การชักนำให้เกิดแคลลัส และการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อน โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

CALLUS INDUCTION AND SHOOT REGENERATION OF *Sandoricum koetjape* BY TISSUE CULTURE

จุฑามาศ วัชระวณิชชัย
ญาณิศา ร่มรื่น
ณิชนันทน์ กิตติคุโณดม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

การชักนำให้เกิดแคลลัส และการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อน โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

CALLUS INDUCTION AND SHOOT REGENERATION OF *Sandoricum koetjape* BY TISSUE CULTURE

จุฑามาศ วัชระวณิชชัย

ญาณิศา ร่มรื่น

ณิชนันทน์ กิตติคุโณดม

b.00266118

TB00255

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CALLUS INDUCTION AND SHOOT REGENERATION OF *Sandoricum koetjape* BY TISSUE CULTURE

JUTHAMART WATCHARAVANICHCHAI
YANISA ROMRUAN
NITCHANAN KITTIKHUNODOM

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การชักนำให้เกิดแคลลัส และการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อนโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Callus Induction and Shoot Regeneration of *Sandoricum koetjape* by Tissue Culture		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจุฑามาศ	วัชระวณิชชัย	รหัสนักศึกษา 55051068
	นางสาวญาณิศา	ร่มรื่น	รหัสนักศึกษา 55051079
	นางสาวณิชนันทน์	กิตติคุโณดม	รหัสนักศึกษา 55051092
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2558		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม (ประธานกรรมการ)	
ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี (กรรมการ)	
ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม (กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา)	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การชักนำให้เกิดแคลลัส และการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อนโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Callus Induction and Shoot Regeneration of Sandoricum koetjape by Tissue Culture
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจุฑามาศ วัชระวณิชชัย รหัสนักศึกษา 55051068 นางสาวญาณิศา ร่มรื่น รหัสนักศึกษา 55051079 นางสาวณิชนันทน์ กิตติคุโณดม รหัสนักศึกษา 55051092
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

การศึกษาการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ (ปุยฝ้าย ถมทอง และเขียวน้ำผึ้ง) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเมล็ด และนำชิ้นส่วนพืชวางบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าแนวโน้มเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส โดยจากชิ้นส่วนลำต้น ความเข้มข้น 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วนราก ความเข้มข้น 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด 45.45 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนใบ ความเข้มข้น 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด 9.09 เปอร์เซ็นต์ และในการศึกษาการชักนำชิ้นส่วนพืชจากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่จากชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และการใช้ BA ร่วมกับ meta-topolin เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า BA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่สูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์ และ BA ร่วมกับ meta-topolin ความเข้มข้น 1:0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่สูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ และมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 14.33 มิลลิเมตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำชิ้นส่วนใบให้เกิดแคลลัสมากที่สุด 21.43 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : กระท้อน การเกิดแคลลัส การเจริญเป็นยอดใหม่ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Callus Induction and Shoot Regeneration of Sandoricum koetjape by Tissue Culture		
Students	Miss Juthamart	Watcharavanichchai	Student ID. 55051068
	Miss Yanisa	Romruan	Student ID. 55051079
	Miss Nitchanan	Kittikhunodom	Student ID. 55051092
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2015		
Advisor	Asst. Prof. Dr. Anurug Poeaim		

Abstract

The study of callus induction from stem root and leaf explants of Sandoricum koetjape (Puifaii Thomthong and Kheawnampheung) by tissue culture. Explants were cultured on MS medium supplemented with different concentrations of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Our results showed that percentage maximum of callus (50.00%) derived from stem explants was observed on 5 mg/L 2,4-D, percentage maximum of callus (45.45%) derived from root explants was observed on 1 mg/L 2,4-D and percentage maximum of callus (9.09%) derived from leaf explants was observed on 0.5 mg/L 2,4-D. Additionally, the study of shoot regeneration from node and callus induction from leaf of Sandoricum koetjape (Puifaii) observed on the MS medium supplemented with 6-benzylaminopurine (BA) and BA with meta-topolin (meta). The results also showed that maximum growth rates of shoot regeneration 70% was observed on 7 mg/L (BA) and 50% shoot regeneration and the best average shoot length was 14.33 mm. was observed on 1 BA:0.5 meta mg/L. The maximum of callus induction from leaf explants (21.43%) was observed on the medium supplemented with 2 mg/L 2,4-D.

Keywords : Sandoricum koetjape callus induction shoot regeneration tissue culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ สามารถสำเร็จบรรลุจุดประสงค์ไปได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ซึ่งกรุณาสละเวลาให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ และช่วยปรับปรุงแก้ไขให้ถูกต้องสมบูรณ์ในทุกด้านตลอดการทำโครงงานพิเศษเล่มนี้ ผู้จัดทำจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ และ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่กรุณาสละเวลาตรวจสอบ และให้คำแนะนำต่างๆ แก่โครงงานพิเศษ จนสามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ และผู้ดูแลห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ต่างๆสำหรับทำโครงงาน อำนวยความสะดวก และให้คำแนะนำในระหว่างทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบคุณพี่ๆ และเพื่อนๆในภาควิชาชีววิทยา สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่คอยให้กำลังใจ สนับสนุน ให้คำปรึกษา และคำแนะนำต่างๆเป็นอย่างดี ตลอดจนทำให้โครงงานพิเศษสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณพี่ๆห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆเป็นอย่างดี

ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ และคุณแม่ ญาติพี่น้อง ผู้เป็นที่รัก ผู้ที่ให้กำลังใจและสนับสนุนให้โอกาสในการศึกษาอันมีค่ายิ่ง

จุฑามาศ วัชระวณิชชัย
ญาณิศา ร่มรื่น
ณิชนันทน์ กิตติคุโณดม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ ภาษาไทย	ก
บทคัดย่อ ภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 กระท้อน	3
2.1.1 อนุกรมวิธานของกระท้อน	3
2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	3
2.1.3 ประโยชน์ของกระท้อน	7
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	7
2.2.1 ส่วนต่างๆของเนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยง	7
2.2.2 การเลือกชิ้นส่วนของพืช	8
2.3 การเพาะเลี้ยงแคลลัส	8
2.4 กระบวนการเกิดออร์แกโนเจนเนซีส	8
2.5 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	9
2.5.1 สารอนินทรีย์	9
2.5.2 สารอินทรีย์	9
2.5.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช	10
2.5.4 สารอื่นๆ	11
2.5.5 วุ้น	11
2.6 การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช	12
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 16

3.1 ตัวอย่างพืชที่ใช้ศึกษา 16

3.2 ชิ้นส่วนแคลลัสที่นำมาใช้ในการศึกษา 16

3.3 สารเคมี 16

3.4 เครื่องแก้วอุปกรณ์ และเครื่องมือต่างๆ 17

3.5 ขั้นตอนในการดำเนินงานวิจัย 17

3.5.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบจากการเพาะเมล็ดกระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ ให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ 18

3.5.2 การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของชิ้นส่วนข้อ และใบจากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย 18

3.5.2.1 การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของชิ้นส่วนข้อ 18

3.5.2.2 การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของชิ้นส่วนใบ 19

3.5.3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนข้อ และใบของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายให้เกิดการเจริญ 20

3.5.3.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนข้อ ของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่ 20

3.5.3.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนใบ ของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมให้เกิดแคลลัส 21

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 22

4.1 ผลการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำชิ้นส่วนต่างๆ จากการเพาะเมล็ดกระท้อน 3 สายพันธุ์ ให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ 22

4.1.1 สายพันธุ์ปุยฝ้าย 22

4.1.2 สายพันธุ์ถมทอง 27

4.1.3 สายพันธุ์เขียวน้ำผึ้ง 29

4.2 ผลการศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของชิ้นส่วนข้อ และใบจากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2.1 การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อของชิ้นส่วนข้อ..... 35

4.2.2 การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อของชิ้นส่วนใบ..... 36

4.3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนข้อ และใบของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายให้เกิดการเจริญ..... 37

4.3.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนข้อ ของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 3 ให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่..... 37

4.3.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนใบ ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 2 ให้เกิดแคลลัส..... 45

บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 47

เอกสารอ้างอิง..... 49

ภาคผนวก..... 52

ภาคผนวก ก..... 53

ภาคผนวก ข..... 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และขนาดแคลลัสเฉลี่ยของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 23

4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และขนาดแคลลัสเฉลี่ยของกระท้อนสายพันธุ์ถมทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 27

4.3 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และขนาดแคลลัสเฉลี่ยของกระท้อนสายพันธุ์เขียวน้ำผึ้งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 30

4.4 สรุปผลรวมของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และขนาดแคลลัสเฉลี่ยของกระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ ปุยฝ้าย ถมทอง และเขียวน้ำผึ้ง ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 33

4.5 แสดงอัตราการปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นยอดใหม่ของการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย 3 สภาวะที่แตกต่างกัน..... 35

4.6 แสดงอัตราการปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย 2 สภาวะที่แตกต่างกัน..... 37

4.7 แสดงอัตราการเจริญของชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3, 5, และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสภาวะที่ 3 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 38

4.8 แสดงอัตราการเจริญของชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ที่มีความเข้มข้น 1:0.25, 1:0.5, 1:1, 1:2, 2:0.25, 2:0.5, 2:1, 2:2, 3:0.25, 3:0.5, 3:1 และ 3:2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสภาวะที่ 3 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 41

4.9 แสดงอัตราการเจริญของชิ้นส่วนใบ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสภาวะที่ 2 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงลักษณะของต้นกระท้อน	5
2.2	แสดงลักษณะใบของกระท้อน	5
2.3	แสดงลักษณะดอกของกระท้อน	6
2.4	แสดงลักษณะผลของกระท้อน	6
4.1	แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนลำต้น บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1 (ข) 2 (ค) 3 (ง) และ 5 (จ) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	24
4.2	แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนราก บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1 (ข) 2 (ค) 3 (ง) และ 5 (จ) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	25
4.3	แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนใบ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	26
4.4	กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	26
4.5	แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ถมทองจากชิ้นส่วนลำต้น บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 (ก) และ 5 (ข) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	28
4.6	แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ถมทองจากชิ้นส่วนใบ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	28
4.7	กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อนสายพันธุ์ถมทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	29
4.8	แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์เขียวน้ำผึ้งจากชิ้นส่วนลำต้น บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	30
4.9	แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์เขียวน้ำผึ้งจากชิ้นส่วนราก บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1 (ข) 2 (ค) 3 (ง) และ 5 (จ) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.10 กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อนสายพันธุ์เขียวน้ำผึ้งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 32

4.11 กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 34

4.12 กราฟแสดงการเปรียบเทียบขนาดแคลลัสเฉลี่ยจากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 34

4.13 กราฟแสดงการเปรียบเทียบอัตราการปนเปื้อนเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ และเปอร์เซ็นต์การเจริญของชิ้นส่วนข้อ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 1 2 และ 3 บนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 36

4.14 กราฟแสดงการเปรียบเทียบอัตราการปนเปื้อนเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ และเปอร์เซ็นต์การเจริญของชิ้นส่วนใบ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 1 และ 2 บนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 37

4.15 แสดงการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1 (ข) 2 (ค) 3 (ง) 5 (จ) และ 7 (ฉ) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 39

4.16 กราฟแสดงการเปรียบเทียบอัตราการเจริญของชิ้นส่วนข้อ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 3 แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 40

4.17 แสดงการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ความเข้มข้น 1:0.25 (ก) 1:0.5 (ข) 1:1 (ค) และ 1:2 (ง) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 42

4.18 แสดงการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ความเข้มข้น 2:0.25 (ก) 2:0.5 (ข) 2:1 (ค) และ 2:2 (ง) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.19 แสดงการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ความเข้มข้น 3:0.25 (ก) 3:0.5 (ข) 3:1 (ค) และ 3:2 (ง) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 44

4.20 กราฟแสดงการเปรียบเทียบอัตราการเจริญของชิ้นส่วน ข้อ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 3 แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ที่ความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 44

4.21 แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วน ใบ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1 (ข) 2 (ค) และ 3 (ง) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 46

4.22 กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนใบ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 2 แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

2,4-D	2,4-dichlorophenoxyacetic acid
BA	6-benzylaminopurine
Meta	meta-topolin
MS	Murashige and Skoog, 1962
PPM	plant preservative mixture
NAA	1-naphthylacetic acid
IBA	4-indol-3yl butyric acid
IAA	indol-3-yl acetic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

"กระท้อน" ผลไม้ที่รู้จักกันเป็นอย่างดี รสชาติดี นิยมบริโภคกันทั่วไป สามารถนำไปใช้เป็นประโยชน์อย่างอื่นได้อีกมากมาย (ฝ่ายข้อมูล วารสารเคหการเกษตร, 2531) โดยกระท้อนมีศักยภาพทางเศรษฐกิจ และมักถูกนำมาแปรรูปต่างๆ เช่น กระท้อนแช่อิ่ม กระท้อนสามรส กระท้อนหยี กระท้อนอบแห้ง เป็นต้น ซึ่งกระท้อนนั้นเป็นผลไม้ที่มีประโยชน์มาก โดยเฉพาะการรับประทานผลสด มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (ขนิษฐา, 2558)

กระท้อนเป็นไม้ผลเมืองร้อนจึงสามารถปลูกได้ดีแทบทุกแห่งในประเทศไทย และมีความต้องการของตลาดเป็นอย่างมาก เนื่องจากผลผลิตจำหน่ายได้ในราคาดี แต่เพื่อให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพดี ควรจะเลือกพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ มีแหล่งน้ำให้อย่างพอเพียง ดินที่เหมาะควรเป็นดินร่วนหรือดินร่วนปนดินเหนียว มีอินทรียวัตถุมาก อาจกล่าวได้ว่า กระท้อนที่ปลูกในดินร่วนหรือดินเหนียวจะทำให้คุณภาพของเนื้อและรสชาติดีกว่าที่ปลูกในดินร่วนทราย และให้ผลผลิตออกสู่ตลาดในช่วงเดือนพฤษภาคม มิถุนายน และกรกฎาคม โดยกระท้อนสามารถขยายพันธุ์ได้หลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ การเพาะเมล็ด การทาบกิ่ง การเสียบยอด และการติดตา เดิมนิยมขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด เนื่องจากทำได้ง่าย แต่มักจะกลายพันธุ์ ปัจจุบันไม่นิยมปลูกต้นที่เพาะจากเมล็ด แต่จะทำการเพาะเมล็ด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อการทำต้นตอในการทาบกิ่งหรือติดตาเท่านั้น ส่วนการตอนก็ไม่นิยมเช่นกัน เพราะปัญหาเรื่องการออกรากยาก และเมื่อตัดมาชำมักจะตายมากด้วย (ทวีศักดิ์, 2518) ต้นที่ปลูกจากกิ่งตอน กิ่งทาบ ติดตา เสียบยอด มีแต่รากฝอยจะเริ่มให้ผลผลิตได้เมื่ออายุ 3-4 ปี แต่ถ้าเป็นต้นที่ได้รับการเสริมราก 1-2 รากสามารถให้ผลได้ภายใน 2-3 ปี แล้วจะให้ผลผลิตได้ต่อเนื่องนานถึง 30 ปี เนื่องจากกระท้อนเป็นไม้ยืนต้นอายุนับ 100 ปี ถ้าต้นนั้นปลูกจากกิ่งที่มีแต่รากฝอยเมื่อต้นใหญ่มากขึ้นทรงพุ่มต้านลมมากๆ อาจทำให้ต้นล้มได้ แนวทางแก้ไข คือ เสริมราก 1-2 รากด้วยต้นที่มีรากแก้ว (เพาะเมล็ด) ซึ่งนอกจากจะช่วยยึดต้นได้ดีแล้วยังช่วยเพิ่มจำนวนรากในการหาอาหารอีกด้วย (เกษตร ลุงคิม, 2558) และจากการศึกษาข้อมูลจากแหล่งต่างๆ พบว่า มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาความเหมาะสมของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ผลเนื้อแข็งชนิดนี้มีอยู่น้อยมาก ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาความเหมาะสมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของไม้ผลเนื้อแข็ง ไม่ว่าจะเป็นการเลือกชิ้นส่วนของพืช สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต และสภาวะที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อและในการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาสูตรอาหาร และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำลำต้น ราก และใบที่ได้จากการเพาะเมล็ดให้เกิดเป็นแคลลัส

2) เพื่อศึกษาสูตรอาหาร และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อจากต้นให้เกิดเป็นยอดใหม่

3) เพื่อศึกษาสูตรอาหาร และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำใบจากต้นให้เกิดเป็นแคลลัส

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการศึกษาโดยเลือกชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบที่ได้จากการเพาะเมล็ดกระท้อน หรือ Sandoricum koetjape ทั้ง 3 สายพันธุ์ (ปุยฝ้าย ถมทอง และเขียวน้ำผึ้ง) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการชักนำในการเกิดเป็นแคลลัส และศึกษาโดยเลือกชิ้นส่วนข้อ และใบจากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย เพื่อศึกษาการชักนำให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่ และชักนำให้เกิดเป็นแคลลัส รวมทั้งการศึกษาความเหมาะสมของสูตรอาหารสังเคราะห์ MS (Murashige and skoog, 1962) ซึ่งมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อกระตุ้นการเจริญเป็นยอดใหม่ และการเกิดเป็นแคลลัสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถทำการชักนำชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบ ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2) สามารถทำการชักนำให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่ได้ในปริมาณสูง และระยะเวลารวดเร็ว

3) เพื่อทราบสูตรอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสของกระท้อน

4) เพื่อทราบสภาวะในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ และใบที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่ และการเกิดเป็นแคลลัสของกระท้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระท้อน (*Sandoricum koetjape*)

2.1.1 อนุกรมวิธานของกระท้อน ตามฐานข้อมูล ITIS

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Viridiplantae

Infrakingdom : Streptophyta

Superdivision : Embryophyta

Division : Tracheophyta

Subdivision : Spermatophytina

Class : Magnoliopsida

Superorder : Rosanae

Order : Sapindales

Family : Meliaceae

Genus : Sandoricum Cav.

Species : Sandoricum koetjape (Burm. f.) Merr.

ที่มา : http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=896505) และ ฐานข้อมูลพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กระท้อน มีถิ่นกำเนิดแถบมาลายู ฟิลิปปินส์ อินเดีย และไทย มีชื่อสามัญว่า Santol อยู่ในวงศ์ Meliaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Sandoricum koetijape Merr. สำหรับกระท้อนป่า และ Sandoricum indicum Merr. สำหรับกระท้อนห่อ ส่วนต่างๆ มีลักษณะดังนี้

ลำต้น เป็นไม้ผลขนาดกลาง สูง 10-30 เมตร ทรงพุ่มกลม ลำต้นแข็งแรง แต่เนื้อไม้มีลักษณะค่อนข้างเปราะ ดังรูปที่ 2.1 (ฝ่ายข้อมูล วารสารเคหการเกษตร, 2531)

ใบ จัดเป็นใบรวมชนิด 3 ใบ รูปร่างของใบมีลักษณะกลมรีหรือป้อมๆ ใบจะยาว 4-10 นิ้ว แล้วแต่ชนิดของพันธุ์ ใบมีสีเขียวเข้ม เมื่อแก่จัดจะเป็นสีแดงส้ม และร่วงไปในที่สุด เส้นใบลึก ท้องใบเป็นขน ดังรูปที่ 2.2 (ฝ่ายข้อมูล วารสารเคหการเกษตร, 2531)

ดอก จะออกประมาณเดือนกุมภาพันธ์ ลักษณะเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ความยาวของช่อดอกจะประมาณ 4-8 นิ้ว ดอกจะมีสีเหลืองอ่อน และเป็นดอกชนิดสมบูรณ์เพศ ดังรูปที่ 2.3 (ฝ่ายข้อมูล วารสารเคหการเกษตร, 2531

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผล มีลักษณะกลม แบนเล็กน้อย บางครั้งพบว่ามีจุดประบ้างเล็กน้อย ผลอ่อนมีสีเขียว แก่ และเมื่อเจริญเต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองออกน้ำตาล ผิวที่ผลจะเกลี้ยงหรือหยาบมีขน และมีรอยย่นเป็นเส้นๆที่ขั้วผลเห็นได้ชัด เปลือกผลจะหนาประมาณ 0.5-1.5 เซนติเมตร เนื้อใน(ปุย)สีขาว ในผลหนึ่งๆจะมีประมาณ 5 เมล็ด รสชาติจะเปรี้ยวหรือหวานอย่างไร ขึ้นกับชนิดของพันธุ์กระท้อนนั้นๆ กระท้อนมีทั้งพันธุ์เบา และพันธุ์หนัก ฉะนั้นผลจะแก่ประมาณกลางเดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคม ดังรูปที่ 2.4 (ฝ่ายข้อมูล วารสารเคหการเกษตร, 2531)

พันธุ์กระท้อนต่างๆที่ปลูกกันมาตั้งแต่โบราณจนถึงปัจจุบัน เช่น

พันธุ์ทับทิม เป็นพันธุ์ที่ตอนแล้วออกรากง่าย ตัดมาชำก็ไม่ใคร่ตายเหมือนกระท้อนห่อพันธุ์อื่นๆ เป็นพันธุ์ที่ปลูกง่าย โตเร็ว ออกผลง่าย และดก จึงเป็นที่นิยมของชาวสวนทั่วไป และได้ขยายพันธุ์นำไปปลูกกันมากมาย เลยกลายเป็นกระท้อนพันธุ์ของเมืองนนทบุรีไปเลย ลักษณะของกระท้อนพันธุ์ทับทิม มีขั้วผลยาว ห่อผลง่าย ให้ผลดกกว่าพันธุ์อื่นๆ ปุยหนา รสหวานจัด ผลใหญ่พอประมาณ เป็นกระท้อนพันธุ์เบา ออกผลเร็วกว่าพันธุ์อื่นๆ (ฝ่ายข้อมูล วารสารเคหการเกษตร, 2531)

พันธุ์นิ่มนวลหรือเมล็ดในทับทิม ได้จากการนำเมล็ดกระท้อนพันธุ์ทับทิมมาเพาะ พบว่ามีลักษณะแตกต่างไปจากพันธุ์ทับทิม ให้ผลดกพอประมาณ ผลกลม มีรสหวานจัด ปุยหนา เนื้อนิ่มกว่าพันธุ์ทับทิม จึงได้ตั้งชื่อใหม่ว่า พันธุ์นิ่มนวล (ฝ่ายข้อมูล วารสารเคหการเกษตร, 2531)

พันธุ์อีล่า ลักษณะประจำพันธุ์ มีใบใหญ่ที่สุดในบรรดากระท้อนด้วยกัน ขั้วใหญ่ ให้ผลดกมาก ติดผลง่าย ร่วงยาก ผลมีขนาดใหญ่ที่สุด ผลแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มออกน้ำตาลจึงจะเก็บขายได้ ปุยหนาพอประมาณ มีรสหวานจัด มีกลิ่นหอมน้อยๆ ลูกหนึ่งมี 5 เมล็ด และมีขนาดเล็กมาก ออกดอกพร้อมพันธุ์อื่นๆ แต่จะแก่ช้ากว่าคือ จะออกดอกกลางเดือนกุมภาพันธ์ และประมาณต้นเดือนสิงหาคม-กันยายาน จึงจะเก็บผลได้ เช่น ต้นอายุ 4 ปี จะให้ผลประมาณ 150-200 ผล และจะให้ผลในปีต่อๆไป เป็นกระท้อนพันธุ์ที่มีราคาแพง ประมาณลูกละ 10-25 บาท เป็นที่นิยมของตลาด (ฝ่ายข้อมูล วารสารเคหการเกษตร, 2531)

พันธุ์ปุยฝ้าย เป็นกระท้อนพันธุ์ดี เก็บผลได้ก่อนกระท้อนพันธุ์อีล่าเล็กน้อย ลักษณะผลกลมใหญ่ มีจุกแหลม ด้านก้นผลเรียบ ขั้วสั้น ที่ผิวมีขนอ่อนนุ่มมือ ผิวเปลือกมีสีเหลืองอมน้ำตาลเปลือกบาง รสหวานจัด เนื้อในเป็นปุยสีขาวสวยคล้ายปุยฝ้าย ข้อเสียคือ ให้ผลผลิตน้อย ไม่ดก กระท้อนพันธุ์ปุยฝ้ายนี้เข้าใจว่าเป็นลูกกระท้อนของพันธุ์ทองหยิบ เพราะมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก (ฝ่ายข้อมูล วารสารเคหการเกษตร, 2531)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะของต้นกระท้อน
ที่มา : คณะผู้จัดทำ

รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะใบของกระท้อน
ที่มา : คณะผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะของดอกกระท้อน
ที่มา : http://202.129.59.73/free/cal09/c10y52w06.jpg

รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะของผลกระท้อน
ที่มา : คณะผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ประโยชน์ของกระท้อน

ผลกระท้อนสุกนำมารับประทานเป็นผลไม้ รับประทานได้ทั้งเปลือกผลที่ให้รสเปรี้ยวอมหวานใช้จิ้มน้ำปลาหวานยิ่งทำให้เพิ่มความอร่อยขึ้น ส่วนเนื้อผลก็เป็นที่นิยมรับประทานมาก เพราะเนื้อนุ่ม ฉ่ำไปด้วยน้ำ ให้รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย ผลห่าหรือผลสุกนำมาประกอบอาหาร ได้แก่ แกงฮังเล หรือ ตำกระท้อน ส่วนทำของหวาน ได้แก่ กระท้อนลอยแก้ว แยมกระท้อน และกระท้อนทรงเครื่อง เป็นต้น ผลกระท้อน นิยมนำมาทำกระท้อนดอง และกระท้อนแช่อิ่ม เป็นต้น ส่วนเมล็ดกระท้อนนำมาต้มน้ำ ใช้สำหรับฉีดพ่นป้องกันแมลงศัตรูพืชในแปลงผัก เปลือกลำต้น ถากนำมาต้มย้อมผ้า ให้เฉดสีน้ำตาลอมเหลือง ต้นกระท้อนตามป่าหรือปลูกตามบ้านยังมีประโยชน์ต่อสัตว์ป่า เช่น เป็นอาหารของนกหรือค้างคาว เป็นต้น (เว็บเพื่อพืชเกษตรไทย, 2558)

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถเพาะเลี้ยงได้จากทุกๆส่วนของเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ การเพาะเลี้ยงจะประสบความสำเร็จหรือไม่นั้น อาจจะต้องทดลองนำส่วนต่างๆของพืชเหล่านั้นมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งในส่วนของเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เพราะเซลล์แต่ละชนิดมีความสามารถในการเจริญเติบโตไม่เท่ากัน โดยส่วนมากนิยมใช้ส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ เนื่องจากมีความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (อนุรักษ์, 2550) และการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์พืช การปรับปรุงพันธุ์พืชร่วมกับเทคโนโลยีทางพันธุศาสตร์โมเลกุล เพื่อการตัดต่อยีนให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะที่ต้องการ ซึ่งในปัจจุบันมีผลผลิตพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นจำนวนมาก (สมพร, 2552)

2.2.1 ส่วนต่างๆของเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง (อนุรักษ์, 2550) ได้แก่

2.2.1.1 เนื้อเยื่อบริเวณปลายยอด (shoot apex) เป็นบริเวณที่เซลล์มีการแบ่งตัวมากที่สุด บริเวณนี้วัดจากสุดปลายยอดลงมาประมาณไม่เกิน 5 มิลลิเมตร

2.2.1.2 เนื้อเยื่อบริเวณปลายราก (root apex) เป็นส่วนที่อยู่บริเวณถัดจากส่วนของหมวกราก (root cap) ซึ่งจะประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญคล้ายกับบริเวณส่วนของปลายยอด

2.2.1.3 เนื้อเยื่อเจริญในท่อลำเลียง (vascular cambium) เป็นเนื้อเยื่อเจริญที่พบในบริเวณส่วนของราก และลำต้นโดยจะอยู่บริเวณระหว่างกลุ่มของท่อน้ำ (xylem) และท่ออาหาร (phloem)

2.2.1.4 เนื้อเยื่อเจริญที่อยู่ระหว่างปล้อง (intercalary meristem) สามารถพบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว โดยมีหน้าที่ในการเพิ่มความยาวของปล้อง

2.2.1.5 เนื้อเยื่อพืชส่วนอื่นๆที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ส่วนของเปลือกชั้นใน (inner bark) เป็นส่วนประกอบของเนื้อเยื่อท่ออาหาร และ cortex ส่วนไส้ (pith) เป็นส่วนที่อยู่บริเวณกลางสุดของลำต้นซึ่งประกอบด้วยกลุ่มเซลล์พาเรงไคมา ใบ (leaf) มีเซลล์ของแผ่นใบที่เรียกว่า palisade parenchyma และ spongy parenchyma อยู่เป็นจำนวนมาก เหมาะสำหรับใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแยกโพรโทพลาสต์ และเมล็ด (seed) ในบริเวณส่วนของเมล็ดจะประกอบด้วย 3 ส่วนที่สำคัญ คือ เอ็มบริโอ เอ็นโดสเปิร์ม และใบเลี้ยง ในการเพาะเลี้ยงส่วนของเอ็มบริโอภายในเมล็ดจะมีเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จค่อนข้างสูง

2.2.2 การเลือกชิ้นส่วนของพืช

ขนาดและอายุของชิ้นส่วนก็มีผลต่อการเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนขนาดใหญ่มักจะให้ผลดีกว่าเนื้อเยื่อที่อยู่ในระยะการเจริญอย่างรวดเร็ว และมีอายุน้อยจะตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงดีกว่าเนื้อเยื่ออายุมาก อย่างไรก็ตามต้องพิจารณาถึงวัตถุประสงค์ของการเพาะเลี้ยงด้วย เช่น ถ้าหากเป็นการขยายพันธุ์เพื่อผลิตพันธุ์ปลอดเชื้อโรค การใช้ชิ้นส่วนขนาดเล็ก เช่น meristem จะให้ผลดีกว่าใช้ตายอด (shoot tip) (อารีย์, 2541)

2.3 การเพาะเลี้ยงแคลลัส (callus culture)

แคลลัส (callus) หมายถึง กลุ่มเซลล์พาเรงไคมา (parenchyma) ที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม โดยที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอวัยวะหรือเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ แคลลัสมีขนาดต่างๆกันหลายรูปแบบ มีรูปร่างไม่แน่นอน ภายในเซลล์มีส่วนประกอบของแวคิวโอลสูง แคลลัสสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ แคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะกันแน่น มีความแข็ง เรียกว่า compact callus และแคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะกันอย่างหลวมๆ ฉ่ำน้ำ คล้ายกับฟองน้ำ เรียกว่า friable callus ในบางครั้งอาจพบแคลลัสทั้งสองแบบอยู่ในก้อนหรือชิ้นเนื้อเยื่อเดียวกัน เนื้อเยื่อทุกส่วนที่ยังมีชีวิต สามารถที่จะชักนำให้พัฒนาเกิดเป็นแคลลัสได้ ยกตัวอย่างเช่น ส่วนของเอ็มบริโอ ยอด ใบเลี้ยง ลำต้น ราก ใบอ่อน ดอกอ่อน เมล็ด เรณู อับเรณู แคมเบียม คอร์เท็กซ์ และท่อลำเลียงอาหาร เป็นต้น (อนุรักษ์, 2550)

Street (1969 อ้างโดย Dodds and Roberts, 1995) แนะนำว่าควรใช้ชิ้นของแคลลัสขนาดประมาณ 3-10 มิลลิเมตร หรือหนัก 20-100 มิลลิกรัม และควรเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 4-6 สัปดาห์ ขึ้นกับชนิดของเนื้อเยื่อ ถ้าเลี้ยงในอาหารเหลวอาจเปลี่ยนบ่อยกว่านี้ เช่น ทุก 1-2 สัปดาห์ แต่ก็ขึ้นอยู่กับอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสด้วย

2.4 กระบวนการเกิดออร์แกโนเจนเนซีส (organogenesis)

คือการพัฒนาไปเป็นยอด ราก หรืออวัยวะอื่นๆ โดยการรวมตัวกันของกลุ่มเซลล์พาเรงไคมาที่อยู่ใกล้เคียงกันเป็นเนื้อเยื่อเจริญ ซึ่งจะประกอบด้วย เซลล์ที่มีขนาดเล็ก ช่องว่างภายในเซลล์เล็ก และมีไซโตพลาสซึมที่มีความหนาแน่นมาก กลุ่มเซลล์จะมีการแบ่งเซลล์อยู่ตลอดเวลา กลุ่มเซลล์เหล่านี้อาจเรียกว่า meristemoid ซึ่งสามารถเจริญต่อไปกลายเป็นจุดกำเนิดของยอดหรือราก (shoot หรือ root primodia) และการเกิดเป็นยอด ราก หรืออวัยวะอื่นๆจะเป็นอิสระต่อกัน ไม่มีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน ขึ้นอยู่กับว่าเนื้อเยื่อเจริญนั้นได้รับสารกระตุ้นให้เจริญไปเป็นเนื้อเยื่อใด (อนุรักษ์, 2550)

Stoutemyer and Britt (1963 อ้างโดย Street 1979) พบว่าเนื้อเยื่อที่ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชที่มีอายุน้อยจะยังคงสภาวะนั้นต่อไป แม้ว่าจะเปลี่ยนอาหารไปนานๆ และมีความสามารถจะให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กำเนิดราก (rhizogenesis) ได้ดีกว่าเนื้อเยื่อที่ได้จากชิ้นส่วนอายุมาก ดังนั้นจึงอาจพบว่าการใช้ชิ้นส่วนพืชที่อ่อนให้ผลดีกว่าชิ้นส่วนแก่

2.5 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อาหารที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายสูตรด้วยกัน สูตรอาหารต่างๆแต่ละสูตรจะมีชื่อเรียกต่างๆกันตามชื่อผู้คิดค้น โดยสูตรอาหารต่างๆเมื่อนำมาวิเคราะห์แล้วจะพบว่ามีองค์ประกอบต่างๆ ดังต่อไปนี้

2.5.1. สารอนินทรีย์ (inorganic salts) ได้แก่ แร่ธาตุอาหารต่างๆที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ แร่ธาตุอาหารหลัก (macronutrients หรือ major elements) ได้แก่ คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) ออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และซัลเฟอร์ (S) ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้พืชต้องการนำไปใช้ในปริมาณมาก และขาดไม่ได้ โดยทั่วไปพืชต้องการนำไปใช้ในปริมาณ 25-60 มิลลิโมล หรืออาจจะมากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และแร่ธาตุอาหารรอง (micronutrients หรือ trace elements) ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้พืชต้องการนำไปใช้ในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ เช่น เหล็ก (Fe) ใช้ประมาณ 1 ไมโครโมล แมงกานีส (Mn) ใช้ประมาณ 20-90 ไมโครโมล โคบอลล์ (Co) ใช้ประมาณ 0.1 ไมโครโมล สังกะสี (Zn) ใช้ประมาณ 5-30 ไมโครโมล ทองแดง (Cu) ใช้ประมาณ 0.1 ไมโครโมล โมลิบดีนัม (Mo) ใช้ประมาณ 1 ไมโครโมล และโบรอน (B) ใช้ประมาณ 25-100 ไมโครโมล โดยทั่วไปพืชต้องการแร่ธาตุอาหารรองไปใช้ในปริมาณน้อยกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (อนุรักษ์, 2550)

2.5.2. สารอินทรีย์ (organic substances หรือ organic salts) ได้แก่ สารที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และออกซิเจน (O)

2.5.2.1 คาร์โบไฮเดรต ใช้เป็นแหล่งของคาร์บอน ที่มีส่วนสำคัญในการให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ น้ำตาลที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีทั้งชนิดที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลโมเลกุลคู่ โดยปกติจะใช้น้ำตาลปริมาณ 20-40 กรัม หรือ 2-4 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเตรียมอาหาร 1 ลิตร หรือพบในบางรายงานอาจใช้ปริมาณมากกว่านี้ ตัวอย่างน้ำตาลที่ใช้ ได้แก่ กลูโคส (glucose) สูตรทางเคมี $C_6H_{12}O_6$ น้ำหนักโมเลกุล 180.16, ฟรักโทส (fructose) สูตรทางเคมี $C_6H_{12}O_6$ น้ำหนักโมเลกุล 180.16, กาแลกโทส (galactose) สูตรทางเคมี $C_6H_{12}O_6$ น้ำหนักโมเลกุล 180.16, ซูโครส (sucrose) สูตรทางเคมี $C_{12}H_{22}O_{11}$ น้ำหนักโมเลกุล 342.30 และ มอลโทส (maltose) สูตรทางเคมี $C_{12}H_{22}O_{11}$ น้ำหนักโมเลกุล 342.30 เป็นต้น (อนุรักษ์, 2550)

2.5.2.2 วิตามิน เป็นส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่สำคัญมาก มีผลทำให้พืชมีการพัฒนา และเจริญเติบโต มีหลายชนิด เช่น ไทอามีน (thiamine) หรือวิตามิน B_1 สูตรทางเคมีประกอบด้วย $C_{12}H_{17}N_4OS$ มีน้ำหนักโมเลกุล 265.35 ใช้ความเข้มข้นประมาณ 0.1-10 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อลิตร อินโนสิทอล (inositol) สูตรทางเคมีประกอบด้วย $C_6H_{12}O_6$ น้ำหนักโมเลกุล 180.15 ปกติจะใช้ในรูปของไมโอ-อินโนสิทอล (myo-inositol) ใช้ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 50-50000 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนอะซิน (niacin) หรือกรดนิโคทินิก (nicotinic acid) หรือเรียกว่าวิตามิน B_3 สูตรทางเคมีประกอบด้วย $C_6H_5NO_2$ น้ำหนักโมเลกุล 123.11 ใช้ความเข้มข้นประมาณ 0.1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไบโอติน (biotin) หรืออวิตามิน H หรือวิตามิน B_7 สูตรทางเคมีประกอบด้วย $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ น้ำหนักโมเลกุล 244.31 ใช้ความเข้มข้นประมาณ 0.01-1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอบิก (ascorbic acid) หรือวิตามิน C สูตรทางเคมีประกอบด้วย $C_6H_8O_6$ น้ำหนักโมเลกุล 176.13 เป็นต้น (อนุรักษ์, 2550)

2.5.2.3 กรดอะมิโน (amino acid) กรดอะมิโนมีความสำคัญในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชเป็นอย่างมาก กรดอะมิโนมีประมาณ 20 ชนิด และมีการใช้ในปริมาณที่แตกต่างกัน เช่น ไกลซีน (glycine) ใช้ประมาณ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร อะลานีน (alanine) อาร์จินีน (arginine) ใช้ประมาณ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ใช้ประมาณ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นต้น (อนุรักษ์, 2550)

2.5.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator) ได้แก่ ฮอร์โมนพืชต่างๆ มีทั้งที่พืชสังเคราะห์ขึ้นได้เอง และมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น ซึ่งฮอร์โมนเหล่านี้ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช เร่งการแบ่งเซลล์ และการขยายตัวของเซลล์ ฮอร์โมนพืชเหล่านี้สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มต่างๆ ดังนี้

2.5.3.1. ออกซิน (auxins) ช่วยชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ และการรวมเป็นกลุ่มของแคลลัส ออกซินปกติที่เกิดขึ้นในธรรมชาติจะพบในรูปของกรดอินโดลอะซิติก (indol-3-yl acetic acid : IAA) ส่วน IAA ที่ผลิตจากทริปโตเฟนหรืออินโดล โดยส่วนมากพบได้ในใบอ่อนที่กำลังงอก และในเมล็ดที่กำลังพัฒนาในขณะที่มีการงอก สาร IAA จะมีการเคลื่อนย้ายจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่งได้ มีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต ควบคุมการขยายขนาดเซลล์ การยืดตัวของเซลล์ และมีผลในการกระตุ้นการเกิดราก ส่วนออกซินที่มีการสังเคราะห์ขึ้น เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตร แต่ที่นิยมใช้กันทั่วไปมีอยู่เพียงไม่กี่ชนิด เช่น 1-naphthylacetic acid (NAA) 4-(indol-3-yl butyric acid (IBA) และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) เป็นต้น (อนุรักษ์, 2550)

ผลของออกซินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ ส่งเสริมการขยายตัวของเซลล์โดยเร่งการขยายตัวของเซลล์ที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ แต่ไม่มีผลต่อการขยายตัวของเซลล์ที่ไม่มีเซลลูโลส และการเจริญของลำต้น ส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์ เร่งการแบ่งตัวของเซลล์ในแคมเบียม โดยกระตุ้นการสร้างโปรตีน และกรดนิวคลีอิก กระตุ้นการเกิดรากบริเวณลำต้นที่ถูกตัด และพัฒนาการเกิดรากแขนงให้สมบูรณ์ก่อนนำออกปลูก การเกิดรากมีความสัมพันธ์กับระดับของออกซินในต้นพืชกับสภาพแวดล้อม และส่งเสริมให้มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่ใช้ลำเลียงน้ำและอาหาร

2.5.3.2. ไซโตไคนิน (cytokinins) เป็นอนุพันธ์ของอะดีนีน ซึ่งพบได้หลายชนิดในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ไซโตไคนินเดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของอะดีนิน โดยจะเกิดในบริเวณปลายราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเอ็มบริโอที่กำลังเจริญ มีผลต่อการแสดงออกของพืช คือ สามารถชักนำให้เซลล์มีการแบ่งตัวในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และสามารถชักนำให้เซลล์มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วในพืชที่เกิดเป็นปุ่มปม นอกจากนี้ยังกระตุ้นการเจริญทางด้านข้างของพืช กระตุ้นการเจริญของตาข้าง ชะลอการแก่ของพืช นอกจากนั้นยังมีผลเล็กน้อยต่อการพัฒนาของผลโดยสารในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่ ไคนีทีน (kinetin) 6-benzylaminopurine เรียกย่อๆว่า BA หรือ BAP ซีเอทิน (zeatin) และ meta-topolin (meta) (อนุรักษ์, 2550)

ผลของไซโตไคนินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ ส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์ กระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อพืชเกิดยอดหลายๆยอดได้ (multiple shoots)

Westhuizen (2557) meta-topolin (meta) เป็นไซโตไคนินที่ค่อนข้างใหม่ ซึ่งได้จากใบป๊อปลาร์ในปี 1975 มีความเกี่ยวข้องกับ 6-benzylaminopurine (BA) ซึ่งงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ meta-topolin ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้รับการดำเนินการในพืชหลายชนิด รวมทั้งพืชวงศ์ติ้ว ต้นส้ม ว่านหางจระเข้ กล้วยป่า สับปะรด (Ananas comosus) และพืชสกุลอังกาบ (Barleria)

Werbrouck. et al. (1996) การเผาผลาญของ meta-topolin จะคล้ายกับไซโตไคนินชนิดอื่นๆ เช่นเดียวกับ zeatin และ BAP ซึ่ง meta-topolin อาจได้รับ ribosylation ที่ตำแหน่ง 9 โดยไม่มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญกับกิจกรรม ในพืช Spathiphyllum floribundum จะพบว่าการเกิดรากในอาหารที่มี BAP และ meta-topolin จะคล้ายกันมาก อย่างไรก็ตามหลังจากการย้ายลงดินการเกิดรากที่มี meta-topolin จะให้รากที่ดีมากระหว่างการปรับตัวในสภาพแวดล้อม

2.5.4 สารอื่นๆ เช่น สารอินทรีย์อื่นๆ สารเหล่านี้ได้จากผลิตภัณฑ์ของพืช เช่น น้ำมะพร้าวอ่อน (coconut milk) น้ำมะเขือเทศ (tomato juice) น้ำองุ่น (grape juice) สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) และอื่นๆ บทบาทของสารอินทรีย์อินทรีย์เหล่านี้มีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช นอกจากนี้ผงถ่าน (activated charcoal) เมื่อเติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะช่วยดูดสารพิษหรือสิ่งที่ถูกกำจัดออกมาจากเซลล์ และสามารถทำให้เนื้อเยื่อพืชเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว (อนุรักษ์, 2550)

2.5.5 วุ้น (Agar) ทำหน้าที่ช่วยในการยึดเกาะของเนื้อเยื่อพืช ใช้สำหรับการเตรียมอาหารแบบเป็นอาหารแข็งและอาหารกึ่งแข็งได้ สำหรับวุ้นทั่วๆไป ใช้ความเข้มข้นประมาณ 0.8-1 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาบริษัท FMC ได้พัฒนาวุ้นที่มีคุณภาพสูง ชื่อว่า sea plaque ที่ใช้งานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงโพรโทพลาสต์ โดยใช้ความเข้มข้นประมาณ 0.35-0.7 เปอร์เซ็นต์ และบริษัท Sigma Chemical ผลิตวุ้นมีชื่อว่า phytagel หรือบริษัท Kelco Crop ผลิตวุ้นมีชื่อว่า gelrite เป็นวุ้นที่มีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูงและมีราคาแพง โดยปกติใช้ความเข้มข้นประมาณ 1.25-2.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเตรียมอาหารเสร็จเรียบร้อยแล้ว ลักษณะของวุ้นจะใส ซึ่งมีประโยชน์มากในการตรวจสอบการเจริญเติบโตของราก และตรวจสอบการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี (อนุรักษ์, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช

การฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อเยื่อพืชถือว่าเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมาก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะประสบความสำเร็จหรือไม่ ขึ้นอยู่กับขั้นตอนนี้ ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อพืชที่สามารถนำมาฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ เนื้อเยื่อเจริญ ปลายยอด ปลายราก ใบ เมล็ด เอ็มบริโอ อับเรณู รังไข่ ตาข้าง และดอก เป็นต้น โดยจะต้องทำให้เนื้อเยื่อพืชเหล่านั้นปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อนที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ เพราะว่าในสภาพธรรมชาติทั้งในดิน น้ำ อากาศ จะมีเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ แพร่กระจายอยู่ทั่วไป ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อน (contaminate) ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สำหรับการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จะมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์นั้นตายได้โดยการเข้าทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ระบบการควบคุมสารผ่านเข้าออกเสียไป สารเคมีที่ใช้สำหรับการฟอกฆ่าเชื้อมีจำนวนมากหลายชนิด ซึ่งมีความแตกต่างกัน ดังนั้นจะต้องใช่ดุลยพินิจในการเลือกใช้สารเคมีให้เกิดความเหมาะสมกับเนื้อเยื่อพืชที่ต้องการ (อนุรักษ์, 2550)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุรีรัตน์ และคณะ (2534) การเลี้ยงคัพภะของสะเดาบนอาหารสูตรดัดแปลงของ MS (1962) ที่มี 6-benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 0 0.5 5 10 และ 50 ไมโครโมลที่ระดับความเข้มข้นของ BAP 10 ไมโครโมล สามารถชักนำให้แตกยอดบริเวณข้อแรกของต้นอ่อนได้มากที่สุดคือ 7.29 ยอดต่อข้อ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BAP เป็น 50 ไมโครโมล เกิดยอดขนาดเล็กจำนวนมากบนใบเลี้ยง ซึ่งติดอยู่กับต้นอ่อน ยอดที่เกิดบนใบเลี้ยงนี้เกิดจากขบวนการพัฒนารูปร่างแบบ organogenesis

สุรียา และคณะ (2538) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อและใบเลี้ยงของสะเดาไทย (Azadirachta indica var. siamensis Valeton) ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เนื้อเยื่อส่วนข้อที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่เติม 6-benzylaminopurine (BA) ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 10.3 ยอดต่อชิ้น ที่ BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ยอดจำนวน 9.1 ยอดต่อชิ้น แต่ยอดที่ได้มีการเติบโตและสมบูรณ์ดีกว่า จึงตัดแยกยอดเดี่ยวไปเลี้ยงต่อในอาหารสูตรที่มี BA 4 ระดับ ความเข้มข้นดังข้างต้นร่วมกับ 1-naphthalene acetic acid (NAA) 0 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการเกิดยอดใหม่เพิ่มมากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ BA ลดลง และ NAA จะกระตุ้นให้สร้างยอดเพิ่มขึ้น เมื่อใช้ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอดมากที่สุด 6.8 ยอดต่อชิ้น นำยอดที่ได้ไปชักนำให้เกิดรากในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0, 0.05, 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากมากที่สุดจำนวน 6.2 รากต่อต้น ในเวลา 30 วัน เมื่อเลี้ยงส่วนใบเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 0.25, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัส รากและยอดขนาดเล็กจำนวนมาก ยกเว้นเมื่อใช้เฉพาะ NAA จะไม่ชักนำให้เกิดยอด แต่จะเกิดแคลลัสและรากเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ NAA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Normah. et al. (1997) การขยายพันธุ์ Citrus halimii ซึ่งเป็นพืชในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่ใกล้สูญพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการเพาะเลี้ยง C. halimii จากเมล็ดบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.1 ถึง 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยส่วน hypocotyl หรือ ส่วนใต้ใบเลี้ยงเป็นส่วนที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดหลายยอด ซึ่งสภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ทำให้ได้จำนวนยอดมากที่สุดคือการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 ถึง 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนการชักนำส่วนยอดที่ได้ให้เกิดราก พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดคือการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเมื่อได้ต้นขนาดเล็กที่มียอดและรากสมบูรณ์แล้ว ก็ทำการย้ายลงปลูกในดินผสมที่ประกอบด้วยดิน ทราย และวัสดุอินทรีย์ (อัตราส่วน 1:1:1) ในเรือนกระจก พบว่ามีการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 83.3 เปอร์เซ็นต์

Puchooa (2004) ทำการศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ Litchi chinensis Sonn. หรือ ลิ้นจี่ ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำส่วนของใบอ่อนมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่า สารควบคุมการเจริญในกลุ่มออกซิน สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวหรือรวมกับ BAP และ KIN และยังพบว่าบนอาหารที่เติม 2,4-D และ BA จะได้แคลลัสที่เป็นก้อนแน่น (compact callus) และเมื่อนำแคลลัสที่ได้ไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และยังสามารถชักนำยอดเกิดใหม่นี้ให้เกิดรากได้บนอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และยังพบการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอเมื่อย้ายแคลลัสที่เจริญบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเลี้ยงต่อบนอาหารที่ไม่เติม 2,4-D

Ali. et al. (2006) การศึกษาผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D BA และ NAA ในการเจริญของชิ้นส่วนต่างๆของ rough lemon (Citrus jambhiri Lush.) พบว่าบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเหมาะสมในการชักนำแคลลัส ชิ้นส่วนลำต้นสามารถชักนำแคลลัสได้สูงถึง 92 เปอร์เซ็นต์ และการเจริญเป็นยอดใหม่จากแคลลัส พบว่าบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญ BA ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำได้สูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์

Samarina. et al. (2010) การขยายพันธุ์ Citrus limon โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของสารฟอกฆ่าเชื้อ และองค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการขยายพันธุ์ Citrus limon โดยตัวอย่างชิ้นส่วนข้อที่ใช้เพาะเลี้ยงได้จากต้นอายุ 8 ปีในช่วงฤดูหนาว โดยสารฆ่าเชื้อที่ใช้ได้แก่ veltolen ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ และแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าสภาวะที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อที่ให้ผลดีที่สุดคือฟอกด้วยสารละลาย veltolen เป็นเวลา 40 นาที ซึ่งให้ตัวอย่างที่ปราศจากการปนเปื้อนคิดเป็น 58.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการหาความเหมาะสมต่อการเจริญของเซลล์ และการขยายพันธุ์จะใช้ BAP และ NAA ร่วมกันในหลายความเข้มข้น ซึ่งพบว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงสัณฐานสูงที่สุด ส่วนการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนยอดในชิ้นส่วนพืชที่เจริญขึ้นมา ส่วนการชักนำให้เกิดรากพบว่าชิ้นส่วนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีเกิดรากในอาหาร ½MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

Azim. et al. (2011) ในการศึกษาการชักนำแคลลัสลำต้น และปลายยอดของ Citrus sinensis หรือ ส้มเกลี้ยงที่ถูกนำมาใช้เป็นชิ้นส่วนพืช โดยใช้ 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโต ในการชักนำ พบว่าบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสสูงถึง 68 เปอร์เซ็นต์

อุบล และคณะ (2556) ผลการศึกษาพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดของ Citrus medica L. var. linetta Risso ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที และการฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดจากสภาพแปลงด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1.0 เปอร์เซ็นต์ หรือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที มีการปนเปื้อนเท่ากับ 27.50 เปอร์เซ็นต์ และ 30.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในการชักนำยอดจากส่วนต่างๆของต้นกล้า (ยอด ใบเลี้ยง และข้อใบเลี้ยง) และปลายยอดจากต้นในสภาพแปลงนาน 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่ชักนำยอดจากจำนวนมากที่สุดจากแต่ละส่วนคือ MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (3.70 ยอด) MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.40 ยอด) MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (6.40 ยอด) และ MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.90 ยอด) ตามลำดับ และอาหารที่ให้ความยาวยอดมากที่สุดคือ MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (10.36 มิลลิเมตร) MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต (2.85 มิลลิเมตร) MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (9.47 มิลลิเมตร) และ MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (5.56 มิลลิเมตร) ตามลำดับ การชักนำรากของ Citrus medica L. var. linetta Risso เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารทุกสูตรให้จำนวนรากไม่แตกต่างกันทางสถิติ (1.00-1.45 ราก) โดย MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญให้เปอร์เซ็นต์การงอกของรากมากที่สุดเท่ากับ 91.68 เปอร์เซ็นต์ และความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 3.02 เซนติเมตร และสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสาร NH_4NO_3 และ KNO_3 ทำให้รากงอกเร็วที่สุด 23.33 วัน

Singh. et al. (2015) กระบวนการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอที่พัฒนามาจากชิ้นส่วนใบของต้น Sapindus mukorossi Gaertn. ที่โตเต็มวัยแล้วโดยชักนำให้เกิดแคลลัสบริเวณเส้นกลางใบของชิ้นใบบนอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ 2,4-D และ BAP ที่แตกต่างกัน การชักนำให้เกิดแคลลัส และเกิดโซมาติกเอ็มบริโอจะได้รับอิทธิพลมาจากขนาด อายุทางสรีรวิทยา ด้านของผิวใบ และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยผิวใบด้านท้องใบส่งเสริมให้เกิดเอ็มบริโออย่างมีนัยสำคัญ จำนวนของโซมาติกเอ็มบริโอจะมีจำนวนสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อลิตร และจะทำการตรวจดูบริเวณของโซมาติกเอ็มบริโอด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเพื่อดูพัฒนาการของเอ็มบริโอระยะต่างๆ คือ เอ็มบริโอระยะก้อนกลม ระยะรูปหัวใจ และระยะใบเลี้ยง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีความถี่ของการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอสูงกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP และต้นกล้าที่พัฒนามาจากโซมาติกเอ็มบริโอเมื่อนำมาปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมแล้วจะสามารถมีอัตราการรอดชีวิตได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์

Waghmare. et al. (2015) ในการศึกษาการชักนำแคลลัสของ Citrus Reticulata (BLANCO.) จากชิ้นส่วน ใบเลี้ยง ใบ ก้านดอก และยอด บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP KIN IAA IBA และ 2,4-D ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หรือการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตร่วมกันบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัสเปอร์เซ็นต์สูงที่สุด เช่นเดียวกับการใช้ 2,4-D เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ KIN เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ที่ความเข้มข้น 1, 1.5, 2, 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IAA ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสในเปอร์เซ็นต์ที่สูงได้เช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างพืชที่ใช้ในศึกษา

เก็บตัวอย่างชิ้นส่วนข้อ และใบของต้นกระท้อน (Sandoricum koetjape) สายพันธุ์ปุยฝ้ายซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

3.2 ชิ้นส่วนแคลลัสที่นำมาใช้ในการศึกษา

แคลลัสที่นำมาใช้ในการศึกษา เป็นแคลลัสที่พัฒนาจากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดกระท้อน 3 สายพันธุ์ คือ ปุยฝ้าย (เก็บจากจังหวัดนนทบุรี) ถมทอง (เก็บจากจังหวัดลพบุรี) และเขียวน้ำผึ้ง (เก็บจากจังหวัดปราจีนบุรี) ซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสัตว์ และพืช สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 สารเคมี

- อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog, 1962 (MS)
- ไฟตาเจล (phytagel)
- น้ำตาลซูโครส (sucrose)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต 6-benzylaminopurine (BA)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต meta-topolin (meta)
- เมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$)
- เซฟโฟแซน (cefozan)
- พีพีเอ็ม (plant preservative mixture)
- สารปฏิชีวนะ (streptomycin)
- สารเปียกใบ (tween-20)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
- เอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 เครื่องแก้ว อุปกรณ์ และเครื่องมือต่างๆ

- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (autoclave)
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow)
- เครื่องวัดความเป็นกรด–ด่าง (pH meter)
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- เครื่องไมโครเวฟ (microwave)
- โถดูดความชื้น (desiccator)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด (balance)
- เครื่องเขย่า (shaker)
- บีกเกอร์ขนาดต่างๆ (beaker)
- ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)
- เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ และทิปขนาดต่างๆ (pipetman and tip)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
- แท่งแก้ว (glass rod)
- กระบอกตวง (cylinder)
- ปากคีบ (forceps)
- จานแก้ว (petri dish)
- มีดผ่าตัด (knives)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol lamp)
- ไฟแช็ค (lighter)
- ช้อนตักสารเคมี (spectula)
- ตะแกรงวางเครื่องมือ (rack)
- กระดาษฟอยด์ (aluminium foil)
- ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (bottles)

3.5 ขั้นตอนในการดำเนินงานวิจัย

3.5.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบจากการเพาะเมล็ดกระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ ให้เกิดเป็นแคลลัสบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

เลือกตัดชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบจากการเพาะเมล็ดกระท้อนที่มีอายุ 1 เดือน ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อและย้ายลงบนอาหารสูตร MS โดยเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง จากนั้นบันทึกผลการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ทำการวัดขนาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พื้นที่แคลลัสเฉลี่ยโดยใช้เครื่องวัดเวอร์เนียคาลิปเปอร์ วัดในหน่วยตารางมิลลิเมตร (กว้างxยาว) และคำนวณจำนวนการเกิดเป็นแคลลัส จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนใบที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด}} \times 100$$

3.5.2 การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของชิ้นส่วนข้อ และใบจากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย

3.5.2.1 การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของชิ้นส่วนข้อ

นำชิ้นส่วนข้อ มาล้างด้วยน้ำสะอาด เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกภายนอก เป็นเวลา 1 นาที และนำชิ้นส่วนพืชมาล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 1 นาที โดยเราจะใช้แค่ในสภาวะที่ 1 และ 2 เท่านั้น และหลังจากนั้นทำการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่แตกต่างกันทั้ง 3 สภาวะ โดยแต่ละสภาวะทำการฟอกทั้งหมด 4 ครั้ง ดังนี้

สภาวะการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ (ครั้งที่ 1)

สารเคมีที่ใช้	สภาวะที่ 1	สภาวะที่ 2	สภาวะที่ 3
$HgCl_2$	0.2 เปอร์เซ็นต์	0.2 เปอร์เซ็นต์	0.1 เปอร์เซ็นต์
cefozan	250 มิลลิกรัมต่อลิตร	250 มิลลิกรัมต่อลิตร	312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
PPM	250 มิลลิกรัมต่อลิตร	250 มิลลิกรัมต่อลิตร	312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
streptomycin	250 มิลลิกรัมต่อลิตร	-	-
Tween-20	2-3 หยด	2-3 หยด	2-3 หยด
ความเร็วรอบ	250 รอบต่อนาที	250 รอบต่อนาที	200 รอบต่อนาที
เวลาที่ใช้	30 นาที	30 นาที	20 นาที

สำหรับครั้งที่ 2-4 ของสภาวะที่ 1 เติมเซฟโฟแซน พีพีเอ็ม และสเตรปโตมัยซิน ความเข้มข้นละ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร (80 ไมโครลิตร) ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และสภาวะที่ 2 เติมเซฟโฟแซน และพีพีเอ็ม ความเข้มข้นละ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร (80 ไมโครลิตร) ความเร็วรอบและเวลาที่ใช้ในการเขย่าเท่ากับสภาวะที่ 1 สำหรับในสภาวะที่ 3 มีการลดปริมาณเมอร์คิวริกคลอไรด์เหลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มเซฟโฟแซน และพีพีเอ็ม ความเข้มข้นละ 312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (100 ไมโครลิตร) ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นย้ายชิ้นส่วนพืชที่ฟอกแล้วลงบนจานแก้วที่มีกระดาษโดยผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ เพื่อซับน้ำและย้ายลงอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร และไฟตาเจล ความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร โดยแบ่งเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3, 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารให้อยู่ในช่วง 5.6 ถึง 5.8 จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้ออาหารแข็งสูตร MS ด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และชักนำให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่ โดยทำการเพาะเลี้ยงในที่มีแสง แล้วบันทึกผลการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ คำนวณอัตราการปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นยอดใหม่ จากสูตรข้างล่าง แล้วจึงนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 21

$$\text{อัตราการปนเปื้อน} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่ปนเปื้อน}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่ทำทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่} = \frac{\text{จำนวนข้อที่เจริญเป็นยอดใหม่}}{\text{จำนวนข้อทั้งหมด}} \times 100$$

3.5.2.2 การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของชิ้นส่วนใบ

นำชิ้นส่วนใบ มาล้างด้วยน้ำสะอาด เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกภายนอกเป็นเวลา 1 นาที และนำชิ้นส่วนพืชมาล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นทำการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่แตกต่างกัน 2 สภาวะ โดยแต่ละสภาวะทำการฟอก 4 ครั้ง ดังนี้

สภาวะการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบ (ครั้งที่ 1)

สารเคมีที่ใช้	**สภาวะที่ 1**	**สภาวะที่ 2**
$HgCl_2$	0.2 เปอร์เซ็นต์	0.2 เปอร์เซ็นต์
cefozan	312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	-
PPM	312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
streptomycin	312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
Tween-20	2-3 หยด	2-3 หยด
ความเร็วรอบ	250 rpm	250 rpm
เวลาที่ใช้	10 นาที	10 นาที

สำหรับครั้งที่ 2-4 ของสภาวะที่ 1 เติมเซฟโฟแซน พีพีเอ็ม และสเตรปโตมัยซิน ความเข้มข้นละ 312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (100 ไมโครลิตร) สำหรับสภาวะที่ 2 เติมพีพีเอ็ม และสเตรปโตมัยซิน ความเข้มข้นละ 312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (100 ไมโครลิตร) โดยความเร็วรอบและเวลาที่ใช้จะเท่ากันทุกครั้งที่ฟอกของทั้ง 2 สภาวะ จากนั้นย้ายชิ้นส่วนพืชที่ฟอกแล้วลงบนจานแก้วที่มีกระดาษโดยผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ เพื่อซับน้ำและย้ายลงอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร และไฟตาเจล ความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร โดยแบ่งเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารให้อยู่ในช่วง 5.6 ถึง 5.8 จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้ออาหารแข็งสูตร MS ด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และชักนำให้เกิดเป็นแคลลัส โดยทำการเพาะเลี้ยงในที่ไม่มีแสง แล้วบันทึกผลการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ และคำนวณอัตราการปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นแคลลัส จากสูตร

$$\text{อัตราการปนเปื้อน} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่ปนเปื้อน}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่ทำทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนใบที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด}} \times 100$$

3.5.3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนข้อ และใบของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายให้เกิดการเจริญ

3.5.3.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนข้อ ของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่

นำชิ้นส่วนข้อของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0.5 1 2 3 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ meta-topolin ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน คือ 1:0.25, 1:0.5, 1:1, 1:2, 2:0.25, 2:0.5, 2:1, 2:2, 3:0.25, 3:0.5, 3:1 และ 3:2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง และทำการบันทึกผลเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยวัดความยาวยอดเฉลี่ยในหน่วยมิลลิเมตรด้วยเครื่องเวอเนียร์คาร์ลิปเปอร์ และคำนวณเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นยอดใหม่ จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่} = \frac{\text{จำนวนข้อที่เกิดยอดใหม่}}{\text{จำนวนข้อทั้งหมด}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนใบ ของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมให้เกิดเป็นแคลลัส

นำชิ้นส่วนใบของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีแสง และทำการบันทึกผลเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ คำนวณเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นแคลลัส จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนใบที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำชิ้นส่วนต่างๆ จากการเพาะเมล็ดกระท้อน 3 สายพันธุ์ ให้เกิดเป็นแคลลัสบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

4.1.1 สายพันธุ์ปุยฝ้าย

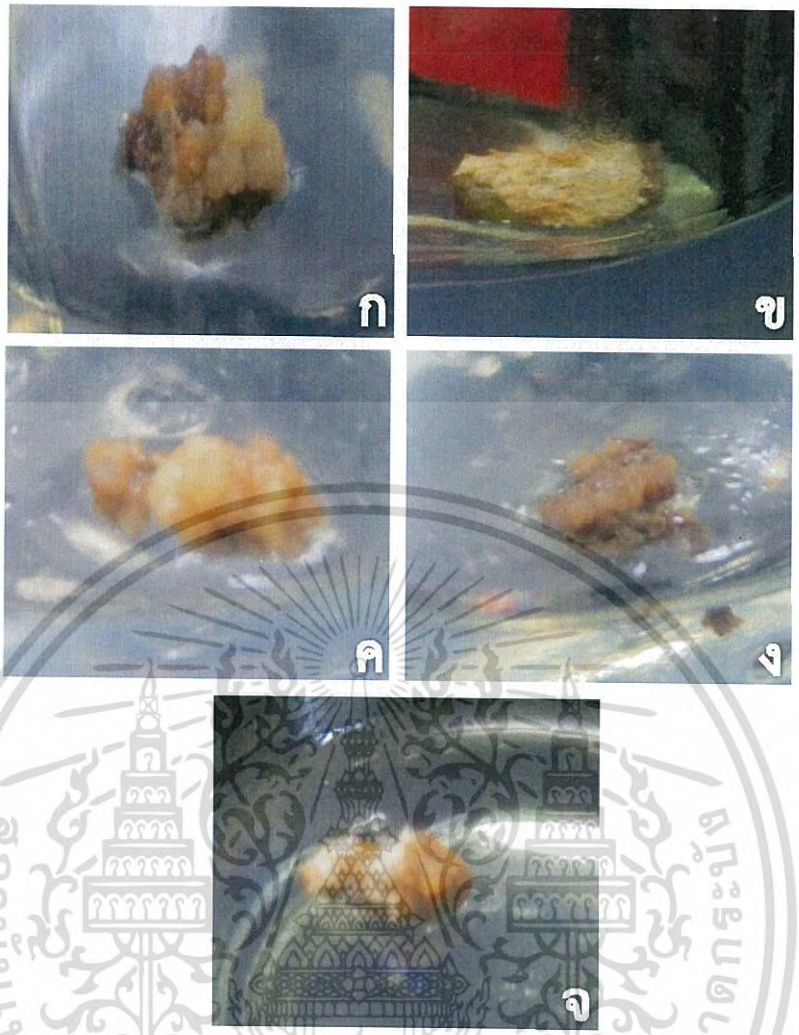
จากการศึกษาการชักนำชิ้นส่วนต่างๆของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย พบว่าการชักนำชิ้นส่วนลำต้น ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้เกิดแคลลัสได้ โดยความเข้มข้น 0.5, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 4 ความเข้มข้นแล้ว พบว่าที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุด คือ 48 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.1) และแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ มีทั้งสีเหลืองอ่อนและสีขาว (รูปที่ 4.1) ส่วนการชักนำชิ้นส่วนราก ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้เกิดแคลลัสได้ โดยความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย คือ 80 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.1) และแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ มีทั้งสีเหลืองอ่อนและสีขาว (รูปที่ 4.2) สำหรับการชักนำชิ้นส่วนใบ ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด 25 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย คือ 42 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.1) และแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ มีทั้งสีเหลืองอ่อนและสีขาว (รูปที่ 4.3) เมื่อนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และความเข้มข้นของ 2,4-D มาสร้างกราฟ จะแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ที่ 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และขนาดแคลลัสเฉลี่ยของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

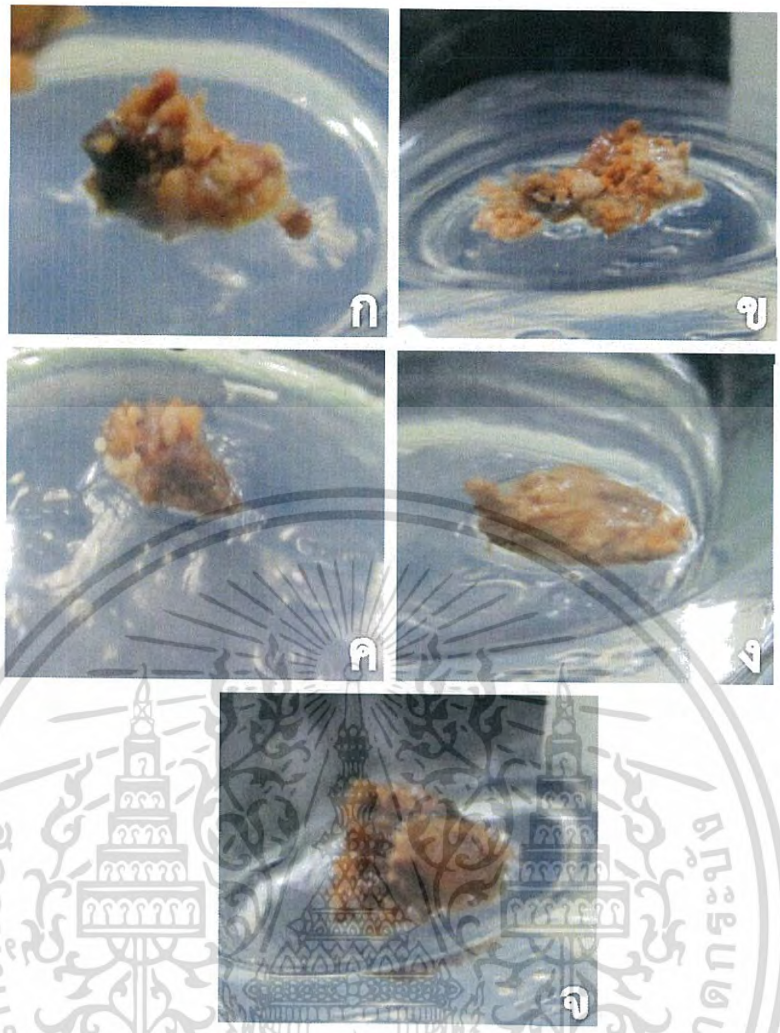
ชิ้นส่วน	ความเข้มข้น 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนที่ทำ ทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนการเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)	ขนาดแคลลัสเฉลี่ย (ตารางมิลลิเมตร)
ลำต้น	0.5	4	4 (100.00)	48.00
	1	3	3 (100.00)	20.67
	2	6	3 (50.00)	37.67
	3	3	3 (100.00)	16.00
	5	4	4 (100.00)	16.00
ราก	0.5	4	1 (25.00)	30.00
	1	5	3 (60.00)	80.00
	2	4	1 (25.00)	16.00
	3	3	2 (50.00)	46.00
	5	3	2 (66.67)	60.00
ใบ	0.5	4	1 (25.00)	42.00
	1	4	0 (0.00)	0.00
	2	2	0 (0.00)	0.00
	3	5	0 (0.00)	0.00
	5	3	0 (0.00)	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนลำต้น บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1 (ข) 2 (ค) 3 (ง) และ 5 (จ) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

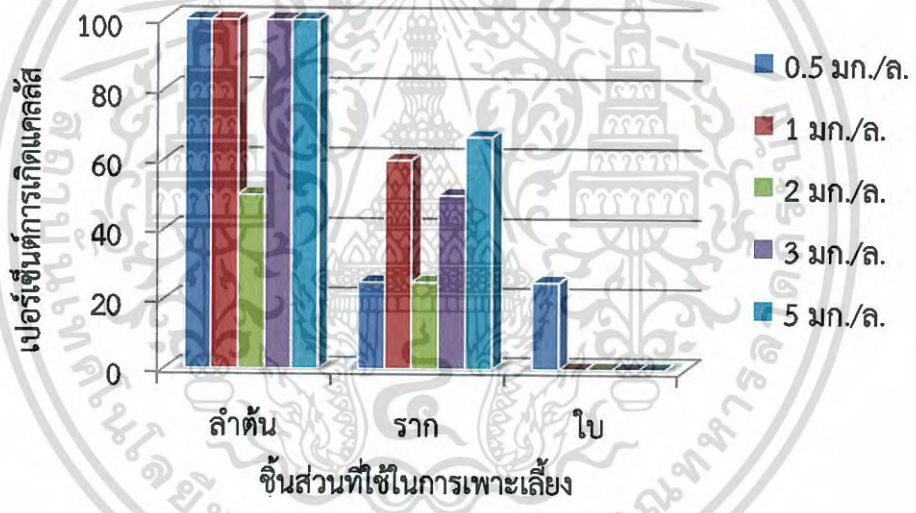
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนราก บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1 (ข) 2 (ค) 3 (ง) และ 5 (จ) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.3 แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนใบ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส จากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

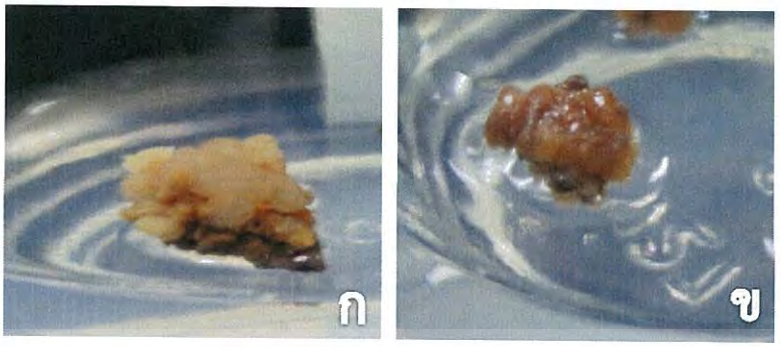
4.1.2 สายพันธุ์ถมทอง

จากการศึกษาการชักนำชิ้นส่วนต่างๆของกระท้อนสายพันธุ์ถมทอง พบว่าการชักนำชิ้นส่วนลำต้น ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้เกิดแคลลัสได้ โดยความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย คือ 88 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2) และแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ มีทั้งสีเหลืองอ่อนและสีขาว (รูปที่ 4.5) ส่วนการชักนำชิ้นส่วนราก ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่ทำให้เกิดแคลลัส สำหรับการชักนำชิ้นส่วนใบ ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย คือ 80 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2) และแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ มีทั้งสีเหลืองอ่อนและสีขาว (รูปที่ 4.6) เมื่อนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และความเข้มข้นของ 2,4-D มาสร้างกราฟ จะแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ที่ 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.7)

ตารางที่ 4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และขนาดแคลลัสเฉลี่ยของกระท้อนสายพันธุ์ถมทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ชิ้นส่วน	ความเข้มข้น 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนที่ทำทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนการเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)	ขนาดแคลลัสเฉลี่ย (ตารางมิลลิเมตร)
ลำต้น	0.5	4	0 (0.00)	0.00
	1	5	0 (0.00)	0.00
	2	3	0 (0.00)	0.00
	3	3	2 (66.67)	88.00
	5	3	1 (33.33)	40.00
ใบ	0.5	4	0 (0.00)	0.00
	1	5	0 (0.00)	0.00
	2	3	0 (0.00)	0.00
	3	6	1 (16.67)	80.00
	5	3	0 (0.00)	0.00

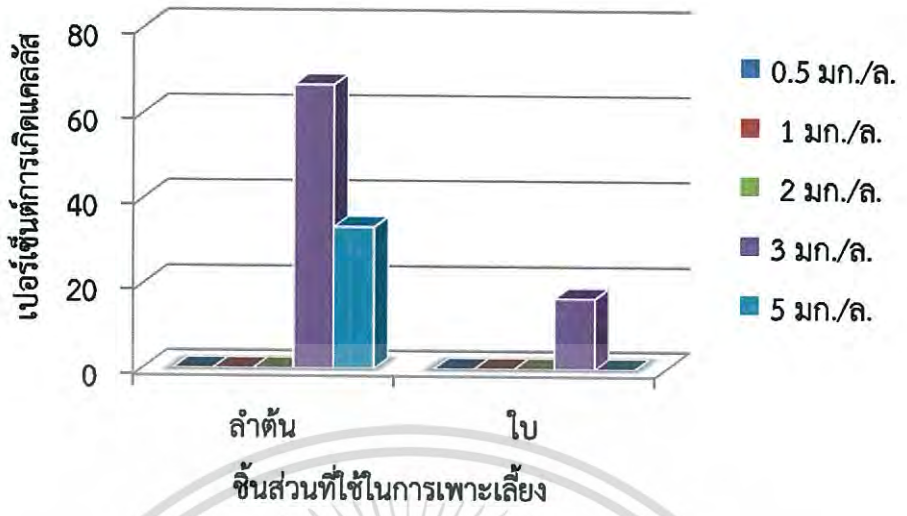
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ถมทองจากชิ้นส่วนลำต้น บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 (ก) และ 5 (ข) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

รูปที่ 4.6 แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ถมทองจากชิ้นส่วนใบ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้น และใบของกระท้อนสายพันธุ์ถมทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

4.1.3 สายพันธุ์เขียวน้ำผึ้ง

จากการศึกษาการชักนำชิ้นส่วนต่างๆของกระท้อนสายพันธุ์เขียวน้ำผึ้ง พบว่าการชักนำชิ้นส่วนลำต้น ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส 50 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย คือ 48 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.3) และแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ มีทั้งสีเหลืองอ่อนและสีขาว (รูปที่ 4.8) ส่วนการชักนำชิ้นส่วนราก ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้เกิดแคลลัสได้ โดยความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย คือ 81 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.3) และแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ มีทั้งสีเหลืองอ่อน และสีขาว (รูปที่ 4.9) สำหรับการชักนำชิ้นส่วนใบ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่ทำให้เกิดแคลลัส และเมื่อนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และความเข้มข้นของ 2,4-D มาสร้างกราฟ จะแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสที่ 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.10)

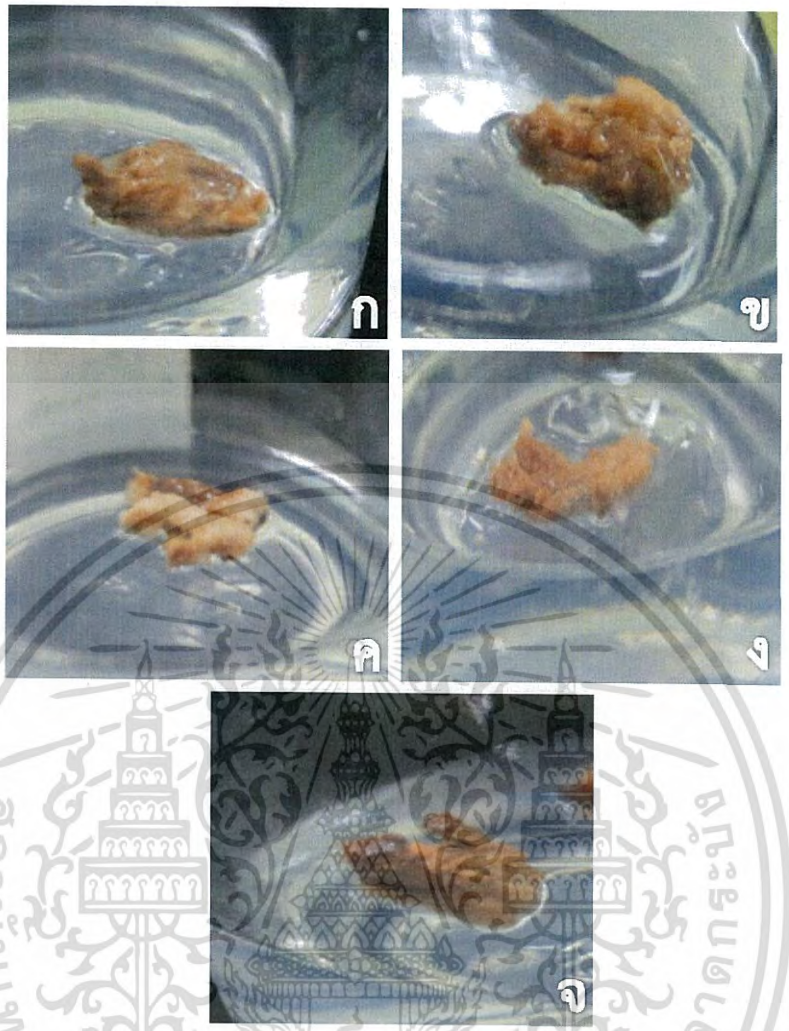
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และขนาดแคลลัสเฉลี่ยของกระท้อนสายพันธุ์เขียวน้ำผึ้งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ชิ้นส่วน	ความเข้มข้น 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนที่ทำทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนที่เกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)	ขนาดแคลลัสเฉลี่ย (ตารางมิลลิเมตร)
ลำต้น	0.5	4	0 (0.00)	0.00
	1	4	2 (50.00)	48.00
	2	3	0 (0.00)	0.00
	3	6	0 (0.00)	0.00
	5	3	0 (0.00)	0.00
ราก	0.5	3	1 (33.33)	45.00
	1	3	2 (66.67)	81.00
	2	3	1 (33.33)	36.00
	3	5	1 (20.00)	24.00
	5	6	1 (16.67)	54.00

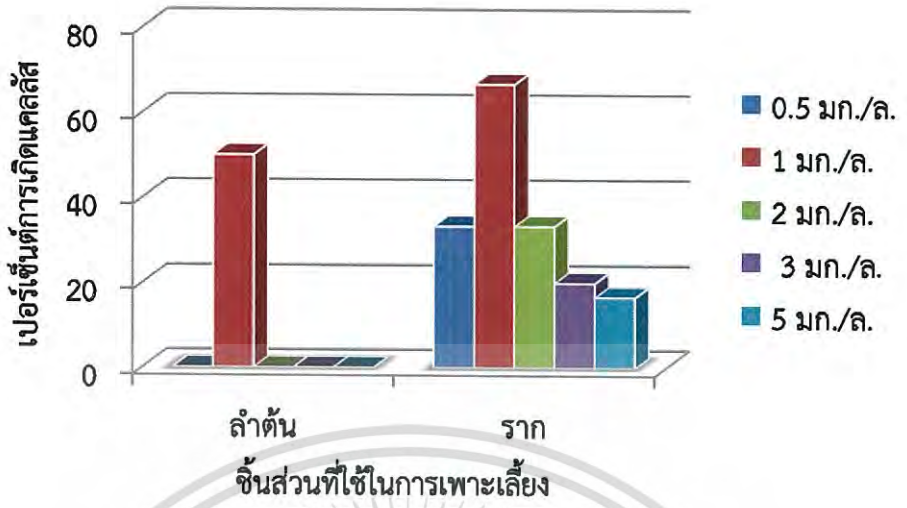
รูปที่ 4.8 แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์เขียวน้ำผึ้งจากชิ้นส่วนลำต้น บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์เขียวน้ำผึ้งจากชิ้นส่วนราก บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1 (ข) 2 (ค) 3 (ง) และ 5 (จ) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้น และรากของกระท้อนสายพันธุ์เขียวน้ำผึ้งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

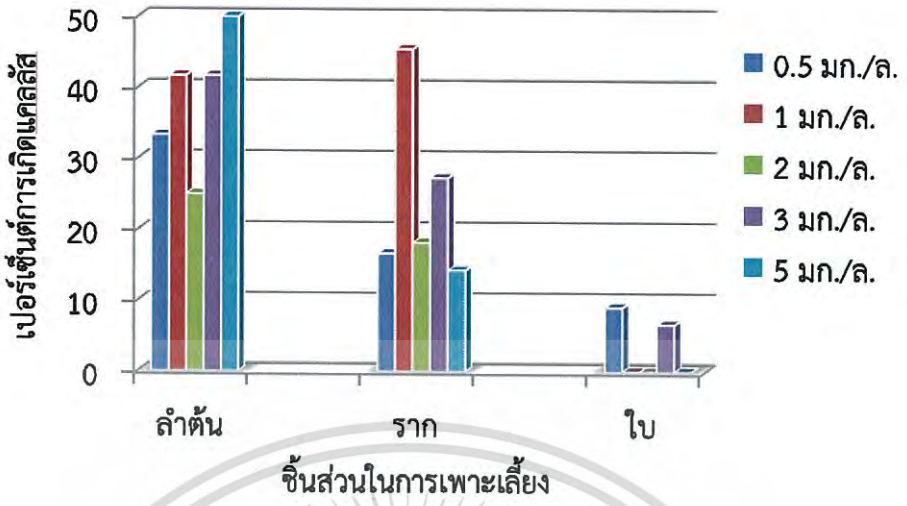
จากการศึกษาการชักนำชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ มีการสรุปผลรวมของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และขนาดแคลลัสเฉลี่ย พบว่ามีแนวโน้มของชิ้นส่วนลำต้น ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสได้มากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ แต่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุด 48 ตารางมิลลิเมตร สำหรับชิ้นส่วนราก ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสได้มากที่สุด 45.45 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุด 80.4 ตารางมิลลิเมตร และชิ้นส่วนใบ ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสได้มากที่สุด 9.09 เปอร์เซ็นต์ แต่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุด 80 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.4) และเมื่อนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และความเข้มข้นของ 2,4-D มาสร้างกราฟ (รูปที่ 4.11) และข้อมูลขนาดแคลลัสเฉลี่ย และความเข้มข้นของ 2,4-D มาสร้างกราฟ (รูปที่ 4.12) จะแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และขนาดแคลลัสเฉลี่ยที่ 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

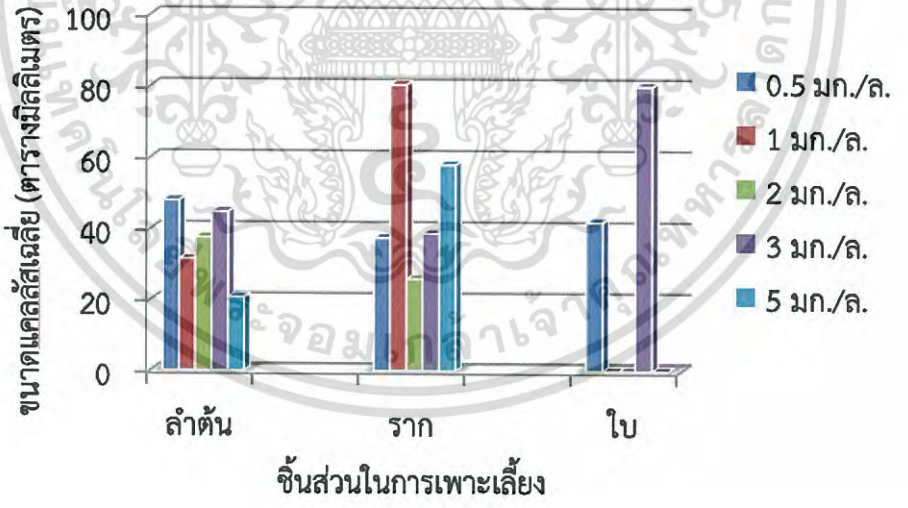
ตารางที่ 4.4 สรุปผลรวมของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และขนาดแคลลัสเฉลี่ยของกระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ ปุยฝ้าย ถมทอง และเขียวน้ำผึ้ง ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ชิ้นส่วน	ความเข้มข้น 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนที่ทำทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนการเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)	ขนาดแคลลัสเฉลี่ย (ตารางมิลลิเมตร)
ลำต้น	0.5	12	4 (33.33)	48.00
	1	12	5 (41.67)	31.60
	2	12	3 (25.00)	37.67
	3	12	5 (41.67)	44.80
	5	10	5 (50.00)	20.80
ราก	0.5	12	2 (16.67)	37.50
	1	11	5 (45.45)	80.40
	2	11	2 (18.18)	26.00
	3	11	3 (27.27)	38.67
	5	15	3 (14.29)	58.00
ใบ	0.5	11	1 (9.09)	42.00
	1	12	0 (0.00)	0.00
	2	11	0 (0.00)	0.00
	3	15	1 (6.67)	80.00
	5	9	0 (0.00)	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงการเปรียบเทียบขนาดแคลลัสเฉลี่ยจากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของชิ้นส่วนข้อ และใบ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย

4.2.1 การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อของชิ้นส่วนข้อ

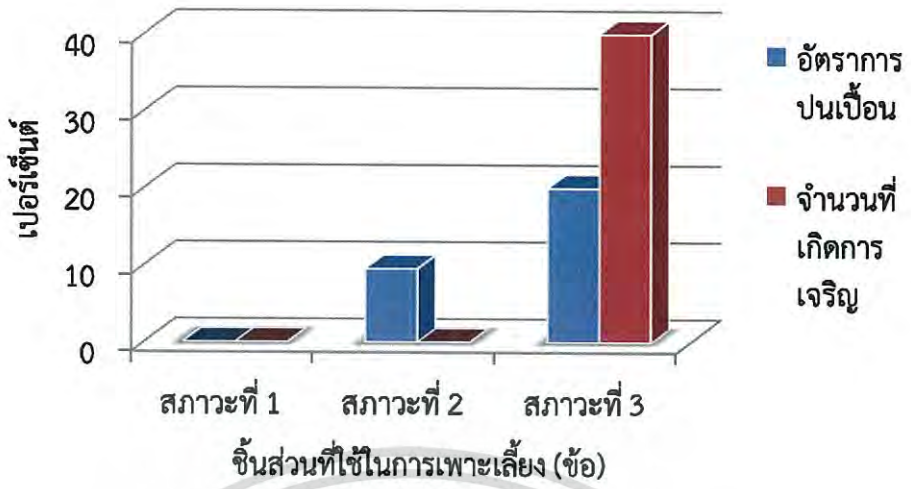
จากการศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อชิ้นส่วนข้อ ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย พบว่าสภาวะที่เหมาะสมมากที่สุดก่อนการนำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ สภาวะที่ 3 โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อทั้งหมด 4 ครั้ง ครั้งที่ 1 ฟอกในน้ำที่ปราศจากเชื้อที่เติมเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เซฟโฟแซน และพีพีเอ็ม ความเข้มข้นละ 312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (100 ไมโครลิตร) ทวีน 20 2-3 หยด และความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ครั้งที่ 2-4 เติมเซฟโฟแซน และพีพีเอ็ม ความเข้มข้นละ 312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (100 ไมโครลิตร) แสดงให้เห็นว่าอัตราการปนเปื้อนเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นยอดใหม่เท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ 1 และสภาวะที่ 2 ที่มีอัตราการปนเปื้อนคือ 0 และ 9.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่สามารถชักนำให้เกิดเป็นยอดใหม่ได้ (ตารางที่ 4.5) เมื่อนำข้อมูลอัตราการปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นยอดใหม่ของทั้ง 3 สภาวะการฟอกฆ่าเชื้อมาสร้างกราฟจะแสดงให้เห็นเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.13)

จากการสังเกตผลการทดลองข้างต้น ในการฟอกฆ่าเชื้อสภาวะที่ 3 มีโอกาสถูกชักนำให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ 1 และ สภาวะที่ 2 เนื่องจากทั้งสองสภาวะนี้มีการใช้สารเคมีหลายชนิด ซึ่งส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อ จนไม่สามารถเกิดการเจริญเติบโตได้

ตารางที่ 4.5 แสดงอัตราการปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นยอดใหม่ของการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย 3 สภาวะที่แตกต่างกัน

สภาวะการฟอกฆ่าเชื้อ	จำนวนที่ลง (ชิ้น)	อัตราการปนเปื้อน (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนชิ้นที่เกิดการเจริญ (เปอร์เซ็นต์)
สภาวะที่ 1	22	0 (0.00)	0 (0.00)
สภาวะที่ 2	21	2 (9.52)	0 (0.00)
สภาวะที่ 3	25	5 (20.00)	8 (40.00)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงการเปรียบเทียบอัตราการปนเปื้อน เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ และเปอร์เซ็นต์การเจริญของชิ้นส่วนข้อ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 1 2 และ 3 บนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

4.2.2 การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อของชิ้นส่วนใบ

จากการศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อชิ้นส่วนใบ ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย พบว่าสภาวะที่เหมาะสมมากที่สุดก่อนการนำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ สภาวะที่ 2 โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อทั้งหมด 4 ครั้ง โดยก่อนการฟอกครั้งที่ 1 จะใช้เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 ล้างชิ้นส่วนพืชเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเริ่มการฟอกครั้งที่ 1 โดยฟอกในน้ำที่ปราศจากเชื้อที่เติมเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ พีพีเอ็ม และสเตรปโตมัยซิน ความเข้มข้นละ 312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (100 ไมโครลิตร) ทวีน 20 2-3 หยด และความเร็วรอบในการเขย่า 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ครั้งที่ 2-4 เติมพีพีเอ็ม และสเตรปโตมัยซิน ความเข้มข้นละ 312.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (100 ไมโครลิตร) แสดงให้เห็นว่า อัตราการปนเปื้อนเท่ากับ 39.13 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 16.67 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ 1 ที่มีอัตราการปนเปื้อนคือ 7.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ (ตารางที่ 4.6) เมื่อนำข้อมูลอัตราการปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของทั้ง 2 สภาวะการฟอกฆ่าเชื้อมาสร้างกราฟ แสดงให้เห็นเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.14)

จากการสังเกตผลการทดลองข้างต้น ในการฟอกฆ่าเชื้อสภาวะที่ 2 มีโอกาสถูกชักนำให้เกิดการเจริญแคลลัสได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ 1 เนื่องจากมีการใช้สารเคมีหลายชนิด ซึ่งส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อ จนไม่สามารถเกิดการเจริญเติบโตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงอัตราการปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย 2 สภาวะที่แตกต่างกัน

สภาวะการฟอกฆ่าเชื้อ	จำนวนที่ลง (ชิ้น)	อัตราการปนเปื้อน (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนชิ้นที่เกิดการเจริญ (เปอร์เซ็นต์)
สภาวะที่ 1	68	5 (7.75)	0 (0.00)
สภาวะที่ 2	69	27 (39.13)	7 (16.67)

รูปที่ 4.14 กราฟแสดงอัตราการปนเปื้อน เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนใบ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 1 และ 2 แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

4.3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนข้อ และใบของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายให้เกิดการเจริญ

4.3.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนข้อ ของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 3 ให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่

จากการนำชิ้นส่วนข้อ ของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0.5, 1, 2, 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ meta-topolin ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน คือ 1:0.25, 1:0.5, 1:1, 1:2, 2:0.25, 2:0.5, 2:1, 2:2, 3:0.25, 3:0.5, 3:1 และ 3:2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าผลการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

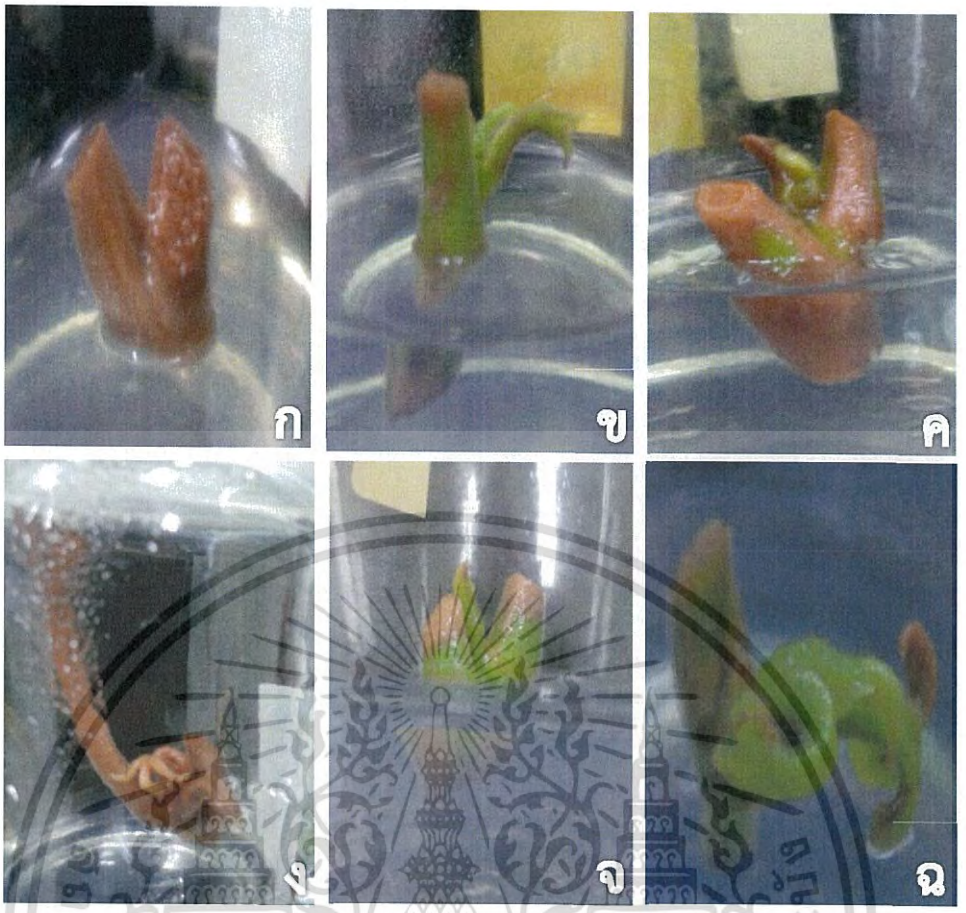
ชิ้นส่วนข้อ สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ โดยสูตรอาหารที่ทำให้เกิดอัตราการเปลี่ยนแปลงสูงที่สุด คือ อาหารที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.7) โดยมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 9.06 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.15) เมื่อนำข้อมูลความยาวยอดเฉลี่ย และความเข้มข้นของ BA มาสร้างกราฟ แสดงให้เห็นการเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ย ที่ BA ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.16) และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ meta-topolin ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันคือ 1:0.25, 1:0.5, 1:1, 1:2, 2:0.25, 2:0.5, 2:1, 2:2, 3:0.25, 3:0.5, 3:1 และ 3:2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ โดยสูตรอาหารที่ทำให้เกิดอัตราการเปลี่ยนแปลงสูงสุด คือ อาหารที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ความเข้มข้น 1:0.5, 1:1 และ 2:2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.8) เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 3 ความเข้มข้น พบว่าประสิทธิภาพในการเจริญเป็นยอดใหม่ ที่ความเข้มข้น 1:0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด คือ 14.33 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.17 4.18 และ 4.19) เมื่อนำข้อมูลความยาวยอดเฉลี่ย และความเข้มข้นของ BA:Meta มาสร้างกราฟ แสดงให้เห็นการเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ย ที่ BA:Meta ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.20)

ตารางที่ 4.7 แสดงอัตราการเจริญของชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสภาวะที่ 3 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนที่ลง (ชิ้น)	จำนวนที่ไม่เกิดการเจริญ (ชิ้น)	จำนวนที่เจริญเป็นยอด (ชิ้น) (เปอร์เซ็นต์)	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
BA	0.5	3	3	0 (0.00)	0.00^{d}
	1	4	2	2 (50.00)	6.64^{b}
	2	3	2	1 (33.33)	4.14^{c}
	3	4	3	1 (25.00)	4.32^{bc}
	5	4	3	1 (25.00)	6.17^{bc}
	7	10	3	7 (70.00)	9.06^{a}

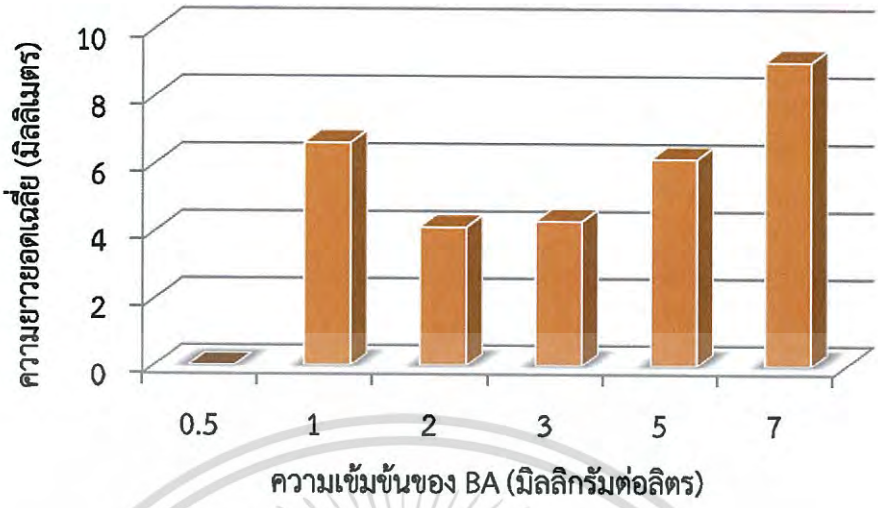
หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 แสดงการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1 (ข) 2 (ค) 3 (ง) 5 (จ) และ 7 (ฉ) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 กราฟแสดงการเปรียบเทียบอัตราการเจริญของชิ้นส่วนข้อ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 3 แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

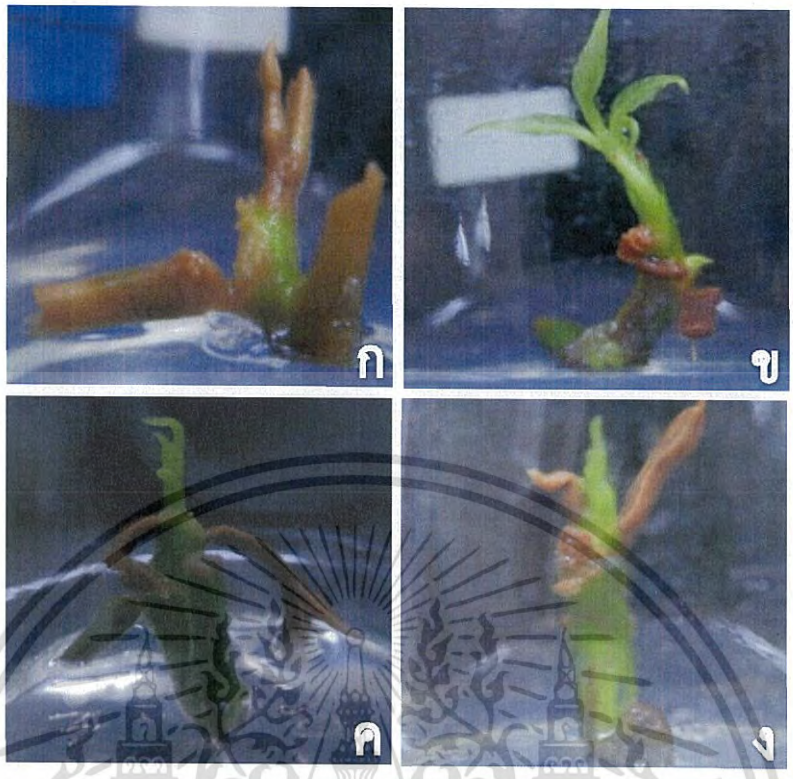
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงอัตราการเจริญของชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ที่มีความเข้มข้น 1:0.25, 1:0.5, 1:1, 1:2, 2:0.25, 2:0.5, 2:1, 2:2, 3:0.25, 3:0.5, 3:1 และ 3:2 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสภาวะที่ 3 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้น BA:Meta (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนที่ลง (ชิ้น)	จำนวนที่ไม่เกิดการเจริญ (ชิ้น)	จำนวนที่เจริญเป็นยอด (ชิ้น) (เปอร์เซ็นต์)	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
BA:Meta	1:0.25	4	4	0 (0.00)	0.00^{c}
	1:0.5	4	2	2 (50.00)	14.33^{a}
	1:1	4	2	2 (50.00)	10.21^{ab}
	1:2	5	3	2 (40.00)	7.06^{abc}
	2:0.25	3	2	1 (33.33)	6.57^{abc}
	2:0.5	4	4	0 (0.00)	0.00^{c}
	2:1	4	3	1 (25.00)	9.58^{ab}
	2:2	4	2	2 (50.00)	6.68^{abc}
	3:0.25	5	4	1 (20.00)	5.12^{bc}
	3:0.5	5	4	1 (20.00)	4.73^{bc}
	3:1	5	4	1 (20.00)	6.47^{abc}
	3:2	3	3	0 (0.00)	0.00^{c}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

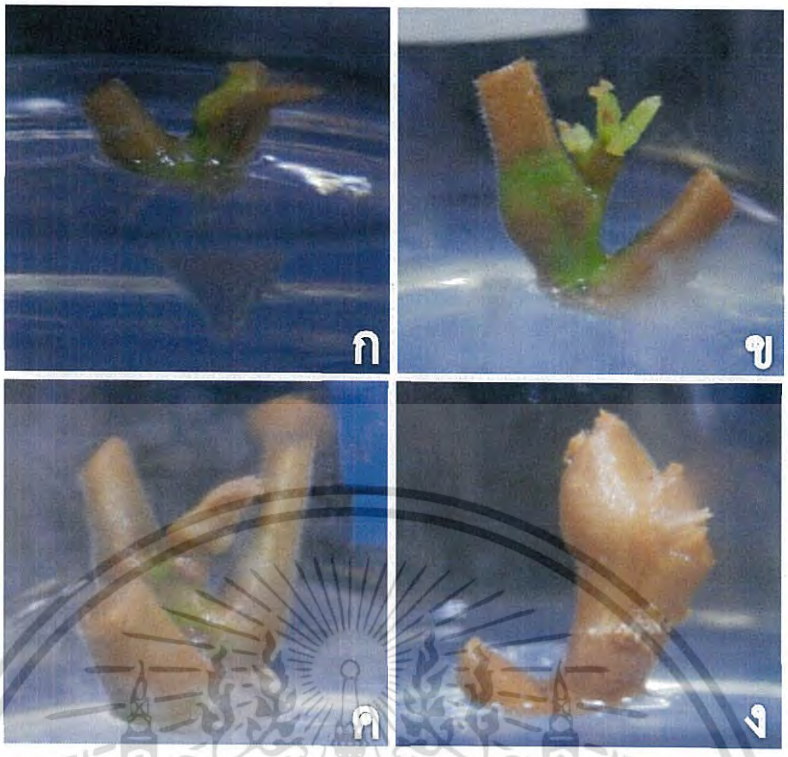


รูปที่ 4.17 แสดงการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ความเข้มข้น 1:0.25 (ก) 1:0.5 (ข) 1:1 (ค) และ 1:2 (ง) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

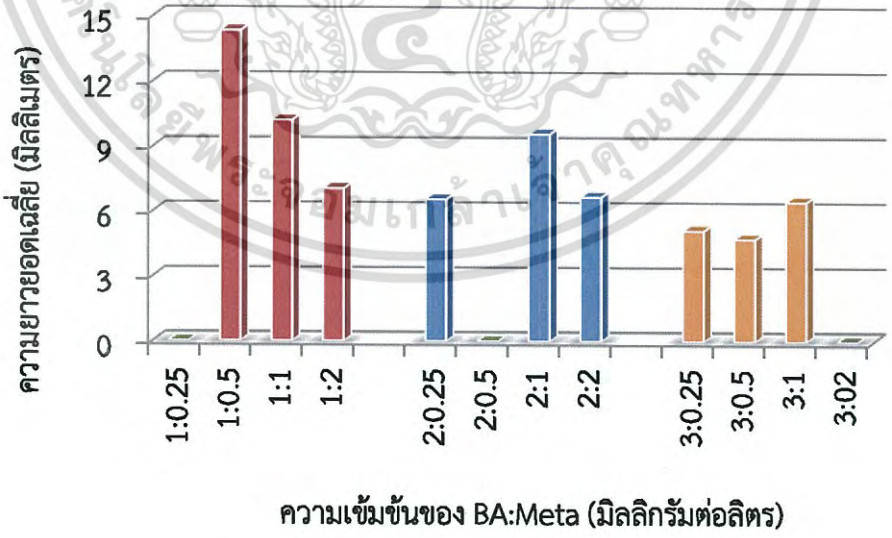
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.18 แสดงการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ความเข้มข้น 2:0.25 (ก) 2:0.5 (ข) 2:1 (ค) และ 2:2 (ค) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.19 แสดงการเจริญเป็นยอดใหม่ของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วน ข้อ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ความเข้มข้น 3:0.25 (ก) 3:0.5 (ข) 3:1 (ค) และ 3:2 (ง) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.20 กราฟแสดงการเปรียบเทียบอัตราการเจริญของชิ้นส่วนข้อ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 3 แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนใบ ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 2 ให้เกิดเป็นแคลลัส

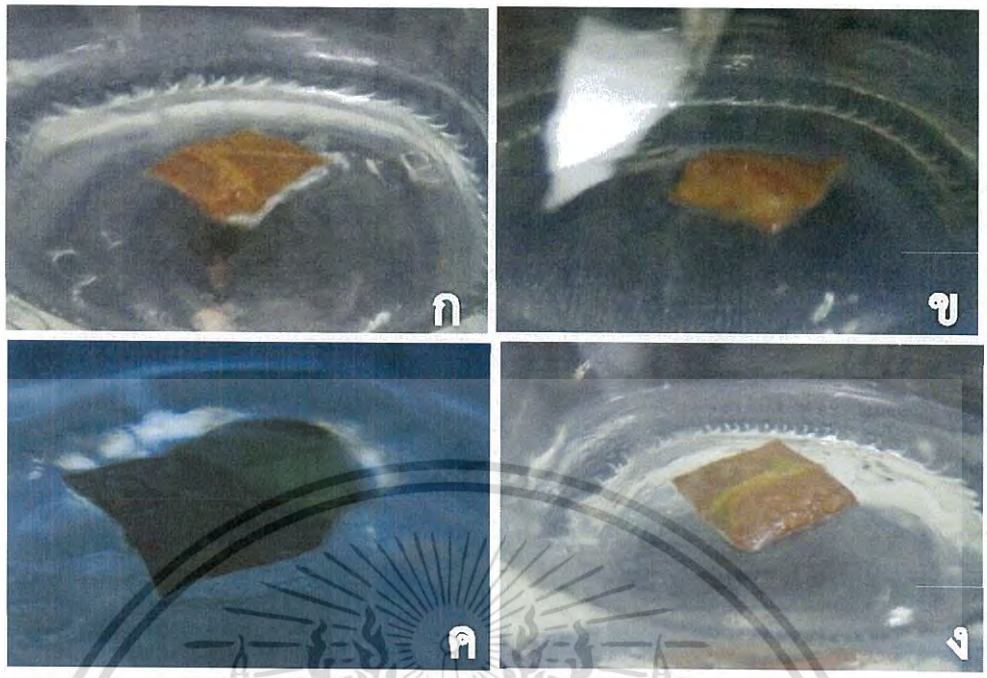
จากการนำชิ้นส่วนใบ ของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีแสงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าผลการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำชิ้นส่วนของใบให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ โดยสูตรอาหารที่ทำให้เกิดอัตราการเปลี่ยนแปลงสูงสุด คือ อาหารที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 21.43 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.9) และแคลลัสที่เริ่มเกิดขึ้นมีลักษณะสีเหลืองอ่อนเกาะกันเป็นแผ่นบริเวณกว้าง (รูปที่ 4.21) เมื่อนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และความเข้มข้นของ 2,4-D มาสร้างกราฟ แสดงให้เห็นการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสที่ 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.22)

จะเห็นได้ว่า การชักนำใบให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นแคลลัสนั้น เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปอีกใบจะมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสถือว่าน้อยมาก จึงแสดงให้เห็นว่าการชักนำใบให้เกิดแคลลัสนั้น ไม่ประสบผลสำเร็จ จึงต้องมีการศึกษามากขึ้น เพื่อพัฒนาการชักนำใบให้เกิดแคลลัสต่อไปได้

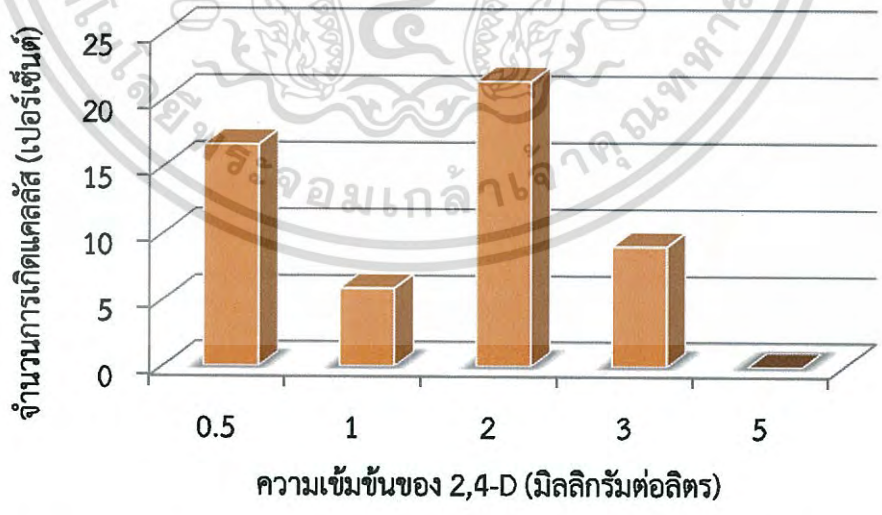
ตารางที่ 4.9 แสดงอัตราการเจริญของชิ้นส่วนใบ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสภาวะที่ 2

สภาวะที่	สารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้น 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนที่ลง (ชิ้น)	จำนวนที่ไม่เกิดการเจริญเติบโต (ชิ้น)	จำนวนการเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)
2	2,4-D	0.5	12	10	2 (16.67)
		1	17	16	1 (5.88)
		2	14	11	3 (21.43)
		3	11	10	1 (9.09)
		5	12	12	0 (0.00)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.21 แสดงการเกิดแคลลัสของกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายจากชิ้นส่วนใบ บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1 (ข) 2 (ค) และ 3 (ง) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์



รูปที่ 4.22 กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนใบ จากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 2 แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัส จากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบของกระท้อน 3 สายพันธุ์ (ปุยฝ้าย ถมทอง และเขียวน้ำผึ้ง) ที่ได้จากการเพาะเมล็ด พบว่าสายพันธุ์ปุยฝ้ายของชิ้นส่วนลำต้น ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 48 ตารางมิลลิเมตร ชิ้นส่วนราก ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 60 ตารางมิลลิเมตร และชิ้นส่วนใบ ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 25 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 42 ตารางมิลลิเมตร สายพันธุ์ถมทองของชิ้นส่วนลำต้น ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 88 ตารางมิลลิเมตร ชิ้นส่วนราก ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และชิ้นส่วนใบ ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 16.67 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 80 ตารางมิลลิเมตร สายพันธุ์เขียวน้ำผึ้งของชิ้นส่วนลำต้น ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 48 ตารางมิลลิเมตร ชิ้นส่วนราก ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 81 ตารางมิลลิเมตร และชิ้นส่วนใบ ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ เมื่อนำข้อมูลของทั้ง 3 สายพันธุ์รวมกัน พบว่ามีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการชักนำชิ้นส่วนลำต้น ที่ความเข้มข้น 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 20.8 ตารางมิลลิเมตร สำหรับชิ้นส่วนราก ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 45.45 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 80.4 ตารางมิลลิเมตร และชิ้นส่วนใบ ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 9.09 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 42 ตารางมิลลิเมตร ถ้าดูจากขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุด จากการชักนำชิ้นส่วนลำต้น พบว่าบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่สุด 48 ตารางมิลลิเมตร สำหรับชิ้นส่วนราก บนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่สุด 80.4 ตารางมิลลิเมตร และชิ้นส่วนใบ บนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่สุด 80 ตารางมิลลิเมตร ดังนั้น ถ้าเราจะเลือกชิ้นส่วนของกระท้อนมาชักนำให้เกิดแคลลัสโดยไม่คำนึงถึงสายพันธุ์ ควรเลือกชิ้นส่วนที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด คือ ชิ้นส่วนลำต้น ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนราก ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และชิ้นส่วนใบ ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของชิ้นส่วนข้อ และใบจากต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้าย พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกชิ้นส่วนข้อ โดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 1 สามารถลดการปนเปื้อนได้สูงที่สุด แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่ได้ สำหรับสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพในการเจริญเป็นยอดใหม่ คือ การใช้สารฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 3 โดยมีอัตราการปนเปื้อนมากที่สุดคือ 20 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นยอดใหม่สูงถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบ โดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อสภาวะที่ 1 สามารถลดการปนเปื้อนได้สูงที่สุด แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ สำหรับสภาวะฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการเกิดแคลลัส คือ การใช้สารฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 2 โดยมีอัตราการปนเปื้อนมากที่สุด คือ 39.13 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 16.67 เปอร์เซ็นต์

การชักนำชิ้นส่วนข้อ ของต้นกระท้อนสายพันธุ์ปุยฝ้ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 3 โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่ได้สูงที่สุด 70 เปอร์เซ็นต์ และมีความยาวยอดเฉลี่ยยาวที่สุด 9.06 มิลลิเมตร สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA:Meta อัตราส่วนความเข้มข้น 1:0.5, 1:1 และ 2:2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการเจริญเป็นยอดใหม่ได้สูงที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 3 ความเข้มข้น จะพบว่าประสิทธิภาพในการเจริญเป็นยอดใหม่ที่ความเข้มข้น 1:0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยยาวที่สุด 14.33 มิลลิเมตร สำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสภาวะที่ 2 บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงที่สุด 21.43 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการชักนำให้เกิดแคลลัสของชิ้นส่วนใบ จากต้นกระท้อนพันธุ์ปุยฝ้ายถือว่าเป็นเปอร์เซ็นต์ที่ต่ำ จึงต้องมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้เกิดผลที่มีประสิทธิภาพต่อไป

ในการขยายพันธุ์กระท้อนทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ปุยฝ้าย สายพันธุ์ถมทอง และสายพันธุ์เขียวน้ำผึ้งโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้มีการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้น ราก และใบที่ได้จากการเพาะเมล็ด พบว่าผลการทดลองที่ได้มีจำนวนน้อย อาจเป็นไปได้ว่าตัวอย่างชิ้นส่วนที่นำมาใช้ในการศึกษามีจำนวนตัวอย่างน้อยเกินไป ถ้าทำจำนวนตัวอย่างมากกว่านี้ผลการทดลองที่ได้อาจมีประสิทธิภาพและน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น ส่วนในสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ และใบ ถ้ามีการล้างชิ้นส่วนพืชในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ เป็นครั้งที่ 5 เพื่อล้างสารเคมีที่ติดอยู่กับชิ้นเนื้อเยื่อออกให้ไปให้หมด อาจส่งผลให้ได้ยอดใหม่และแคลลัสมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ขนิษฐา จิตต์เรืองรอง. 2558. **คุณประโยชน์ของกระท้อน.** [Online]. Available : http://www.uniserv.buu.ac.th/forum2/topic.asp?TOPIC_ID=6253.

ทวีศักดิ์ ด้วงทอง. 2518. **ชนิดและพันธุ์ไม้ผลเมืองไทย**. เอกสารวิชาการที่ 47 กรมส่งเสริมการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ.

ฝ่ายข้อมูล วารสารเคหการเกษตร. 2531. **ไม้ผลเศรษฐกิจของไทย**. กรุงเทพฯ : ห้างหุ้นส่วนจำกัด เจริญรัฐการพิมพ์.

สมพร ประเสริฐส่งสกุล. 2552. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการปรับปรุงพันธุ์พืช.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โฟร์ เพซ.

สุรียา ตันติวิวัฒน์ ศรีสม สุรวัฒนานนท์ กมลพรรณ นามวงศ์พรหม ปิยะฉัตร์ จะโนภาษ และมาลี ณ นคร . 2538. "การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสะเดาไทย". หน้า 406-414. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33 สาขาพืช**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรีย์รัตน์ คิ้วฮก และกมลพรรณ นามวงศ์พรหม. 2534. "การเลี้ยงเนื้อเยื่อของสะเดา". หน้า 549-553. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์;กระทรวงเกษตรและสหกรณ์;กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการพลังงาน.

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2550. **ปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืช.** กรุงเทพฯ. โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อารีย์ วรัญญูวัฒน์. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักวิชาการเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์อักษรสรรค์.

อุบล สมทรง. 2556. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส้มซ่า**. วารสารเกษตรวรุณ ปีที่ 10 ฉบับที่ 1. คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี : หน้า 29-38.

เกษตรลุงคิม. 2558. **กระท้อน**. [Online]. Available : http://www.kasetloongkim.com/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=22&page=1

เว็บเพื่อพืชเกษตรไทย. 2558. **กระท้อน สรรพคุณ และการปลูกกระท้อน.** [Online]. Available : http://puechkaset.com

Ali, S. and Mirza, B. 2006. "Micropropagation of Rough Lemon (Citrus jambhiri Lush.) : Effect of Explant Type and Hormone Concentration." Acta Botanica Croatica. 65(2) : 137-146.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Azim, F. Rahman, M.M. Prodhan, S.H. Sikdar, S.U. Zobayer, N. and Ashrafuzzaman, M. 2011. "Development of Efficient Callus Initiation of Malta (Citrus sinensis) Through Tissue Culture." International Journal of Agricultural Research Innovation and Technology. 1(1-2) : 64-68.

Dodds, J.H. and Roberts, L.W. 1995. "Experiments in Plant Tissue Culture." 3rd ed., Cambridge University Press. 117-125.

ITIS. Sandoricum koetjape (Burm. f.) Merr.. [Online]. Available : http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=896503.

Normah M.N., Hamidah, S. and Ghani, F.D. 1997. "Micropropagation of Citrus halimii – an Endangered Species of South-east Asia." Plant Cell, Tissue and Organ Culture 50 : 225–227.

Puchooa. 2004. "In vitro Regeneration of Lychee (Litchi chinensis Sonn.)." African Journal of Biotechnology Vol. 3 (11) : 576-584.

Samarina, L.S. Kolomiets T.M. Baranova E.N. and Arutyunova, E.S. 2010. "Regeneration and Micropropagation of Lemon Cultivars in vitro from Nodal Explants." Russian Agricultural Sciences, 2010, Vol. 36, No. 6 : 417–420.

Singh, R. Rai, K. and Kumari, N. 2015. "Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in Sapindus mukorossi Gaertn. from Leaf Derived Callus Induced with 6-benzylaminopurine." Appl Biochem Biotechnology, 10 : 1210-1213.

Street, H.E. 1979. "Embryogenesis and Chemically Induced Organogenesis." Ohio University Press. 123-153.

Waghmare, V. and Pandhure, N. 2015. "Induction and Regeneration of Callus from Different Explants in Citrus reticulate BLANCO." International Journal of Current Research and Review. 7(13) : 84-88.

Werbrouck, S.P.O. Strnad, M. Onckelen, H.A.V. and Debergh, P.C. 1996. "Meta-topolin, an alternative to benzyladenine in tissue culture?." Physiologia Plantarum. 98(2) : 291-297.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Westhuizen, A.V.D. 2014. "The use of Meta-topolin as an alternative cytokinin in the tissue culture of Eucalyptus species." United States Department of Agriculture. 25-28.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ส่วนประกอบของสูตรอาหารสังเคราะห์ MS (Murashige and Skoog 1962)

สาร	ปริมาณสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)	สารละลายเข้มข้น (กรัม)	ปริมาตรที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
สารอาหารหลัก		**กรัม/1000 (10x)**	
NH_4NO_3	1650	16.5	100
KNO_3	1900	19.0	
$CaCl_2 . 2H_2O$	440	4.4	
$MgSO_4 . 7H_2O$	370	3.7	
KH_2PO_4	170	1.7	
สารอาหารรอง		**มิลลิกรัม/100 (100x)**	
$MnSO_4 . 4H_2O$	22.3	2230	1
$ZnSO_4 . 4H_2O$	8.6	860	
H_3BO_3	6.2	620	
KI	0.83	83	
$Na_2MoO_4 . 2H_2O$	1.25	125	
$CuSO_4 . 5H_2O$	0.025	2.5	
$CoCl_2 . 6H_2O$	0.025	2.5	
สารละลายเหล็ก		**กรัม/1000 (10x)**	
Na_2EDTA	37.3	3.73	10
$FeSO_4 . 7H_2O$	27.3	2.73	
วิตามิน		**มิลลิกรัม/100 (100x)**	
Glycine	2	0.2	1
Thiamine-HCl	0.1	0.01	
Nicotinic acid	0.5	0.05	
Pyridoxine-HCl	0.1	0.01	

ที่มา อารีย์, 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการเตรียมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. ชั่งส่วนประกอบต่างๆ ได้แก่ อาหารสังเคราะห์สูตร MS 4.43 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30.0 กรัมต่อลิตร แล้วนำมาละลายน้ำปริมาตรครึ่งหนึ่งของปริมาตรทั้งหมดที่ต้องการเตรียม
2. ปรับปริมาตรอาหารด้วยประบอกตวงตามปริมาตรอาหารที่ต้องการเตรียม
3. แบ่งอาหารใส่บีกเกอร์ตามจำนวนความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญที่ต้องการเตรียม
4. คำนวณปริมาตรของสารควบคุมการเจริญที่ต้องเติมลงในอาหารในแต่ละความเข้มข้น จากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

C_1 คือ ความเข้มข้นของจาก stock เริ่มต้น

C_2 คือ ความเข้มข้นของที่ต้องการเตรียม

V_1 คือ ปริมาตรที่ใช้

V_2 คือ ปริมาตรของอาหารทั้งหมด

เช่น จาก stock 2,4-D ที่ความเข้มข้น 500x

คำนวณจากสูตรข้างต้น $C_1 V_1 = C_2 V_2$

(500 มิลลิกรัมต่อลิตร)(V_1) = (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร)(150 มิลลิลิตร)

$$V_1 = \frac{(0.5 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร})(150 \text{ มิลลิลิตร})}{(500 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร})}$$

V_1 = 0.15 ลิตร

V_1 = 0.15x1000 = 150 ไมโครลิตร

5. ดูดสารควบคุมการเจริญจาก stock แล้วเติมลงในบีกเกอร์ แล้วจึงปรับปริมาตรอาหารด้วยกระบอกตวงตามปริมาตรอาหารที่ต้องการเตรียมในแต่ละความเข้มข้น
6. นำอาหารไปปรับ pH ของอาหารให้อยู่ระหว่าง 5.6-5.8
7. เติมวุ้น 2.6 กรัมต่อลิตรลงในอาหารในแต่ละบีกเกอร์ แล้วทำการละลายวุ้นด้วยไมโครเวฟนาน 1-2 นาที
8. แบ่งใส่ขวดแก้วที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปริมาตร 10-20 มิลลิลิตร
9. นำอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15-20 นาที
10. นำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อไปเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงนาน 2-3 วัน เพื่อสังเกตการปนเปื้อนในอาหารก่อนการนำไปใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้