส่งผลให้การสร้างราก (เปอร์เซ็นต์ และจำนวน) ลดลง จำนวนรากที่พัฒนามีความสัมพันธ์ในทางกลับกับความยาวราก กล่าวคือหน่วยทดลองใดที่ให้จำนวนรากมากความยาวรากก็น้อยลงเป็นไปในทำนองเดียวกันทั้ง NAA และ IBA (ตารางที่ 34 ภาพที่ 51)

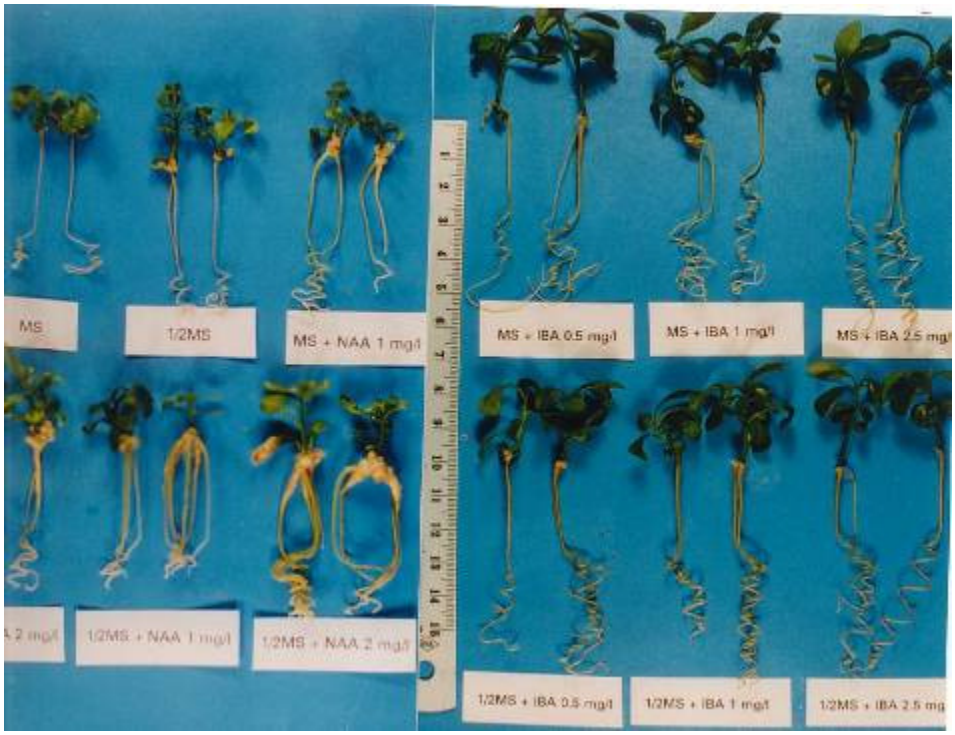
หลังจากย้ายส้มต้นใหม่ในอาหารชักนำรากสูตรต่างๆ ปลูกลงดินเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ส้มต้นใหม่จากอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่งเติม NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด 93.33% ไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตรอื่นๆ แต่แตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$) กับส้มต้นใหม่ที่ชักนำรากในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือ เติม IBA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง เติม NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 34) อัตราการรอดชีวิตหลังการย้ายลงดินปลูกมีความสัมพันธ์กับจำนวนและความยาวราก หากรากที่สร้างมีจำนวนหรือความยาวมาก อัตราการรอดชีวิตสูงด้วย (ภาพที่ 52)

ตารางที่ 34 ผลของ NAA และ IBA ต่อการสร้างรากจากยอดใหม่ส้มโชกุน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน และการรอดชีวิตหลังย้ายปลูก 1 เดือน

สูตรอาหาร	NAA	IBA	การสร้างราก	จำนวนรากเฉลี่ย	ความยาวรากเฉลี่ย	การรอดชีวิต
	—(มก/ล)—		(%)	(ราก)	(ซม)	(%)
MS	0	0	11.54f	1.00d	3.50d	70bc
MS	1	0	51.66cd	2.00abcd	3.21d	80abc
MS	2	0	48.33d	2.50ab	2.94d	80abc
MS	0	0.5	51.11cd	1.40bcd	7.80a	70bc
MS	0	1	71.42ab	1.30cd	7.57ab	80abc
MS	0	2.5	66.66ab	1.80abcd	5.30c	80abc
1/2MS	0	0	25.00e	1.16cd	3.76d	90ab
1/2MS	1	0	78.33a	2.86a	3.11d	93.33a
1/2MS	2	0	70.00ab	2.78a	2.21d	90ab
1/2MS	0	0.5	71.42ab	1.40bcd	8.30a	90ab
1/2MS	0	1	75.00ab	1.75abcd	6.10bc	80abc
1/2MS	0	2.5	75.61ab	1.50bcd	5.60c	90ab
1/2MS	1	0.5	43.75d	2.50ab	2.21d	68.33c
1/2MS	1	1	63.63bc	2.20abc	2.50d	68.33c
F-test			**	**	**	**
C.V. (%)			9.94	23.42	14.42	9.79

** : แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติจากการตรวจสอบโดยวิธี DMRT



ภาพที่ 51 รากจากยอดส้มโชกุนที่ชักนำในอาหารเติม NAA หรือ IBA ความเข้มข้นต่างกัน

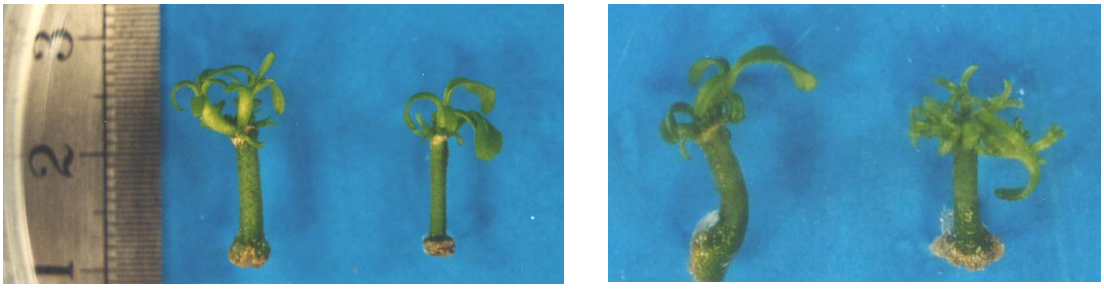
ภาพที่ 52 ส้มโชกุนต้นใหม่หลังย้ายปลูกลงดิน 1 เดือน

3. ส้มจุก *(Citrus reticulata* Blanco)

เนื่องจากพัฒนาการเป็นพืชต้นใหม่จากส้มโอ และส้มโชกุนที่ศึกษาข้างต้นเป็นไปได้ดี จากการใช้ชิ้นส่วนของลำต้นจากต้นกล้าที่เพาะเมล็ดในหลอดทดลอง ดังนั้นในส้มจุกจึงใช้วิธีการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นเช่นเดียวกันนำเมล็ดส้มจุกมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 30 วินาที และคลอร๊อกซ์ 20% เป็นเวลา 20 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งภายในตู้ย้ายเลี้ยง วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.70% ปรับ pH เป็น 5.7 วางเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 26±2 ° ซ เมื่อเมล็ดงอกเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ ตัดส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยงความยาว 1 เซนติเมตร มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารดังกล่าวเติมน้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.7% ปรับ pH เป็น 5.7 วางเลี้ยงภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26±2 ° ซ

ผลการศึกษา

อาหารทั้ง 2 สูตร (เติม และไม่เติม BA) ส่งเสริมการสร้างยอดรวมจากชิ้นส่วนตำต้นใต้ใบเลี้ยงได้ ยอดที่เกิดไม่ผ่านการสร้างแคลลัส ในอาหารที่ไม่เติม BA ให้การสร้างยอดรวมต่ำกว่าอาหารที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาถึงความยาวยอดพบว่า อาหารที่ปราศจาก BA ให้ยอดที่แข็งแรงกว่า (ภาพที่ 53) อย่างไรก็ตามเมื่อย้ายยอดที่พัฒนาจากอาหารเติม BA ไปยังอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตส่งเสริมให้ยอดจำนวนมาก ขนาดเล็กที่เกิดเป็นกระจุกยืดยาวแข็งแรง สมบูรณ์เช่นเดียวกับยอดที่เพาะเลี้ยงเริ่มแรกในอาหารที่ไม่เติม BA ดังนั้นหากต้องการขยายพันธุ์ส้มจุกจำนวนมาก ใช้วิธีการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นในอาหารเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำยอดจำนวนมาก แล้วจึงย้ายกลุ่มยอดไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม BA จากนั้นตัดแยกยอดแต่ละยอดไปเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำรากเช่นเดียวกับส้มโ และส้มโชกุนต่อไป



ก **ข**

ภาพที่ 53 พัฒนาการของยอดรวมโดยตรงจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงส้มจุกบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) และเติม BA 1 มก/ล (ข)

สรุป

จากการเพาะเลี้ยงผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองภาคใต้ เพื่อเก็บรวบรวมไว้ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และนำไปปลูกยังถิ่นเดิม (*in situ*) นั้นได้ทำการศึกษาในพืชกว่า 10 ชนิดพืช (8 ชนิด) ซึ่งเป็นพืชหลักของภาคใต้ มีการใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลายทั้งในชีวิตประจำวัน และพิธีกรรมทางศาสนา ผลความสำเร็จในบางพืชนั้นสามารถที่จะนำไปสู่การขยายผลเพื่อแจกจ่ายให้เกษตรกรปลูก เช่นพืชในสกุลมังคุด ส้มมะไฟ ส่วนบางพืชนั้นก็ประสบความสำเร็จในเบื้องต้นยังต้องค้นหาสูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต และสภาพการเพาะเลี้ยงเพื่อเข้าสู่การขยายพันธุ์ และอนุรักษ์พันธุ์เหล่านี้ไว้ไม่ให้สูญหายไปจากท้องถิ่น ดังสรุปในตารางที่ 35 ขณะนี้ทุกชนิดพืชที่รายงานมาได้เก็บรวบรวมไว้หมดในหลอดทดลองทั้งรูปของยอดรวม meristematic nodular callus แคลลัส และเซลล์ซัสเพนชั่น ซึ่งบางชนิดเจริญเติบโตช้ามากเหมาะแก่การเก็บรักษา บางชนิดก็เจริญเติบโตเร็ว ชนิดเหล่านี้ต้องเพาะเลี้ยงในสภาพที่ชะลอการเจริญต่อไป

ตารางที่ 35 สถานภาพผักพื้นบ้านไม้ผลพื้นเมืองที่นำมาศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สกุล	ชนิดพืช	สถานภาพการขยายพันธุ์
พืชสกุลหลักผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองเอกลักษณ์ของภาคใต้		
1. *Parkia*	สะตอ เหรียง	กำลังปรับใช้
2. *Garcinia*	มังคุด พะวา ส้มแขก มะดัน	ใช้ขยายพันธุ์ได้แล้ว
3. *Citrus*	ส้มโอ ส้มโชกุน ส้มจุก	ใช้ขยายพันธุ์ได้แล้ว
4. *Bacaurea*	มะไฟ จำปุลิง ลังแข	บางพืชเช่น มะไฟใช้ได้แล้ว
ผักพื้นบ้าน ไม้ผลพื้นเมืองที่หายากใกล้สูญพันธุ์		
5. *Cinnamomum*	อบเชย	ยังต้องศึกษาต่อ
อื่นๆ		
6. *Rhodomyrtus*	โทัะ	ยังต้องศึกษาต่อ*
7. *Eleiodoxa*	หลุมพี	กำลังปรับใช้*
8. *Moringa*	มะรุม	ยังต้องศึกษาต่อ

*ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสมีการสร้างสารชีวเคมีจำพวกรงควัตถุคาดว่าจะใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

สมปอง เตชะโต. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมังคุด (*Garcinia mangostana* L.) พะวา (*G. speciosa* Wall.) และส้มแขก (*G. aroviridis* Griff.). ว. สงขลานครินทร์ 19: 147-155.

Corrie, S. and Tandon, P. 1993. Propagation of *Cymbidium giganteum* Wall. through high frequency conversion of encapsulated protocorms under *in vivo* and *in vitro* conditions. Indian Journal of Experimental Biology 31: 61-64.

Dainty, A.I. Goulding, K.H., Robinson, P.K. and Simpkins, I. 1986. Stability of alginate-imobilised algal cells. Biotechnology and Bioengineering 28: 209-216.

Datta, S.K. and Potrykus, I. 1989. Artificial seeds in barley: Encapsulation of microspore-derived embryo. Theoretical and Applied Genetics 77: 820-824.

Duval, Y., Engelmann, F. and Durand-Gasselin, T. 1995. Somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *In* Biotechnology in Agriculture and Forestry: Somatic Embryogenesis and Synthetic Seed I (ed. Y.P.S. Bajaj) Vol. 30, pp.335-352. Berlin: Springer-Verlag.

Fujimara, T. and Kumamine, A. 1979. Synchronize of somatic embryogenesis in carrot cell suspension culture. Plant Physiology 64: 162-164.

Fujimara, T. and Kumamine, A. 1980. Mode of action of 2,4-D and zeatin on embryogenesis in carrot cell suspension culture. Z. Pflanzenphysiol. 99: 1-8.

Gray, D.J., Conger, B.V. and Songstad, D.D. 1987. Desiccated quiescent somatic embryos of orchard grass for use as synthetic seeds. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology 23: 29-33.

Janick, J., Kitto, S. and Kim, Y.H. 1989. Production of synthetic seed by desiccation and encapsulation. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology 25: 1167-1172.

Kackar, A., Bhat, S. R. Chandel, K. P. S. and Malik, S. K. 1993. Plant regeneration via somatic embryogenesis in ginger . Plant Cell, Tissue and Organ Culture 32: 289-292 .

Komamine, A., Kawahara, R., Matsumoto, M., Sunabori, T., Toya, T., Fujimura, A., Tsukahara, M., Smith, J., Itoh, M., Fukuda, H., Nomura, K. and Fujimura, T. 1992. Mechanisms of somatic embryogenesis in cell culture: Physiology, biochemistry and molecular biology. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology 28: 11-14.

Murali, S., Sreedhar, D. and Lokeswari, T. S. 1996. Regeneration through somatic embryogenesis from petal-derived calli of *Rosa hybrida* L. cv arizona (hybrid tea). Euphytica 91: 271-275.

Senarathna, T., McKersie. B.D. and Bowley. S.R. 1990. Artificial seeds of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Induction of desiccation tolerance in somatic embryos. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology 26: 85-90.

Takahata, Y., Brown, D.C.W., Keller, W.A. and Kaizuma, N. 1993. Dry artificial seeds and desiccation tolerance induction in microspore-derived embryos of broccoli. Plant Plant Cell, Tissue and Organ Culture 35: 121-129.

Tay, L.F., Khoh L.K., Loh, C.S. and Khor, E. 1993. Alginate–chitosan coacervation in production of artificial seeds. Biotechnology and Bioengineering 42: 449–454.

Taylor, P.W.J., Ko, H.L., Adkin, S.W., Rathus, C. and Birch, R.G. 1992. Establishment of embryogenic callus and high protoplast yielding suspension cultures of sugarcane (*Saccharum* spp. Hybrids). Plant Cell, Tissue and Organ Culture28: 69-78.

Te-chato, S., Hilae, A. and Yeedum, I. 2002. Improve callus induction and embryogenic callus formation from cultured young leaves of oil palm seedling. Thai Journal of Agricultural Science 35: 407-413.

Te-chato, S., Lim, M. and Suranilpong, P. 1995. Types of medium and cytokinins in relation with purple leaf and callus formation of mangosteen. Songklanakarin Journal of Science and Technology 17: 121-127.

Wang, L., Huang, B., He, M. and Hao, S. 1990. Somatic embryogenesis and its hormonal regulation in tissue cultures of *Freesia refracta*. Annals of Botany 65:271-276.

ภาคผนวกผลงานตีพิมพ์แผยแพร่/รางวัล

ผลของชิ้นส่วนและสูตรอาหารต่อการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงส้มแขกในหลอดทดลอง

Effects of Explant Types and Culture Media on Multiple Shoot Formation from Tissue Culture of Somkhag (*Garcinia atroviridis* Griff.)

สมปอง เตชะโต[1] สุรีรัตน์ เย็นช้อน[1] และ ลินดา สายยนต์[1]

Sompong Te-chato,[1] Sureerat Yenchon [1] and Linda Saiyon [1]

Abstract

Various explants of Somkhag were cultured in different culture media supplemented with various plant growth regulators (PGRs). The results showed that nodal explant gave the highest percentage and number of direct shoot formation at 100% and 3.8 shoots per cultured node, respectively on woody plant medium (WPM) supplemented with 0.5 mg/l benzyladenine (BA) and 1 mg/l thiourea (TU). The following result was obtained from distal cut end of stem (35% with 4.5 shoots/cultured stem) and leaf explant (56.17% with 2.64 shoots/cultured leaf). Multiple shoot formation was not obtained from root explant. Histological observation of stem and leaf produced shoots revealed that those shoots originated from monolayer of epidermis. The cells in this layer were chracterised as meristematic cells, rapidly divided to form shoot structure with vascular tissue. Shoots were successfully rooted (55.56% with 2.67 roots/shoot) by wounding the basal part, dipping in 1000 mg/l 3-indolebutyric acid (IBA) in the dark for 15 min and the inserting in Nitsch & Nitsch (NN) medium with 0.5 mg/l α-naphthaleneacetic acid (NAA).

Keywords: Somkhag, thiourea, multiple shoot, Histological

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ของส้มแขก ในอาหารสูตรต่างๆ เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกันเพื่อชักนำยอดรวม พบว่าชิ้นส่วนข้อให้ยอดรวมสูงสุด 100% จำนวนยอด 3.8 ยอดต่อชิ้นส่วนในอาหารสูตร WPM (woody plant medium) เติม BA (benzyladenine) เข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ TU (thiourea) เข้มข้น 1 มก./ล. รองลงมาเป็นชิ้นส่วนลำต้นด้านปลายรอยตัด และใบให้การสร้างยอดรวม 35 และ 56.17% จำนวนยอด 4.5 และ 2.64 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ส่วนรากไม่สามารถสร้างตายอดได้ เกิดเพียงแคลลัส และราก เมื่อตรวจสอบเนื้อเยื่อวิทยาของลำต้นและใบที่สร้างยอดรวมโดยตรงพบพัฒนาการของยอดจากเซลล์ผิว เซลล์ดังกล่าวมีลักษณะเป็นเซลล์เมอริสเต็ม แบ่งตัวอย่างรวดเร็วพัฒนาให้โครงสร้างยอดที่มีเนื้อเยื่อเจริญท่อลำเลียง การชักนำรากจากยอดส้มแขกได้ทำโดยการนำยอดมาทำให้เกิดรอยแผลขนาด 2 มม. จำนวน 2 แผลที่บริเวณโคน แล้วจุ่มแช่ในสารละลาย IBA (3-Indolebutyric acid) เข้มข้น 1000 มก./ล. ในสภาพมืดเป็นเวลา 15 นาที แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NN (Nitsch & Nitsch) เติม NAA (α-naphthaleneacetic acid) ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า NAA 0.5 มก./ล. ชักนำรากได้ดีสุด โดยสามารถชักนำรากได้ 55.56% รากที่ชักนำได้มีจำนวน 2.67 รากต่อยอด

คำสำคัญ: ส้มแขก thiourea ยอดรวม เนื้อเยื่อวิทยา

คำนำ

ส้มแขก *(Garcinia atroviridis* Griff.) เป็นไม้ผลป่าทางใต้ตอนล่างของประเทศไทย โดยเฉพาะในจังหวัดยะลา ปัตตานี นราธิวาส เป็นไม้ยืนต้นจัดอยู่ในวงศ์ Guttiferae (สมพร, 2538) ผลของไม้ส้มแขกมีรสเปรี้ยว ประชาชนในภาคใต้นิยมนำมาปรุงอาหารแทนผลของมะขาม หรือมะนาว รวมทั้งรู้จักนำมาใช้เป็น

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ. สงขลา 90112

[1]Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112

สมุนไพรพื้นบ้านด้วยการนำผลของส้มแขกมาต้มใช้ดื่มเป็นยาฟอกโลหิต ขับเสมหะ (ธนิตย์ และคณะ, 2543) ในอดีตส้มแขกไม่เป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลายยกเว้นภาคใต้ แต่ในปัจจุบันส้มแขกเป็นที่รู้จักมากขึ้น เนื่องจากมีการค้นพบว่า ส้มแขกมีกรดไฮดรอกซีซิตริก (hydroxycitric acid, HCA) สูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก สารดังกล่าวเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ ATP-citrate lyase ที่รุนแรงมากในวิถีชีวสังเคราะห์ของกรดไขมัน จึงมีผลในการยับยั้งการสร้างกรดไขมันขึ้นมาใหม่ในเซลล์ สำหรับรายงานการขยายพันธุ์ส้มแขกด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เป็นเมล็ด และปลายยอด (ราตรี และสมปอง, 2539) การพัฒนาการสร้างยอดรวมได้ดีในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เติม BA (benzyladenine) และ TU (thiouria) ความเข้มข้นเท่ากันอย่างละ 0.5 มก./ล. ชิ้นส่วนใบพัฒนาสร้างแคลลัสได้ดีในอาหารพื้นฐาน MS เติม NAA (naphthaleneacetic acid) 0.5 มก./ล. และ BA 1 มก./ล. และการทวีจำนวนยอดทำได้โดยการเพาะเลี้ยงปลายยอดและข้อในอาหารสูตร WPM (Woody Plant Medium) เติม BA และ TU ความเข้มข้นเท่ากันอย่างละ 0.1 มก./ล. การชักนำรากจากยอดส้มแขกโดยการสร้างแผล 2 มม. จำนวน 2 แผลที่บริเวณส่วนโคนแล้วจุ่มแช่ยอดในสารละลาย IBA (3-indolebutyric acid) (พจมาลย์ และสมปอง, 2541) รายงานฉบับนี้จะได้อธิบายถึงผลของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงต่อการสร้างยอดรวม และกำเนิดของยอดรวมจากชิ้นส่วนดังกล่าวเพื่อขยายพันธุ์จำนวนมาก อนุรักษ์พันธุกรรม และใช้เป็นเครื่องมือในการปลูกถ่ายยีนให้กับส้มแขกในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

นำชิ้นส่วนยอด และข้อของส้มแขกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM เติม BA เข้มข้น 0.5 มก./ล. TU เข้มข้น 0.5 มก./ล. เป็นเวลา 1 เดือน มาตัดแยกให้มีขนาด 1 ซม. นำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ โดยยอดเลี้ยงบนอาหารเหลวในฟลาค์ส ๆ ละ 3 ยอด/ ข้อ เลี้ยงบนอาหารแข็งในขวด 4 ออนซ์ ขวดละ 1 ชิ้น เมื่อได้จำนวนยอดมากพอแล้ว จึงนำไปศึกษาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM เติม BA ร่วมกับ TU และ IBA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน นำไปวางเลี้ยงภายใต้การให้แสงนาน 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 1300 ลักซ์ อุณหภูมิ 26±2 ºC เป็นเวลา 1 เดือน โดยแบ่งการทดลองเป็น 4 การทดลอง ดังนี้

1. **อิทธิพลของชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวม**

นำชิ้นส่วนยอดหรือข้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TU ที่ความเข้มข้น 0.25 0.5 0.75 และ 1 มก./ล. เป็นเวลา 1 เดือน ตรวจสอบอัตราการเกิดยอดรวม และจำนวนตายอด เปรียบเทียบกันในแต่ละชนิด และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต

2. **อิทธิพลของการเตรียมใบต่อการชักนำยอดโดยตรงจากใบส้มแขก**

เตรียมใบที่ใช้เพาะเลี้ยงด้วยวิธีการ 3 วิธีคือ 1) ใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว 1 เดือน 2) ใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง 1 เดือนแล้วย้ายลงอาหารเหลว 1 เดือน และ 3) ใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง 1 เดือนแล้วย้ายลงอาหารแข็งต่ออีกเป็นเวลา 1 เดือน เก็บรวบรวมใบทั้ง 3 วิธีการมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM เติม BA เข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ TU เข้มข้น 0.5 มก./ล. เป็นเวลา 1 เดือน ตรวจสอบอัตราการสร้างยอดรวม และจำนวนยอดต่อใบ

3. **ศึกษากำเนิดของยอดด้วยวิธีเนื้อเยื่อวิทยา**

รวบรวมตัวอย่างข้อที่สร้างยอดรวมโดยตรงมาตรึงในน้ำยา fixative เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ฝังในพาราฟิน ตัดด้วยเครื่องตัดไมโครโตมให้มีขนาด 8-10 ไมครอนเรียงบนสไลด์ ล้างพาราฟินออก ย้อมสีแซฟรานิน นำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อดูกำเนิดของเซลล์ที่พัฒนาให้ยอดรวม

4. **ผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อความสามารถในการชักนำราก**

นำยอดซึ่งจุ่มแช่ใน IBA เข้มข้น 1,000 มก./ล. เป็นเวลา 15 นาที มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร NN (Nitsch & Nitsch) เติม NAA เข้มข้น 0.25 0.5 0.75 และ 1 มก./ล. เพาะเลี้ยงยอดในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์

ก่อนย้ายไปเลี้ยงในสภาพแวดล้อมเดียวกับข้างต้นเป็นเวลาอีก 6 สัปดาห์ ตรวจผลการชักนำราก (อัตราการสร้างราก จำนวนราก/ยอด และความยาวราก)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด แต่ละทรีตเมนต์ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ตัวอย่าง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. อิทธิพลของชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวม

การเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารสูตร WPM เติม BA เข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ TU เข้มข้น 0.25 และ 1 มก./ล. สร้างยอดรวมสูงสุด 100% แต่ในอาหารสูตรที่เติม BA เข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ TU เข้มข้น 0.75 มก./ล. ให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 4 ยอด (Table 1 Figure 1A 1B) และพบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงส่วนข้อโดยตัดปลายด้านเหนือข้อให้มีความยาวมากส่งเสริมการสร้างยอดรวมขนาดเล็กจำนวนมาก (>10 ยอด/ชิ้นส่วน) โดยไม่ผ่านการสร้างแคลลัส (Figure 2A) สำหรับชิ้นส่วนรากนั้นให้การสร้างยอดรวมโดยตรง ไม่ผ่านการสร้างแคลลัสได้เช่นกันจำนวน 3-5 ยอด/ราก (Figure 2B)

2. อิทธิพลของการเตรียมใบต่อการชักนำยอดโดยตรงจากใบส้มแขก

จากการเพาะเลี้ยงยอดส้มแขกในอาหาร 3 วิธี พบว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งหรืออาหารเหลวเพียงอย่างเดียวไม่เกิดการสร้างยอด แต่ในการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวสลับกัน พบว่า มีการสร้างยอดโดยตรงจากใบ (Figure 3) มีอัตราการสร้างยอด 56.17% จำนวนยอดเฉลี่ย 2.64 ยอดต่อใบ (Table 2) ซึ่งเป็นรูปแบบอาหารที่เหมาะสมในการเตรียมใบเพื่อชักนำยอดโดยตรง อย่างไรก็ตามจำนวนยอดที่ได้ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงใบมังคุด (สมปอง, 2540) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพันธุ์ที่แตกต่างกัน และการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ในกรณีส้มแขกไม่ตอบสนองต่อการสร้างแอนโธไซยานินเมื่อใช้ TDZ ในขณะที่ใบมังคุดตอบสนองได้มากกว่า 50% และแอนโธไซยานินเป็นตัวส่งเสริมการสร้างยอดจำนวนมากโดยตรงจากใบ (>50 ยอด/ใบ) (สมปอง, 2540)

3. เนื้อเยื่อวิทยาของการเกิดยอด

เมื่อตรวจสอบกำเนิดของยอดจำนวนมากที่พัฒนาจากชิ้นส่วนของลำต้นด้านเหนือข้อ พบว่า ยอดดังกล่าวพัฒนามาจากเซลล์เดี่ยวๆ หรือกลุ่มเซลล์บริเวณเซลล์ผิวของลำต้น (Figure 2C) สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงใบมังคุด แต่ในมังคุดไม่มีรายงานการชักนำยอดรวมโดยตรงจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนราก และข้อที่มีปลายยาว (สมปอง, 2540)

4. ผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อความสามารถในการชักนำราก

อาหารสูตร NN เติม NAA ทุกความเข้มข้นชักนำรากได้ไม่แตกต่างกัน (55%) NAA เข้มข้น 0.25 มก./ล. ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 1.48 ซม. (Table 3) ต้นกล้าที่ชักนำรากได้แล้วเมื่อนำไปอนุบาลนอกหลอดทดลองโดยปลูกในกระถางที่มีผสม ขุยมะพร้าว เวอมิคูไรท์ และพีทมอส ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เป็นเวลา 12 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 38.89% (Figure 4) เนื่องจากใบส้มแขกมีลักษณะบาง มีนวลและไขน้อยเมื่อเทียบกับใบมังคุด ดังนั้นการคายน้ำในช่วงแรกสูงมาก ส่งผลให้อัตรารอดชีวิตต่ำ ดังนั้นก่อนอนุบาลลงดินปลูกอาจต้องเติมพาโคลบิวทราโซลลงไปเพื่อปรับโครงสร้างของใบช่วยให้อัตรารอดสูงขึ้น

สรุปผล

ชิ้นส่วนข้อ และข้อที่มีปลายด้านยาว และใบของส้มแขกให้การพัฒนาเป็นต้นโดยตรงได้ง่าย โดยเฉพาะข้อที่มีปลายด้านยาว และใบมีกำเนิดของยอดมาจากเซลล์ผิวเพียงเซลล์เดียวในอาหารสูตร WPM เติม BA เข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ TU เข้มข้น 1 มก./ล. ดังนั้นการใช้ชิ้นส่วนดังกล่าวเพื่อการขยายพันธุ์ อนุรักษ์พันธุกรรม และปลูกถ่ายยีนเพื่อสร้างส้มแขกพันธุ์ใหม่ในอนาคตที่สร้างสาร HCA จำนวนมากมีโอกาสเป็นไปได้สูงมาก

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และสถานวิจัยความเป็นเลิศทางเทคโนโลยีชีวภาพการเกษตรและทรัพยากร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ธนิตย์ หนูยิ้ม สุวิทย์ ไทยนุกูล อุบล รักษาศรี และอรดา เจธาหวัง. 2543. ไม้ส้มแขกไม้ป่าเศรษฐกิจชนิดใหม่ของภาคใต้. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการศูนย์วิจัยและการศึกษาทางธรรมชาติป่าพรุสิรินธร โครงการศูนย์ศึกษาพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (งานป่าไม้). หน้า 1-7.

พจมาลย์ สุรนิลพงศ์ และสมปอง เตชะโต. 2541. การชักนำรากจากยอดส้มแขกที่ชักนำในหลอดทดลอง. แก่นเกษตร 26: 74-84.

ราตรี สุจารีย์ และ สมปอง เตชะโต. 2539. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส้มแขก. แก่นเกษตร 24: 14-22.

สมพร จันทเดช. 2538. ส้มแขก. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี. หน้า 4-7.

สมปอง เตชะโต. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมังคุด *(Garcinia mangostana* L.) พะวา (*G. speciosa* Wall.) และส้มแขก (*G. atroviridis* Griff). ว. สงขลานครินทร์ วทท.19: 147-155.

Table1 Effect of plant growth regulators on proliferation of shoot from culturing nodal explant on WPM medium for one month.

PGR (mg/l)	Multiple shoot formation (%)	Avg. no. of shoot
BA(0.5)+TU(0.5)	100	3.13
BA(0.5)+TU(0.5)	93.33	3.88
BA(0.5)+TU(0.5)	86.67	4.00
BA(0.5)+TU(1)	100	3.8

Table 2 Effect of leaf preparation on direct shoot formation prior culturing on WPM+0.5BA + 0.5TU for one month.

Treatments	Avg. leaf forming shoot (%)	Avg. no. of shoots/leaf
SM	0^{b}	0^{b}
SM+LM+SM	56.17^{a}	2.64^{a}
LM	0^{b}	0^{b}
F-Test	**	**
C.V. (%)	11.78	36.31

** : Significant difference at p<0.01 Means sharing letters in common is not significant difference by DMRT.SM: Solidified medium, LM: Liquidified medium

Table 3 Effect of concentrations of NAA containing NN medium on root induction from excised single shoot after one month of culture.

PGR (mg/l)	Avg. shoot forming root (%)	Avg. root number	Avg. root length (cm)
NAA (0.25)	55.56	1.5	1.48
NAA (0.5)	55.56	2.67	0.97
NAA (0.75)	55.56	1.67	1.15
NAA (1.00)	55.55	1.33	1.25
F-Test	ns	ns	ns
C.V. (%)	36.56	54.04	56.62

ns: not significant difference

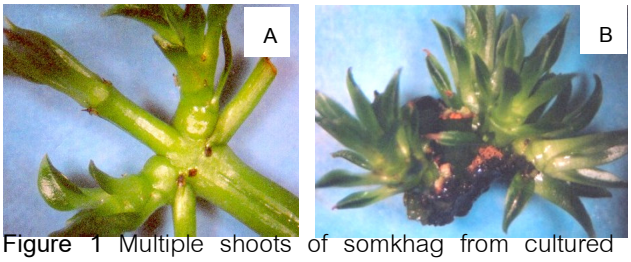


Figure 1 Multiple shoots of somkhag from cultured nodal explants (A) and shoot tip with one node (B) on WPM medium supplemented with 0.5 mg/l BA and 1 mg/l TU for one

Figure 2 Development of cultured nodal explants with long distal end (A), root (B) and histology of shoot on nodal explants with long distal end (C) on WPM medium supplemented with 0.5 mg/l BA and 1 mg/l TU for one month.

Figure 3 Direct shoot formation from culturing leaf on WPM+0.5BA + 0.5TU for one month. (The leaf was prepared by culturing shoot on solidified WPM for one month follow by liquidified WPM medium for further one month)

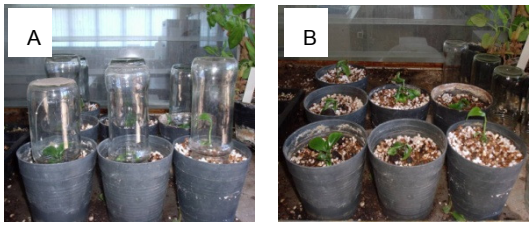


Figure 4 Acclimatization of complete plantlets to soil vermiculite mixture containing 4 inch pot.
A: control humidity for first week
B: survive under greenhouse conditions

การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ ๑๐

The 10th National Horticultural Congress 2011

ขอมอบใบประกาศเกียรติคุณรางวัลดีเยี่ยม

ในการนำเสนอผลงานภาคบรรยาย สาขา เครื่องเทศและสมุนไพร

เรื่อง ผลของชิ้นส่วนและสูตรอาหารต่อการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงส้มแขกในหลอดทดลอง

ให้แก่

สมปอง เตชะโต สุรีรัตน์ เย็นช้อน และ ลินดา สายยนต์

มอบให้ไว้ ณ วันที่ ๒๐ พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๕๔

(รองศาสตราจารย์ ดร. พูนพิภพ เกษมทรัพย์)

ประธานคณะกรรมการดำเนินการจัดการประชุมพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ ๑๐