สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมันเทศ

นางสาวจิรภา เกตุโกวิทย์
นายณภัทร เจียมจรรยง
นางสาวณัฐวดี เหล่าศิริลือชาไกล

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 67299
วัน,เดือน,ปี 22 พ.ย. 2549

.b.....
.i.....

โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A study on the optimization of tissue culture in sweet potato *Ipomoea batatas* (L.)

Miss Jirapa Ketgovit

Mr. Napat Jiamjanyong

Miss Nattawadee Laosirilurchakai

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of

Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมันเทศ

นักศึกษา นางสาวจิรภา เกตุโกวิทย์ รหัส 45050182
นายณภัทร เจียมจรรยง รหัส 45050196
นางสาวณัฐวดี เหล่าศิริลือชาไกล รหัส 45050199

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี	
กรรมการ ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม	
กรรมการ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)
หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมันเทศ

นักศึกษา นางสาวจิรภา เกตุโกวิทย์ รหัส 45050182

นายณภัทร เจียมจรรยง รหัส 45050196

นางสาวณัฐวดี เหล่าศิริลือชาไกล รหัส 45050199

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2548

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เลี่ยม

บทคัดย่อ

การเจริญเป็นแคลลัสของมันเทศจำนวน 7 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ พจ 95040-10 พจ 265-1 พจ226-24 พจ 226-31 พจ 206 ไข่ และกระต่าย ในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 วัน พบว่าสายพันธุ์ พจ 95040-10 ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสดีที่สุด สายพันธุ์ พจ 265-1 พจ 226-31 และกระต่าย ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด สำหรับสายพันธุ์ พจ 226-24 พจ 206 และไข่ ที่เติม 2,4-D 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส

แคลลัสมันเทศ 4 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ พจ 95040-10 พจ 265-1 ไข่ และกระต่าย มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มีแสง สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวได้ทุกสูตร และพบว่าสายพันธุ์กระต่ายที่ความเข้มข้นของ BA 1 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวได้มากที่สุด คือ 80 เปอร์เซ็นต์

แคลลัสมันเทศ 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ไข่และกระต่าย มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ zeatin 0.1 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรในที่มีแสง สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Project Title	A study on the optimization of tissue culture in sweet potato *Ipomoea batatas* (L.)
Name	Miss Jirapa Ketgovit
	Mr. Napat Jiamjanyong
	Miss Nattawadee Laosirilurchakai
Department	Applied Biology
Academic Year	2005
Project Advisor	Assist. Prof. Dr. Anurug Pocaim

Abstract

Callus formation from sweet potato that were obtained from 7 cultivars PJ 95040-10, PJ 265-1, PJ 226-24, PJ 226-31, PJ 206, Kai and Kratai were cultured on MS medium supplemented with 0.5, 1, 3 and 5 mg/l of 2,4-D. Explants were incubated in the dark at 25-28 °C for 42 days. The explants from PJ 95040-10 that were cultured on 2,4-D 1 mg/l were produced the best result in callus formation. The explants from PJ 265-1, PJ 226-31 and Kratai that were cultured on 2,4-D 0.5 mg/l were produced the highest callus formation. The explants from PJ 226-24, PJ 206 and Kai that were cultured on 2,4-D 0.5 and 1 mg/l were produced the best of callus formation.

Callus of PJ 95040-10, PJ 265-1, Kai and Kratai were subcultured onto MS medium supplemented with varying levels (1, 2, 3, 4 and 5 mg/l) of BA. The cultures were maintained under 16 hours photoperiod. All of the treatments resulted in the purple and green spot of callus. The best treatments for the cultivar Kratai to produce purple and green spot were 1 and 4 mg/l of BA at 80%.

Callus of Kai and Kratai were subcultured onto MS medium supplemented with varying levels (0.1, 0.5 and 1 mg/l) of zeatin and BA 1 mg/l. The cultures were maintained under 16 hours photoperiod. All of the treatments resulted in the highest purple and green spot of callus regeneration.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่ได้ให้คำแนะนำ คำปรึกษาในการค้นคว้าวิจัย การทำงาน ความเอาใจใส่ดูแลในการทำโครงงาน และตรวจทานการเขียนโครงงานฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี และ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ที่ให้คำแนะนำและตรวจทานโครงงานฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ นรินทร์ พูลเพิ่ม ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร ที่อนุเคราะห์มันเทศสายพันธุ์พิจิตร สำหรับใช้ในการศึกษาโครงงานพิเศษครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ พร้อมทั้งบุคลากรในภาควิชาที่เอื้ออำนวยอุปกรณ์ และเงินทุนสนับสนุนจนทำให้สามารถดำเนินโครงงานพิเศษนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ๆ เพื่อนๆและน้องๆที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้จนโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นางสาวจิรภา เกตุโกวิทย์
นายณภัทร เจียมจรรยง
นางสาวณัฐวดี เหล่าศิริลือชาไกล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II
กิตติกรรมประกาศ.....III
สารบัญ.....IV
สารบัญตาราง.....V
สารบัญรูป.....VII
บทที่ 1 บทนำ.....1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง.....3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....22
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....28
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง..... 68
เอกสารอ้างอิง..... 69
ภาคผนวก.....71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงสูตรอาหาร MS และองค์ประกอบต่างๆ	25
2	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10	36
3	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10	37
4	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10	38
5	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206	39
6	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206	40
7	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206	41
8	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31	42
9	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31	43
10	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31	44
11	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ไข่	45
12	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ไข่	46
13	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ไข่	47
14	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์กระต่าย	48
15	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์กระต่าย	49
16	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์กระต่าย	50
17	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1	51
18	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1	52
19	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1	53
20	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24	54
21	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24	55
22	แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24	56
23	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสของมันเทศสายพันธุ์ พจ95040-10 ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	59
24	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

25 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสของมันเทศสายพันธุ์ไข่ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....63

26 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสของมันเทศสายพันธุ์กระต่ายที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงลักษณะของต้นมันเทศและหัวมันเทศ	3
2	แสดงส่วนปลายยอดของลำต้น	13
3	แสดงส่วนปลายราก	13
4	แสดงส่วนของเนื้อเยื่อเจริญในท่อลำเลียง	14
5	แสดงส่วนของเปลือกชั้นใน	14
6	แสดงส่วนไส้ของพืช	15
7	แสดงขั้นตอนการพัฒนาของเอ็มบริโอจินีซิส	20
8	แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	29
9	แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206 ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	30
10	แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	31
11	แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆของมันเทศสายพันธุ์ ไข่ ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	32
12	แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆของมันเทศสายพันธุ์ กระต่าย ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	33
13	แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆของมันเทศสายพันธุ์ 265-1 ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	34
14	แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

15 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....36

16 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ5 มิลลิกรัมต่อลิตร....37

17 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....38

18 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....39

19 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส จากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....40

20 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....41

21 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....42

22 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....43

23 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

24 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ไข่ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัม ต่อลิตร....45

25 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ ไข่บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัม ต่อลิตร....46

26 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ ไข่บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัม ต่อลิตร....47

27 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ กระต่ายบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....48

28 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ กระต่ายบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....49

29 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ กระต่าย บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....50

30 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....51

31 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....52

32 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร....53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

33 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 54

34 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 55

35 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 56

36 แสดงการเปรียบเทียบแคลลัสสายพันธุ์ พจ 95040-10 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 58

37 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 59

38 แสดงการเปรียบเทียบแคลลัสสายพันธุ์ พจ 265-1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 60

39 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 61

40 แสดงการเปรียบเทียบแคลลัสสายพันธุ์ไข่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 62

41 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสมันเทศสายพันธุ์ไข่ ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 63

42 แสดงการเปรียบเทียบแคลลัสสายพันธุ์กระต่าย เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

43 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสมันเทศสายพันธุ์กระต่าย ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....65

44 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่เจริญมาจากมันเทศสายพันธุ์ไข่ ที่เพาะเลี้ยง ในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ zeatin ที่มีปริมาณแตกต่างกัน คือ 0.1 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร.....66

45 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่เจริญมาจากมันเทศสายพันธุ์กระต่าย ที่เพาะเลี้ยง ในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัม ต่อลิตร และ zeatin มีปริมาณแตกต่างกัน คือ 0.1 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร.....67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

มันเทศเป็นพืชที่ปลูกง่าย ปลูกได้ในดินแทบทุกชนิด แต่ดินที่เหมาะสมที่สุดเป็นดินร่วนปนทรายที่มีการระบายน้ำดี ประเทศไทยสามารถปลูกมันเทศได้ทั่วทุกภาค และปลูกได้ตลอดปี โดยเฉพาะฤดูการทำนา เกษตรกรเก็บเกี่ยวข้าวแล้วจะไถพื้นที่ปลูกมันเทศ โดยไม่มีการรดน้ำ อาศัยน้ำค้างในเวลากลางคืนเท่านั้น มันเทศก็จะลงหัวและเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ จึงเป็นพืชหลังนาที่ใช้น้ำน้อย และน่าสนใจพืชหนึ่ง แหล่งปลูกมันเทศเพื่อการค้าที่สำคัญของไทย อยู่ที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ พิจิตร กาฬสินธุ์ ขอนแก่น นครราชสีมา บุรีรัมย์ เลย สุรินทร์ อุดรธานี อุบลราชธานี พระนครศรีอุธยา ตราด ระยอง สระแก้ว ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครศรีธรรมราช ปัตตานี สงขลา สุราษฎร์ธานี พัทลุง ในปีเพาะปลูก 2546/47 มีพื้นที่ปลูกมันเทศทั่วประเทศ รวม 30,905 ไร่ มีปริมาณผลผลิต 56,432 ตัน เฉลี่ยผลผลิต 1.82 ตัน/ไร่ มันเทศที่ปลูกในประเทศไทยมีการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการบริโภค ประกอบอาหาร คาวหวาน เป็นหลัก แต่ในต่างประเทศ เช่น ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ฟิลิปปินส์ อเมริกาใต้บางประเทศ มีการพัฒนาทำธุรกิจแปรรูปมันเทศเพื่อทำเป็นแป้งมันเทศ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทำเป็นเส้นก๋วยเตี๋ยวมันเทศ ทำเป็นส่วนผสมอาหารเด็ก ทำเป็นแอลกอฮอลล์ ทำเป็นสุรา ตลอดจนใช้เป็นอาหารว่างประเภทขนมขบเคี้ยวต่างๆมากมาย ในประเทศไทยเกษตรกรเก็บเกี่ยวผลผลิตมันเทศได้ระหว่างช่วงเดือนกุมภาพันธ์จนถึงกรกรฎาคมจะได้ราคาที่ค่อนข้างดี

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 หาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนของใบ ลำต้น และก้านใบ ของ มันเทศให้เป็นแคลลัส

1.2.2 หาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้กลายเป็นต้นใหม่

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

หาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงใบ ลำต้นและก้านใบของมันเทศเพื่อชักนำให้เกิดเป็นแคลลัส หาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดการพัฒนาเป็นต้นใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน

1.4.1 หาสูตรอาหารที่เหมาะสมในชักนำใบ ลำต้นและก้านใบของมันเทศ ให้เป็นแคลลัสที่เหมาะสม โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยระดับความเข้มข้นของสารควบคุมเจริญเติบโตเช่น 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

1.4.2 หาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้กลายเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์โดยการเพาะเลี้ยงแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยระดับความเข้มข้นของสารควบคุมเจริญเติบโต เช่น BA และ zeatin

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 เป็นแหล่งข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงแคลลัส และการพัฒนาแคลลัสของมันเทศให้เป็นต้นใหม่

1.5.2 เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์มันเทศในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

มันเทศ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ipomoea batatas* (L.) Lam. ชื่อวงศ์ Convolvulaceae ชื่อสามัญ Sweet Potato เป็นไม้ล้มลุกมีหัวใต้ดินอาจมีสีแดงม่วง ส้มนวลและขาวรูปกระสวย หรือหัวยาว ลำต้นเลื้อยบนดินหรือตั้งตรงสูง 1-5 เมตร (รูปที่ 1) ค่อนข้างเป็นเหลี่ยมหรือทรงกระบอก มียางขาว ใบรูปไข่กว้างหรือรูปกลม ขอบเรียงหรือจักเป็นแฉกมี 3-5 แฉก โคนใบรูปหัวใจหรือตัดผิวใบทั้งสองด้านเกลี้ยงหรือมีขนกระจาย ดอกออกเป็นช่อตามง่ามใบ ก้านช่อตอกแข็ง ผลแห้งรูปไข่มี 4 ช่องหรือน้อยกว่า เมล็ดเกลี้ยงขนาดเล็ก

มันเทศจะให้สารอาหารที่สำคัญจำนวนมาก เช่น ascorbic acid riboflavin iron calcium anthocyanin และ protein (Guohua และคณะ, 2005 ; Prakash C.S., 1994) นอกจากนี้ มันเทศยังอุดมไปด้วย ß-carotene ซึ่งเป็นสารอาหารที่ช่วยป้องกันมะเร็ง ส่วนหัวสามารถนำมา ปรุงอาหาร เช่น แกงเลียง แกงคั่ว มันเชื่อม ชงน้ำดื่มแก้กระหาย บำรุงม้าม ไต แก้เมาคลื่น มันเทศรังนก ทำไส้ขนมต่างๆ น้ำคั้นจากหัวทาแก้แผลไฟไหม้ ส่วนใบ ตำพอกฝี ต้มดื่ม แก้ไขข้ออักเสบ ทั้งต้นและหัว มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในด้านอุตสาหกรรม มีการสกัดแป้งมันเทศเป็นส่วนผสมของอาหารเด็ก และกาว เป็นต้น นอกจากนี้มันเทศยังใช้เป็นอาหาร สัตว์ได้หลายชนิด เช่น สุกร วัว ควาย กระต่าย เป็ด ไก่ และปลา เป็นต้น

รูปที่ 1 แสดงลักษณะของต้นมันเทศและหัวมันเทศ

ที่มา : http://www.organicconnection.net/images/sweet%20potato.jpg

Prakash C.S. (1994) กล่าวว่า มันเทศมีถิ่นกำเนิดทางตอนใต้ของอเมริกา จากหลักฐานทางประวัติศาสตร์ของประเทศเปรู มันเทศเป็นพืชที่สามารถเจริญได้ในหลายสภาวะ ทั้งในสภาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ดินมีไนโตรเจนน้อย สภาวะแห้งแล้ง ในบริเวณที่มีวัชพืชหนาแน่น และทนต่อแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด ในประเทศเปรู The International Potato Center (CIP) ซึ่งเป็นแหล่งรวบรวมสายพันธุ์ต่างๆของมันเทศประมาณ 4000 สายพันธุ์ The Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC) ในประเทศไต้หวัน และ The Agricultural Research Service of the United States Departments of Agriculture (ARS/USDA) ก็ได้เก็บรวบรวมสายพันธุ์ต่างๆของมันเทศไว้เช่นเดียวกันแต่จะมีจำนวนน้อยกว่า โดยทั้ง 3 แห่งนี้จะเก็บรวบรวมสายพันธุ์ของมันเทศไว้ในหลอดทดลอง

สำหรับประเทศไทย สายพันธุ์มันเทศแบ่งตามอายุการเก็บเกี่ยวได้ 3 ชนิด คือ

- พันธุ์เบา อายุประมาณ 90 วัน หลังจากปลูกจนถึงเก็บเกี่ยว เช่น พันธุ์พิจิตร 1 พจ 113-7, พจ 115-1 และ พจ 166-5
- พันธุ์กลาง อายุประมาณ 120 วัน หลังจากปลูกจนถึงเก็บเกี่ยว เช่น พันธุ์แม่โจ้ และพันธุ์ห้วยสีทน
- พันธุ์หนัก อายุประมาณ 150 วัน หลังจากปลูกจนถึงเก็บเกี่ยว เช่น พันธุ์โอกุด (เกษตร)

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมันเทศ โดย Otani และ คณะ (1987) ได้ศึกษาเรื่องการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์จากส่วนของใบมันเทศ โปรโตพลาสต์ที่แยกได้จะเริ่มแบ่งตัวภายในเวลา 3 วันหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร N_6 โปรโตพลาสต์สามารถเจริญเป็นกลุ่มโคโลนีภายใน 30 วัน จากนั้น ย้ายโคโลนีเหล่านี้ลงในอาหารแข็ง พบว่า โคโลนีเหล่านี้จะเจริญอย่างรวดเร็วและเปลี่ยนแปลงไปเป็นแคลลัสได้ และแคลลัสบางส่วนย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสามารถที่จะชักนำให้เกิดเป็นรากได้

Dessai และคณะ (1995) ได้ทำการศึกษาการเจริญเป็นต้นใหม่ของมันเทศจำนวน 27 สายพันธุ์จากชิ้นส่วนของใบ การเจริญเป็นต้นใหม่นั้นประกอบด้วย 2 ขั้นตอน โดยในขั้นตอนแรกอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Murashige and skoog (1962) ที่ประกอบด้วย myoinositol 100 มิลลิกรัมต่อลิตร thiamine-HCl 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ 2,4-D 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการเติม zeatin 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือไม่มีการเติม เพื่อศึกษาว่า zeatin มีส่วนในการเจริญเป็นต้นใหม่ได้หรือไม่ โดยศึกษาจาก 5 สายพันธุ์ พบว่า การเติม zeatin ในอาหารจะลดความถี่ของการเจริญเป็นต้นใหม่ ในขั้นตอนที่ 2 จะย้ายลงสู่อาหารที่มี zeatin 0.2-0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสายพันธุ์ Beauregard และ Regal จะมีการเจริญเป็นต้นใหม่เพิ่มขึ้น ส่วนสายพันธุ์ PI 531143 และ PI 318846-3 ไม่แสดงถึงการเปลี่ยนแปลง ในขณะที่สายพันธุ์ Jewel แสดงออกถึงการเจริญเป็นต้นใหม่ที่ลดลง พบว่า ความถี่สูงสุดของการเกิดรากมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ในสายพันธุ์ PI 318846-3 ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 วันและย้ายลงสู่อาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย zeatin 0.2 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อลิตร จากการศึกษาทั้งหมด 27 สายพันธุ์ พบว่า 19 สายพันธุ์ แสดงออกถึงความถี่ของการเจริญเป็นต้นใหม่ในระดับสูง และ 8 สายพันธุ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

Murata และคณะ (1989) ศึกษาการเพาะเลี้ยงปลายยอดของมันเทศสายพันธุ์ Kokei No.14 และ Koganesengan ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เป็นต้นแล้วย้ายออกปลูกในแปลงได้ใน 90 วัน

Murata และคณะ (1991) ศึกษาการเพาะเลี้ยงลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ Kokei No.14 ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ วุ้น 8 กรัมต่อลิตร จากนั้นย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่ประกอบด้วยความเข้มข้นของ IAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและ วุ้น 8 กรัมต่อลิตร ประมาณ 6 เดือน สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้

Murata และคณะ (1993) ศึกษาการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรตัวผู้ ของมันเทศ 10 สายพันธุ์ ในอาหาร MS ที่ประกอบด้วย IAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร KIN 2 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร และใช้วุ้น 8 กรัม สามารถชักนำให้เกิด แคลลัสได้ และเมื่อย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS สามารถชักนำให้เป็นต้นได้ ในสายพันธุ์ FV62-41 และ Chugoku No.25

Murata และคณะ (1994) ศึกษาการการแยกโปรโตพลาสต์จากมันเทศสายพันธุ์ Chugoku No. 25 จากส่วนของปลายยอดที่เจริญในหลอดทดลองหลังจากเพาะเลี้ยงได้ในอาหารสูตร KM8p ที่ประกอบด้วย MS zeatin 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำทำให้เกิดกลุ่มเซลล์ จากนั้นย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย KIN 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และวุ้น 2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (รังสฤษฎ์, 2540)

ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีบทบาทอย่างมากทั้งในด้านวิทยาศาสตร์พื้นฐาน เกษตรกรรม การแพทย์ และอุตสาหกรรม ซึ่งจำแนกได้อย่างกว้างๆ ดังนี้

1. การขยายพันธุ์พืชปริมาณมากในระยะเวลาสั้น โดยอาศัยสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดสามารถเพิ่มจำนวนต้นพืชเป็นทวีคูณ จากตัวอย่างการเลี้ยงพืชเพียงต้นเดียวและย้ายเนื้อเยื่อเดือนละครั้ง หากสามารถเพิ่มจำนวนได้เป็น 10 ต้นแล้ว ในระยะเวลาเพียง 6 เดือน จะสามารถผลิตต้นพืชได้ถึง 1,000,000 ต้น

2. การผลิตพืชที่ปราศจากโรค ปัญหาสำคัญประการหนึ่งในการผลิดพืชคือ การเกิดโรคโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไมโครพลาสมา ที่ติดมากับเมล็ดหรือส่วนขยายพันธุ์ต่างๆ ต้นพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อโรคเหล่านี้หากไม่แสดงอาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้เห็นจะทราบได้ต่อเมื่อเกิดอาการเป็นโรคบนต้นพืชที่ได้ปลูกไปแล้ว เมื่อถึงเวลานั้นก็ยากที่จะแก้ไขหรือป้องกันนอกจากกำจัดหรือทำลายพืชนั้นทิ้งไป การใช้สารเคมีคลุกเมล็ดหรือส่วนขยายพันธุ์ก่อนปลูกแม้จะช่วยลดปริมาณเชื้อที่อาจติดมากับผิวของวัสดุปลูกได้ แต่ไม่อาจใช้ได้ผลดีในกรณีการปนเปื้อนของเชื้อโรคที่ติดมาภายในเซลล์พืชได้ การผลิตพืชโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่จะให้ต้นพืชที่ปราศจากโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากเชื้อราและแบคทีเรีย เพราะหากมีเชื้อเหล่านี้แล้วจะแสดงอาการปนเปื้อนในอาหารที่ใช้เลี้ยงทันที เนื่องจากแบคทีเรียและราเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในอาหารที่ใช้เลี้ยง ทำให้สามารถกำจัดทิ้งได้ ส่วนในกรณีของไวรัสซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กมาก และดำรงชีวิตอยู่ได้ในเซลล์พืช จึงมักไม่แสดงอาการปนเปื้อนให้เห็นแม้โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็ตาม ในทางปฏิบัติจะต้องคัดเลือกและตรวจสอบเนื้อเยื่อก่อนการเลี้ยงจนแน่ใจว่าปลอดจากเชื้อไวรัส ชิ้นส่วนของพืชที่ปลอดภัยจากเชื้อไวรัสมากที่สุดคือ เนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอด (apical meristem) และเนื้อเยื่อของคัพภะ (embryonic tissue) ที่อยู่ในเมล็ด เนื่องจากเนื้อเยื่อดังกล่าวไม่มีส่วนของท่อลำเลียง (vascular tissue) ซึ่งได้แก่ท่อน้ำ (xylem) และท่ออาหาร (phloem) ที่ติดต่อกับส่วนอื่นๆของต้นพืชที่เชื้อไวรัสจะสามารถเคลื่อนย้ายมาปนเปื้อนได้

3. การปรับปรุงพันธุ์พืช ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนทาน (tolerant plant) หรือสายพันธุ์ที่ต้านทาน (resistant plants) ได้จากการจัดเงื่อนไขของอาหารและสภาวะแวดล้อมของการเลี้ยง หรือชักนำการกลายพันธุ์ (induced mutation) โดยใช้รังสี หรือสารเคมี เช่น การคัดเลือกสายพันธุ์พืชทนเค็มจากการเลี้ยงเซลล์หรือเนื้อเยื่อในอาหารที่มีส่วนผสมของเกลือ การคัดสายพันธุ์ทนดินเปรี้ยวจากการเลี้ยงในอาหารที่มีสภาพเป็นกรด การคัดสายพันธุ์ทนร้อนโดยเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิสูง การสร้างสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อสารพิษของโรค แมลง และสารเคมีกำจัดวัชพืช นอกจากนั้น จากความก้าวหน้าของเทคโนโลยีการดัดต่อดีเอ็นเอ (DNA recombination) และการถ่ายยีน (gene transformation) ยังเปิดโอกาสให้ใช้ประโยชน์ในการสร้างพืชสายพันธุ์ใหม่ (transgenic plant) ที่ต้องการในพืชบางชนิด

4. การผลิตยาและสารเคมีจากพืช พืชบางชนิดให้สารที่มีคุณสมบัติเป็นยา หรือสารเคมีที่มีประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรม แต่ในบางกรณี เนื้อเยื่อที่นำมาสกัดสารดังกล่าวมีปริมาณที่น้อยมาก จึงต้องใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวน และชักนำให้มีการสังเคราะห์สารที่ต้องการในปริมาณมากขึ้น

5. การศึกษาทางชีวเคมี สรีรวิทยา และพันธุศาสตร์ พืชที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สามารถติดตามการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงในด้านเหล่านี้ได้ง่าย ชัดเจน และถูกต้องแม่นยำทั้งในระดับเซลล์ เนื้อเยื่อ อวัยวะ และพืชทั้งต้น เช่น การศึกษาการตอบสนองของเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืช สารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืช สารควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตของพืช และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชที่เกิดการกลายพันธุ์ เป็นต้น เนื่องจากการควบคุมตัวแปรต่างๆทำได้ดีกว่าในสภาพการปลูกปกติ

6. การเก็บรักษาพันธุ์พืช ในปัจจุบัน พืชพรรณหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุ์พืชที่หายากและมีคุณค่าทางประวัติศาสตร์หลายชนิดได้สูญพันธุ์ไป หรือกำลังจะสูญพันธุ์ไปในไม่ช้า สาเหตุสำคัญอาจมาจากการเปลี่ยนแปลงทางสภาพแวดล้อม หรือเกิดจากการกระทำของมนุษย์เอง นอกจากนั้นพืชบางชนิดยังยากที่จะขยายพันธุ์หรือเก็บรักษาพันธุ์ได้โดยวิธีปกติ ซึ่งอาจต้องใช้ระยะเวลาที่นานและไม่คุ้มค่า นักเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงได้คิดค้นวิธีเก็บรักษาพืชพรรณต่างๆไว้ในสภาพหลอดทดลอง โดยเลี้ยงไว้ในอาหารที่มีส่วนผสมของสารบางชนิดที่มีผลต่อการชะลอการเจริญเติบโต หรือมีสารที่ทำให้เกิดสภาพขาดน้ำ (water stess) เพื่อชักนำให้พืชมีการเจริญเติบโตในอัตราที่ช้ามากๆ เป็นการประหยัดเวลา แรงงาน ค่าใช้จ่าย และสามารถคงสภาพและมีชีวิตได้ยาวนาน เนื่องจากไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนอาหารบ่อยครั้งเช่นปกติ อีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายคือ เก็บรักษาเซลล์หรือเนื้อเยื่อในไนโตรเจนเหลวที่มีอุณหภูมิต่ำถึง -196 องศาเซลเซียส ซึ่งเมื่อต้องการปลูกหรือเพิ่มปริมาณ ก็นำมาเลี้ยงในอาหารสูตรปกติของพืชนั้นๆ

ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เพื่อความสะดวกในการใช้และการปฏิบัติงาน เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงควรที่จะจัดให้อยู่ในบริเวณที่เหมาะสม ซึ่งจะจัดแบ่งอุปกรณ์ออกเป็น 3 กลุ่ม ดังต่อไปนี้

1. ห้องเตรียมอาหาร ควรมีอุปกรณ์ ดังนี้
   - เครื่องชั่ง (balance)
   - ช้อนตักสารเคมี (spatula)
   - เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter)
   - เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน (hot plate and magnetic stirrer)
   - เตาอบไมโครเวฟ (microwave oven)
   - ตู้เย็น (refrigelator)
   - เตาอบความร้อน (hot oven)
   - หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
   - เยื่อกรอง (millipore filter)
   - เครื่องแก้วต่างๆ เช่น หลอดทดสอบ (test tube) ขวดขนาดต่างๆ (bottle) ขวดรูปชมพู่ (flask) ปิเปต (pipette) กรวยแก้ว (funnel) และแท่งแก้วคน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ห้องย้ายเนื้อเยื่อ ควรมีอุปกรณ์ ดังนี้
   - ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar air-flow cabinet)
   - กล้องจุลทรรศน์ (microscope)
   - ตะเกียงแอลกอฮอล์ (bunsen burner)
   - กระดาษกรอง (filter paper)
   - จานแก้ว (petri dish)
   - เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
   - มีดผ่าตัดแบบต่างๆ (knives and scalpel)
   - ปากคีบ (forcep)
   - อุปกรณ์อื่นๆ เช่น เข็มเขี่ย (loop)

3. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ควรมีอุปกรณ์ ดังนี้
   - เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (temperature controlled)
   - ชั้นสำหรับวางขวดเนื้อเยื่อ
   - ตัวตั้งเวลา (timer)
   - เครื่องเขย่า (shaker or rotator)

ธาตุอาหารและอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมต่อชนิดของพืชพันธุ์ ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืช (explant) ที่จะนำมาเลี้ยง อย่างไรก็ตามที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุดคืออาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส ซึ่งเป็นกลุ่มของเซลล์ที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนา (differentiated) มีช่องว่าในเซลล์จำนวนมาก (highly vacuolated) และเซลล์ยังไม่มีการจัดรูปร่างที่แน่นอน (unorganized) ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัส (callus culture) และเซลล์แขวนลอย (cell-suspension culture) ของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากส่วนอื่นๆ แคลลัสเหล่านี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารกึ่งแข็ง (semi-solid medium) ที่อย่างน้อยที่สุดประกอบด้วยเกลือของธาตุอาหารที่ต้องการครบคือ สารประกอบอนินทรีย์ (inorganic substances หรือ inorganic salts) และสารประกอบอินทรีย์ (organic substances) ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง

แม้พืชทั้งต้นจะมีความต้องการขั้นพื้นฐานในการเจริญเติบโตไม่ซับซ้อนมากนักก็ตาม แต่การนำชิ้นส่วนของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์นั้น มีความต้องการธาตุอาหารและสารบางอย่างที่จำเป็นที่มีความซับซ้อนมากกว่า และมีลักษณะเป็น seldom autotrophic กล่าวคือ ต้องใช้ทั้ง มหาธาตุและจุลธาตุที่ใช้ตามปกติในการเลี้ยงพืชในสารละลาย (hydropronic culture)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนั้น ยังต้องการธาตุอาหารอื่นๆ เช่น แหล่งของธาตุคาร์บอน และวิตามิน ปกติแล้วเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชที่แยกออกมาเลี้ยงจะต้องการวิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) ต่างๆ ซึ่งปกติสังเคราะห์ได้เองจากส่วนหนึ่งของต้นเพื่อไปสะสมไว้ยังอีกส่วนหนึ่งของต้นพืชแล้วเคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่นๆ เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม อย่างไรก็ตามผลของแต่ละสารประกอบที่จำเป็นนี้ยังไม่เป็นที่ทราบชัดสมบูรณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึม เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารที่ใช้มักถูกดัดแปลงไปตามความมุ่งหมาย เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงพัฒนาเพื่อกำเนิดอวัยวะ (organogenesis) และการกำเนิดคัพภะ (embryogenesis) จึงทำให้ยากต่อการหาข้อสรุปพื้นฐานที่สอดคล้องไปในทางเดียวกันได้โดยง่าย อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปแล้ว สามารถจำแนกสารเหล่านี้เป็นกลุ่มๆได้ดังนี้

1. ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์ (inorganic substances) ประกอบด้วย
   - 1.1 ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณมาก (macro-elements/nutrients) ได้แก่ C H O N P K Ca Mg และ S
   - 1.2 ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณน้อย (micro-elements/nutrients) ได้แก่ Fe Mn Cu Zn B Cl และ Mo
2. ธาตุอาหารพวกอินทรีย์ (organic substances) ประกอบด้วย
   - 2.1 วิตามิน (vitamin) ที่ใช้กันมากได้แก่ thiamine nicotinic acid pyridoxine inositol biotin panthothenic acid folic acid choline chloride riboflavin และ ascobic acid
   - 2.2 ฮอร์โมน และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant hormones และ plant growth regulators) ได้แก่

2.2.1. สารในกลุ่มออกซิน (auxin) ในธรรมชาติฮอร์โมนกลุ่มนี้เกี่ยวข้องกับการยืดของลำต้นและปล้อง การโค้งเข้าหาสิ่งเร้า การยับยั้งการเจริญของตาข้าง การหลุดร่วงของใบ ดอกและผล การเกิดราก เป็นต้น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้มีการนำเอาออกซินไปใช้ในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเกิดราก ออกซินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีดังนี้

- indole-3-acetic acid (IAA)
- indole butyric acid (IBA)
- napthaleneacetic acid (NAA)
- 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
- 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T)

อย่างไรก็ตามออกซินที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายได้แก่ IBA และ NAA เพื่อการกระตุ้นให้เกิดราก และใช้ร่วมกับไซโตไคนินเพื่อการเจริญของต้น ส่วน 2,4-D และ 2,4,5-T มีผลต่อการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้ดี โดยทั่วไปการละลายออกซินใช้แอลกอฮอล์ (ethanol) หรือ NAOH เจือจางเป็นตัวทำละลาย

2.2.2. สารในกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinin) ฮอร์โมนกลุ่มนี้มีผลต่อการแบ่งเซลล์ ช่วยการเจริญของตาข้าง

- N_6-Benzyladenine (BA)
- kinetin
- zeatin
- N_6-isopentenyl adenine (2iP)

2.2.3. สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆ เช่น

- giberellic acid (GA)
- paclobutrazol
- abscissic acid (ABA)
- daminozide
- picloram

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเหล่านี้มีคุณสมบัติแตกต่างกัน จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายและเก็บรักษาในสภาวะที่เหมาะสม เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพ

2.3 สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon sources) ได้แก่ สารประกอบพวกน้ำตาลต่างๆ เช่น กลูโคส ซูโครส ฟรุกโตส แซคคาโรส และแมนนิทอล

2.4 กรดอะมิโน (amino acids) ได้แก่ glutamine asparagines adenine glycine และ casein hydrolysate

2.5 สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว สารสกัดจากยีสต์ น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำคั้นมะเขือเทศ กล้วยหอมบด และจากมอลท์สกัด

แม้พืชทุกชนิดโดยปกติต้องการธาตุอาหารหลักที่เหมือนกัน แต่จะต้องการในปริมาณความเข้มข้นที่ต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช มีความต้องการที่แตกต่างกันอย่างมาก ดังนั้น การเลี้ยงอาหารเพื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นควรคำนึงถึง

1. ชนิดและสายพันธุ์ (species and cultivars) พืชต่างชนิดและต่างสายพันธุ์ ส่วนใหญ่มักต้องการธาตุอาหารที่ไม่เหมือนกัน

2. อายุและระยะการพัฒนา (age and stage of development) แม้เป็นพืชชนิดและสายพันธุ์เดียวกัน ถ้าอายุและระยะการพัฒนาต่างกัน ก็อาจต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ชนิดของชิ้นส่วนพืช (explant materials) พืชชนิดเดียวกัน หรือแม้กระทั่งต้นเดียวกัน แต่ใช้ชิ้นส่วนของพืชจากส่วนต่างๆ เช่น ใช้ส่วนยอดมาเลี้ยงจะต้องใช้สูตรอาหารสูตรหนึ่งที่แตกต่างไปจากสูตรที่ใช้เลี้ยงชิ้นส่วนของรากหรือใบ

4. เป้าหมายของการเพาะเลี้ยง (target of culture) พืชชนิดเดียวกันและชิ้นส่วนเดียวกัน แต่มีเป้าหมายของการเลี้ยงที่แตกต่างกัน จำเป็นต้องใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกันด้วย เช่น ต้องการเลี้ยงให้เกิดเป็นยอดก็ใช้อาหารสูตรหนึ่งที่แตกต่างไปจากสูตรที่ต้องการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสหรือเกิดราก

5. สถานะของอาหาร (state of media) ชิ้นส่วนพืชเดียวกันที่เลี้ยงในอาหารแข็ง อาจได้ผลที่แตกต่างไปจากการเลี้ยงในอาหารเหลวหรืออาหารกึ่งแข็ง

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

เนื่องจากอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อแต่ละสูตร ประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิดซึ่งมีคุณสมบัติและข้อจำกัดแตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องจัดแบ่งสารเหล่านี้ออกเป็นกลุ่ม ด้วยเหตุผลคือ

1. สารเคมีบางชนิดใช้ในปริมาณที่น้อยมาก เช่น $CoCl_2$ $CuSO_4$ thiamine-HCl และ H_3BO_3 เป็นต้น ทำให้ต้องใช้เครื่องชั่งที่มีความละเอียดมากๆ และอาจมีความคลาดเคลื่อนได้ง่าย ดังนั้นในทางปฏิบัติจะใช้วิธีเตรียมเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงกว่าที่ใช้จริงหลายๆเท่า (ประมาณ 50-1,000 เท่า) ซึ่งทำให้เตรียมได้ง่ายขึ้น และเรียกสารละลายที่เตรียมได้นี้ว่า stock solution

2. สารเคมีบางชนิด อาจทำปฏิกิริยาเคมีกับสารอื่นเกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ต้องการหรือเป็นพิษ ดังนั้นในแต่ละกลุ่มของสารละลายเข้มข้น (stock solutions) จึงต้องเป็นสารที่อยู่ร่วมกันได้

3. สารเคมีบางชนิด หากอยู่ร่วมกับสารอื่นๆจะไม่ละลาย ละลายได้เล็กน้อย หรือละลายได้ไม่หมด จึงจำเป็นต้องแยกกลุ่มออกต่างหาก

ขั้นตอนการเตรียมอาหาร

1. ดูดสารละลายจาก stock solution ต่างๆมารวมกัน โดยใช้ปริมาตรที่คำนวณไว้

2. เติมสารที่เป็นแหล่งคาร์บอน คือ น้ำตาลซูโครส แต่อาจดัดแปลงใช้กลูโคส หรือฟรุกโตส แล้วแต่สูตรอาหารที่ใช้

3. เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือสารเคมีอื่นๆตามความต้องการของสูตรอาหาร

4. ปรับปริมาตรสารละลายอาหารให้ได้ครบตามที่ต้องการเตรียม

5. ปรับค่าความเป็นกรดและด่าง ด้วยกรดเกลือ (HCl) และโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ให้ได้ประมาณ 5.5-5.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

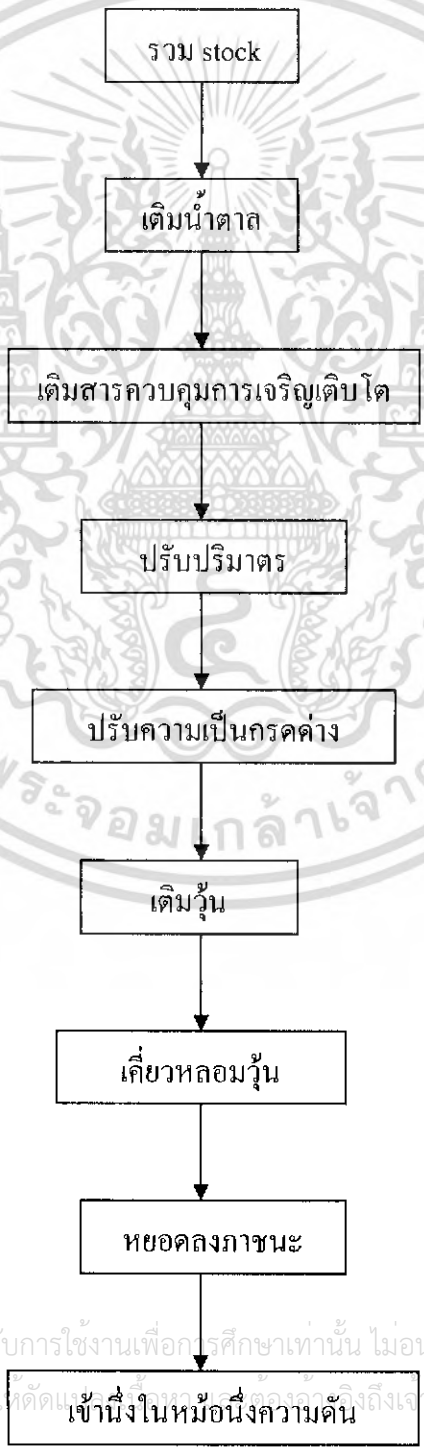
6. เติมวุ้น ในกรณีเตรียมอาหารแข็งหรือกึ่งแข็ง

7. เคี่ยวอาหารเพื่อหลอมละลายวุ้น

8. เทอาหารลงในภาชนะที่จะใช้เลี้ยง เช่น ขวด หลอดทดสอบ และจานเพาะเลี้ยง เป็นต้น

9. นำภาชนะอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที แล้วทิ้งให้เย็นลง

สรุปขั้นตอนการเตรียมอาหาร

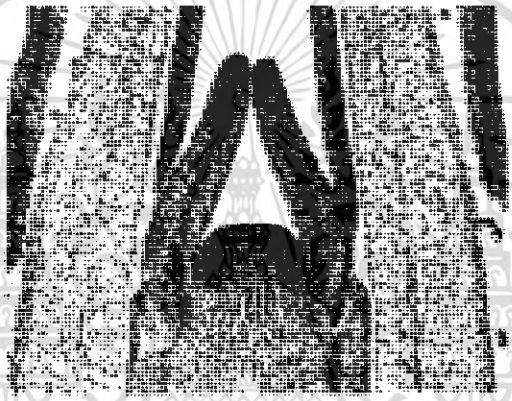


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชิ้นส่วนพืชสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ทุกส่วนของพืชที่ประกอบด้วยเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่สามารถนำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทั้งนั้น แต่ความสามารถในการเจริญเติบโตอาจแตกต่างกันเพราะเซลล์แต่ละชนิดมีความตื่นตัว (active) ไม่เท่ากัน เนื้อเยื่อพืชที่มีเซลล์ตื่นตัวมากที่สุด คือ เนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) ซึ่งพบได้ในส่วนต่างๆดังนี้

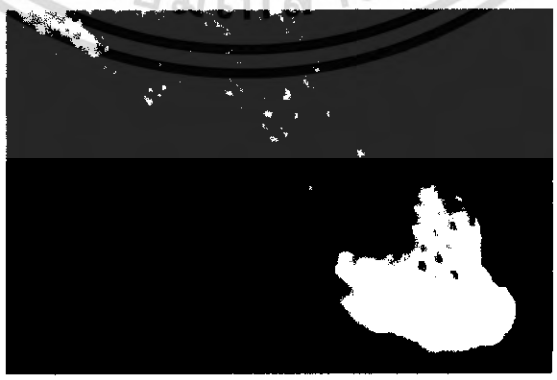
1. ส่วนปลายยอดของลำต้น (shoot apex) เป็นบริเวณที่เซลล์มีการแบ่งตัวมากที่สุด ส่วนนี้นับจากปลายยอดสุดลงมาไม่เกิน 5 เซนติเมตร (รูปที่2)



รูปที่ 2 แสดงส่วนปลายยอดของลำต้น

ที่มา : www.uri.edu/artsci/ bio/plant_anatomy/13.html

2. ส่วนปลายราก (root apex) อยู่ถัดจากส่วนของหมวกราก (root cap) จะมีเนื้อเยื่อส่วนที่ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญคล้ายกับส่วนของปลายยอด (รูปที่3)

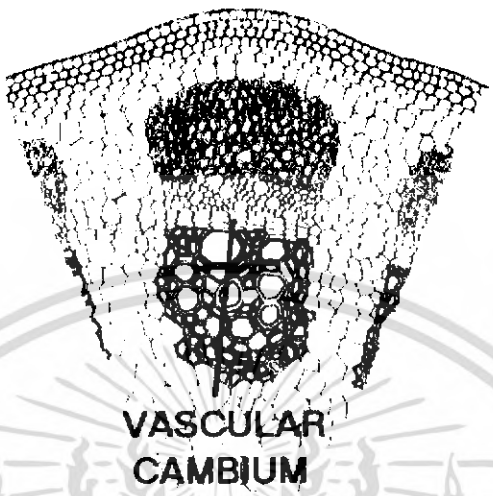


รูปที่ 3 แสดงส่วนปลายราก

ที่มา : www.bmb.leeds.ac.uk/ staff/jpk/gal1.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เนื้อเยื่อเจริญในท่อลำเลียง (vascular cambium) เป็นเนื้อเยื่อเจริญที่พบในส่วนของ ลำต้นและราก ซึ่งอยู่ระหว่างกลุ่มของท่ออาหาร (phloem) และท่อน้ำ (xylem)



รูปที่ 4 แสดงส่วนของเนื้อเยื่อเจริญในท่อลำเลียง

ที่มา : www.nsci.plu.edu/~jmain/ b359web/pages/vascamb.htm

4. เนื้อเยื่อเจริญที่อยู่ระหว่างปล้อง (intercalary meristem) ซึ่งจะพบในพืชพวกใบเลี้ยงเดี่ยว ทำหน้าที่ในการเพิ่มความยาวของปล้อง

เนื้อเยื่อส่วนอื่นๆ ที่สามารถนำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้มีดังนี้

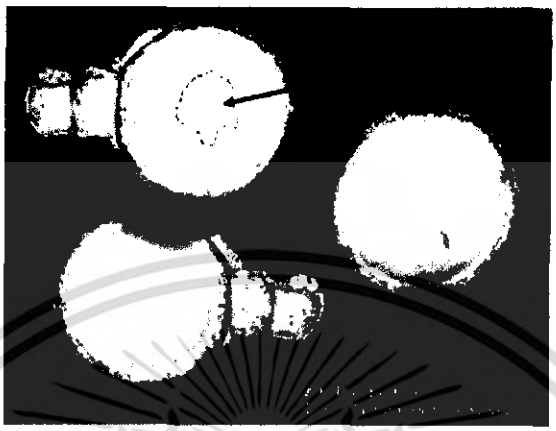
1. ส่วนของเปลือกชั้นใน (inner bark) ซึ่งส่วนนี้ประกอบด้วยเนื้อเยื่อของชั้น phloem และ cortex (รูปที่5)

รูปที่ 5 แสดงส่วนของเปลือกชั้นใน

ที่มา : www.treedictionary.com/ DICT2003/I/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ส่วนไส้ (pith) เป็นส่วนที่อยู่ในใจกลางสุดของลำต้นซึ่งประกอบด้วยเซลล์พวก parenchyma (รูปที่6)



รูปที่ 6 แสดงส่วนไส้ของพืช

ที่มา : www.life.uiuc.edu/.../ Vegetative/32.htm

3. ใบ (leaf) ในส่วนใบมีเซลล์ของแผ่นใบที่เรียกว่า palisade parenchyma และ spongy parenchyma อยู่จำนวนมาก ซึ่งนิยมใช้สำหรับแยกโปรโตพลาสต์

4. ดอก (flower) ส่วนของดอกส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลล์พวก parenchyma ยกเว้นในส่วนของก้านดอก และฐานรองดอก ซึ่งอาจมีเนื้อเยื่อเจริญอยู่ด้วย

5. ผล (fruit) เนื้อเยื่อของผลส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลล์พวก parenchyma โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลสด

6. เมล็ด (Seed) ในส่วนของเมล็ดซึ่งประกอบด้วยตัพภะ (embryo) ใบเลี้ยง (cotyledon) และ endosperm ทั้งสามส่วนนี้ให้ความสำเร็จสูงในการเพาะเลี้ยง

เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อ (Sterilization techniques)

ปัญหาสำคัญอีกประการหนึ่งของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ก็คือ การทำให้ชิ้นส่วนพืชที่จะนำมาทำการเพาะเลี้ยงให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากในสภาพธรรมชาติแล้ว ส่วนต่างๆของพืชจะมีเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆติดอยู่ ไม่ว่าจะเป็นเชื้อรา หรือแบคทีเรีย อันเป็นตัวการสำคัญของการปนเปื้อน (contamination) ในอาหารเพาะเลี้ยงเพราะเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวเหล่านั้น สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และจะทำให้อาหารเน่าเสียอย่างรวดเร็ว ชิ้นส่วนพืชก็จะเน่าตายไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีสารเคมีหลายชนิดและวิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการทำความสะอาดตัวอย่างพืชให้มีความปลอดเชื้อ ซึ่งผู้ทำการเพาะเลี้ยงต้องใช้ดุลยพินิจในการเลือกใช้ให้เกิดความเหมาะสมกับเนื้อเยื่อพืช และประสิทธิภาพที่จะได้รับ ซึ่งมีแนวทางในการเลือกใช้ดังนี้

1. มีประสิทธิภาพดี ให้เปอร์เซ็นต์ความปลอดเชื้อสูง
2. ราคาไม่แพง และหาซื้อได้ง่าย
3. เตรียมได้ง่าย ไม่มีขั้นตอนที่ยุ่งยาก
4. ไม่เป็นอันตราย หรือมีอันตรายน้อยที่สุดต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคนและชิ้นเนื้อเยื่อพืช

สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่างพืช มีดังนี้

1. แคลเซียมไฮโปคลอไรด์ ($Ca(OCl)_2$) ความเข้มข้นที่ใช่ประมาณ 9-10 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ประมาณ 5- 30 นาที ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีมาก

2. โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaOCl) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 0.25-2.63 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ประมาณ 5-30 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก

3 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 10-12 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ 5-15 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดี

4. คลอรอกซ์ (Chlorox) เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้กันทั่วไปตามบ้านเรือน ที่จริงแล้วก็คือสารละลายที่มีส่วนผสมของโซเดียมไฮโปคลอไรด์นั่นเอง ความเข้มข้นที่ใช้ 5-10 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ 5-20 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก

5. สารละลายโบรไมด์ (Bromide water) ความเข้มข้นที่ใช้ 1-2 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ 2-10 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก

6. ซิลเวอร์ไนเตรท ($Ag(NO_3)_2$) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 1 เป อร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ 5-30 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดี

7. สารละลายไอโอดีน (Iodine water) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ประมาณ 30 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดี

8. เมอคิวริคคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 0.1-1.0 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ 2-10 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีพอสมควร

9. เมอคิวริคไอโอไดด์ (HgI_2) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ประมาณ 30 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดี

10. เมอคิวริคโบรไมด์ ($HgBr_2$) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ประมาณ 30 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดี

11. แอลกอฮอล์ (alcohol) ความเข้มข้นที่ใช้ 70-95 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ 2-5 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

12. กรดกำมะถัน หรือกรดซัลฟิวริกริค (H_2SO_4) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 20-70 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ 5-20 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก

นอกจากนี้ยังมีเทคนิคอื่นๆ ในการฆ่าเชื้อโดยที่ใช้สารเคมี เช่น การอาบด้วยแสงอัลตราไวโอเลต หรือที่เรียกกันว่าแสง UV การเผาไฟซึ่งใช้กับตัวอย่างที่แข็งๆ เช่น เมล็ด ท่อนไม้ เป็นต้น

การเพาะเลี้ยงแคลลัส (callus culture)

แคลลัส หมายถึง เซลล์ที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม โดยที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอวัยวะหรือเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ แคลลัสประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma) เพียงอย่างเดียว มีขนาดต่างๆกัน มีรูปร่างไม่แน่นอน ภายในเซลล์มีแวคคิวโอล (vacuole) จำนวนมาก ส่วนใหญ่ไม่มีรงควัตถุ แต่อาจมีสีเขียวเนื่องจากมีคลอโรฟิลด์ (chlorophylls) สีเหลืองจากแคโรทีนอยด์ (carotenoids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) หรือสีม่วงจากแอนโทไซยานิน (anthocyanins) ปริมาณและชนิดของรงควัตถุเหล่านี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ธาตุอาหาร และปัจจัยสภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยงโดยเฉพาะอย่างยิ่งแสง แคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะกันแน่นเรียกว่า compact callus แต่ถ้าแคลลัสเกาะกันอย่างหลวมๆ เรียกว่า friable callus

ชิ้นส่วนพืชเกือบทุกชนิดจากอวัยวะต่างๆ สามารถนำมาชักนำให้เกิดแคลลัสได้ แต่โดยทั่วไปแล้วเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จสูงสุดในพืชใบเลี้ยงคู่ได้จากส่วนของคัพภะ ใบเลี้ยง ส่วนที่อยู่เหนือใบเลี้ยง ส่วนที่อยู่ใต้ใบเลี้ยง ละราก ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวได้จากส่วนของคัพภะ ใบอ่อน ปลายยอด ดอกอ่อน และส่วนของเมล็ดที่เริ่มงอกจะให้ผลดีที่สุด เนื้อเยื่ออื่นๆของพืชที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้คือ แคมเบียม (cambium) คอร์เทค (cortex) ไส้หรือแกนลำต้น (pith) ท่อลำเลียงอาหาร (pholoem vessels) ไซเลมพาเรนไคมา (xylem parenchyma) และเอ็นโดสเปอร์ม (endosperm)

การเตรียมชิ้นส่วนพืชที่ใช้เพาะเลี้ยง

ชิ้นส่วนพืชที่ใช้ควรมีสภาพเหมาะต่อการชักนำการเกิดแคลลัส กล่าวคือเป็นชิ้นส่วนที่มีเนื้อเยื่อเจริญจากเนื้อเยื่อที่มีอายุน้อย ในทางปฏิบัตินิยมใช้เนื้อเยื่อจากเมล็ดที่เพาะให้งอกในสภาพปลอดเชื้อให้เกิดส่วนราก ยอด และใบอ่อน ในกรณีของเนื้อเยื่อพิเศษ เช่น แคมเบียม เอ็นโด-สเปอร์ม หรือไส้นั้นการเพิ่มจำนวนแคลลัสจะขึ้นอยู่กับเวลาของการแยกเนื้อเยื่อมาใช้ ส่วนของลำต้นโดยเฉพาะไม้เนื้อแข็งจะให้ชิ้นส่วนที่ยากต่อการชักนำการเกิดแคลลัส โดยทั่วๆไปแล้ว เมล็ดเป็นแหล่งที่ดีที่สุดในการให้ชิ้นส่วนพืชเพื่อเลี้ยงเป็นแคลลัส เนื่องจาก

1. สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้โดยตรง โดยเฉพาะเมล็ดทั้งเมล็ดบนอาหารวุ้นที่เติมสารกระตุ้นการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
67299

2. เมื่อเพาะเมล็ดให้งอกในอาหารวุ้นที่ปราศจาก หรือมีสารกระตุ้นการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย จะชักนำให้เกิดส่วนของราก ยอด และใบที่ปลอดเชื้อ ใช้เป็นชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงแคลลัสต่อไป

3. สามารถแยกเอาเนื้อเยื่อส่วนของรากและปลายยอด ออกมาจากเมล็ดโดยตรง

ปัจจัยที่มีบทบาทต่อการเลี้ยงแคลลัส

1. สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulators) โดยเฉพาะฮอร์โมนพืช เช่น ออกซิน และไซโตไคนิน ซึ่งการพัฒนาของพืชจะขึ้นอยู่กับสัดส่วนของฮอร์โมนสองกลุ่มนี้คือ ถ้าสัดส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินนสูงพืชจะพัฒนาไปเป็นราก สัดส่วนออกซินต่อไซโตไคนินต่ำจะพัฒนาเป็นต้น และหากอยู่ในสัดส่วนที่ปานกลางหรือสมดุลก็จะพัฒนาไปเป็นแคลลัส จากการศึกษาในพืชหลายๆพันธุ์พบว่า ออกซินที่ใช้อยู่ในช่วง 0.01-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคเนติน (ไซโตไคนินชนิดหนึ่ง) 0.1-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ธาตุอาหาร (nutrients) นอกจากธาตุที่เป็นส่วนประกอบทั่วๆไปของสูตรอาหารแล้ว พบว่า อาหารเสริมจำพวกกรดอะมิโน เช่น กลูตามีน แอสพาราจีน อาร์จินีน เพียวรีน ไพริมีดีน เคซีนไฮโดรไลเซท สารสกัดจากมอลท์ สารสกัดจากยีสต์และน้ำมะพร้าว มีส่วนสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส

3. แหล่งของคาร์บอน (carbon sources) แหล่งคาร์บอนที่สำคัญคือ น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลแซคคาโรส ความเข้มข้น 2-4 เปอร์เซ็นต์

4. ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (environmental factors) เช่น แสง การเพาะเลี้ยงแคลลัสต้องการแสงความเข้มต่ำหรือไม่ใช้แสงเลย อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 25 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังต้องการก๊าซออกซิเจนเพื่อการหายใจของเซลล์ด้วย

5. สถานะของอาหารที่ใช้เลี้ยง (media status) แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารแข็งเจริญเติบโตได้น้อยกว่าแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารเหลว ทั้งนี้เป็นเพราะมีพื้นที่ผิวสัมผัสกับอาหารน้อยกว่า และตรงตำแหน่งที่ชิ้นส่วนของแคลลัสสัมผัสกับอาหาร จะมีสารที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นของเสียจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolic wastes) ที่เซลล์ปล่อยออกมา

ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงแคลลัส

1. การขยายพันธุ์ (micropropagation) โดยชักนำให้เกิดเป็นต้นที่ปราศจากโรคจำนวนมาก

2. การผลิตโปรโตพลาสต์ (protoplasts) แคลลัสเหมาะอย่างยิ่งในการนำไปย่อยผนังเซลล์ เนื่องจากมีสภาพปลอดเชื้ออยู่แล้วและเซลล์ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงพัฒนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การผลิตสารเคมีที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึม (secondary metabolites) ซึ่งบางชนิดสามารถนำไปใช้ในทางการแพทย์และอุตสาหกรรมได้

4. ผลิตพืชที่มีโครโมโซมหลายชุด (polyploids) โดยใช้สารโคลชิซินชักนำ

5. การผลิตพืชทนทานหรือพืชต้านทาน (tolerant and resistant plants) เช่นทนทานต่อสภาพดินเค็ม ดินเปรี้ยว อากาศร้อนหรือหนาว หรือต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ต้านทานต่อโรคและสารพิษที่เกิดจากเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส

6. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืช (cryopreservation)

การพัฒนาเป็นยอดและราก

โดยทั่วไปในกลุ่มเซลล์ของเนื้อเยื่อพืชจะมีสมบัติที่ดีอย่างหนึ่งที่เรียกว่า totipotency ซึ่งจหมายถึง ความสามารถของเซลล์ทุกส่วนของเนื้อเยื่อพืชสามารถที่จะเจริญไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้ ซึ่งในคุณสมบัตินี้ไม่มีในเซลล์สัตว์

การพัฒนาเป็นเอ็มบริโอสามารถแบ่งออกได้ดังนี้

1. Zygotic embryo เป็นเอ็มบริโอที่เกิดจากไข่ที่ได้รับการผสม หรือเรียกว่าไซโกต

2. Non-zygotic embryos เป็นเอ็มบริโอที่ไข่ไม่ได้รับการผสม แต่เกิดจากเซลล์อื่นๆที่ไม่ได้เกิดจากไซโกต สามารถแบ่งออกได้ดังนี้

2.1 Advance embryos เป็นเอ็มบริโอที่เกิดจากเซลล์ร่างกายทั่วๆไปของพืชเช่น ราก ลำต้น ยอด ใบ และตาข้าง เป็นต้น

2.2 Parthenogenetic embryos เป็นเอ็มบริโอที่เกิดจากไข่ที่ไม่ได้รับการผสม

2.3 Androgenetic embryos เป็นเอ็มบริโอที่ได้รับการพัฒนาจากเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ เช่น ไมโครสปอร์ และเรณู

การเจริญของเนื้อเยื่อพืชสามารถจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นยอดหรือรากได้โดยแบ่งการพัฒนาไปเป็นยอดหรือราก ได้มี 2 กระบวนการคือ

1. กระบวนการเกิดออแกโนจีนีซิส (Organogenesis) คือ การพัฒนาไปเป็นยอด รากหรืออวัยวะอื่นๆ โดยการรวมตัวกันของกลุ่มเซลล์พาเรนไคมาที่อยู่ใกล้เคียงกันเป็นเนื้อเยื่อเจริญซึ่งจะประกอบด้วยเซลล์ที่มีขนาดเล็ก ช่องว่างภายในเซลล์เล็ก และมีไซโตพลาสซึมที่มีความหนาแน่นมาก กลุ่มเซลล์จะมีการแบ่งเซลล์อยู่ตลอดเวลา กลุ่มเซลล์เหล่านี้อาจเรียกว่า meristemoid ซึ่งจะเจริญต่อไปเป็นกลายเป็นจุดกำเนิดของยอดหรือราก และการจะเกิดเป็นยอด ราก หรืออวัยวะอื่นๆ จะเป็นอิสระต่อกัน ไม่มีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน ขึ้นอยู่กับว่าเนื้อเยื่อเจริญนั้นได้รับสิ่งกระตุ้นให้เจริญไปเป็นเนื้อเยื่ออะไร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

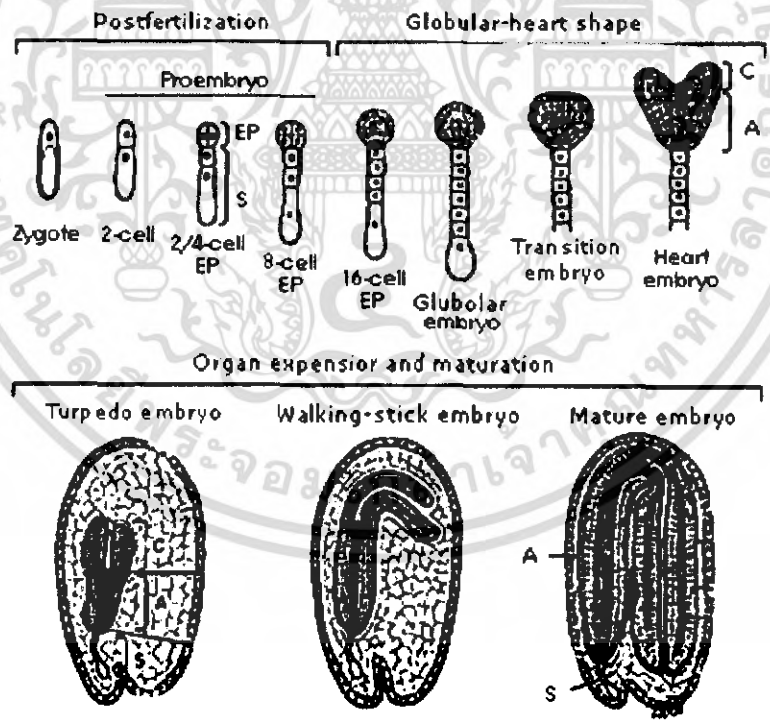
2. กระบวนการเกิดเอ็มบริโอจีนีซิส (Embryogenesis) คือการพัฒนาไปเป็นยอด ราก หรืออวัยวะอื่นๆ โดยเกิดจากกลุ่มเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาไปเป็นเอ็มบริโอ ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน (รูปที่ 7) ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 เป็นขั้นตอนเริ่มต้นเกิดจาก ไซโกตแบ่งเป็นเซลล์ 2 เซลล์ (proembryo) เซลล์ที่มีขนาดเล็กจะอยู่ด้านบน เรียกว่า apical cell ส่วนเซลล์ขนาดใหญ่อยู่ด้านล่างเรียกว่า basil cell มีการพัฒนาไปเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า globular shaped embryo

ขั้นตอนที่ 2 กลุ่มเซลล์ globular shaped embryo มีการพัฒนาไปเป็นกลุ่มเซลล์ heart shaped embryo

ขั้นตอนที่ 3 กลุ่มเซลล์ heart shaped embryo มีการพัฒนาไปเป็นกลุ่มเซลล์ torpedo-shaped embryo

ขั้นตอนที่ 4 คือขั้นสุดท้ายกลุ่มเซลล์ torpedo-shaped embryo จะมีการพัฒนาไปเป็นเอ็มบริโอซึ่งในขั้นตอนนี้กลุ่มเซลล์สามารถจะเจริญเป็นยอดและรากพร้อมกัน โดยเนื้อเยื่อด้านบนของเอ็มบริโอจะเจริญไปเป็นยอด และเนื้อเยื่อด้านล่างของเอ็มบริโอคือส่วนที่สัมผัสกับอาหารจะเจริญไปเป็นราก



รูปที่ 7 แสดงขั้นตอนการพัฒนาของเอ็มบริโอจีนีซิส

ที่มา : http://www.umanitoba.ca/afs/plant_science/COURSES/39-768/l15/embryogenesis.gif

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อแตกต่างระหว่างกระบวนการออแกโนจีนีซีส และกระบวนการเอ็มบริโอจีนีซีส คือ

1. การเชื่อมต่อระหว่างยอดและราก การพัฒนาเกิดออแกโนจีนีซีส การเกิดยอดหรือรากอิสระต่อกัน โดยยอดอาจจะเกิดบริเวณหนึ่ง รากอาจจะเกิดอีกบริเวณหนึ่ง แม้ว่าจะเกิดบนก้อนแคลลัสเดียวกัน แต่ในบางครั้งการเกิดยอดและรากอาจจะเกิดใกล้เคียงกันมากจนอาจเชื่อมต่อกันได้ ทำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ได้ แต่การเกิดเอ็มบริโอจีนีซีสนั้น ยอดและรากจะต้องติดต่อกัน เพราะยอดและราก เจริญมาจากเซลล์เดียวกัน

2. ทิศทางของการเกิดยอดและราก การพัฒนาเกิดยอดหรือรากในแคลลัสนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหรือสิ่งมากระตุ้นให้เกิดเป็นเนื้อเยื่อเจริญ ซึ่งเนื้อเยื่อเจริญนี้สามารถจะเจริญไปเป็นยอดหรือรากก็ได้จึงเชื่อว่าการเกิดกระบวนการออแกโนจีนีซีส ไม่มีทิศทางที่แน่นอน สำหรับกระบวนการเกิดเอ็มบริโอจีนีซีสนั้นมี 2 ทิศทาง เพราะส่วนหนึ่งของเซลล์จะเกิดเป็นยอด ส่วนอีกด้านหนึ่งจะเกิดเป็นรากแน่นอน

3. การเชื่อมต่อระหว่างท่อน้ำท่ออาหาร ในท่อน้ำ ท่ออาหารของส่วนยอดและรากที่เกิดขึ้นโดยกระบวนการออแกโนจีนีซีส อาจจะต่อเชื่อมหรือไม่ต่อเชื่อมถึงกันก็ได้ แต่ท่อน้ำท่ออาหารของยอดและรากที่เกิดขึ้น โดยกระบวนการเอ็มบริโอจีนีซีสจะต้องติดต่อเชื่อมถึงกัน การดูว่าเนื้อเยื่อเชื่อมถึงกันหรือไม่สามารถทำได้โดยการนำเอาเนื้อเยื่อพืชไปตัดดูโครงสร้างภายใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. มันเทศสายพันธุ์พิจิตร (พจ) และสายพันธุ์พื้นเมือง
    - 1.1 พจ 95040-10
    - 1.2 พจ 265-1
    - 1.3 พจ 206
    - 1.4 พจ 226-24
    - 1.5 พจ 226-31
    - 1.6 พันธุ์ไข่
    - 1.7 พันธุ์กระต่าย
2. สารเคมี
    - 2.1 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารสูตร MS
    - 2.2 สารเคมีฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ คลอรอกซ์ , tween 20
    - 2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ 2,4-D , BA และ zeatin
    - 2.4 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์
    - 2.5 วุ้น (phytagel) และน้ำตาลซูโครส
3. เครื่องแก้ว อุปกรณ์ และเครื่องมือต่างๆ
    - 3.1 บีกเกอร์
    - 3.2 ขวดรูปชมพู่
    - 3.3 ปิเปตต์ (pipette)
    - 3.4 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
    - 3.5 จานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
    - 3.6 แท่งแก้วคน
    - 3.7 กระบอกตวง
    - 3.8 ช้อนตักสารเคมี (spatula)
    - 3.9 มีดผ่าตัด
    - 3.10 ปากคีบ
    - 3.11 อะลูมิเนียมฟลอยด์
    - 3.12 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (bunsen burner)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.13 ไมโครเวฟ (microwave oven)

3.14 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air-flow cabinet)

3.15 ตู้อบความร้อน

3.16 เครื่องเขย่า (shaker or rotator)

3.17 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียดและหยาบ (balance)

3.18 อุปกรณ์การกรองฮอร์โมนและแผ่นกรองฮอร์โมน (millipore filter)

3.19 ไมโครปิเปตต์และทิปขนาดต่างๆ

3.20 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)

3.21 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

3.22 กล้องถ่ายรูปดิจิตอล

3.23 กล้องสเตอริโอไมโครสโคป (stereo- microscope)

3.24 ตู้เย็น (refrigelator)

วิธีดำเนินการทดลอง

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเนื้อเยื่อพืช

สูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะประกอบด้วยแร่ธาตุอาหารต่างๆ วิตามิน สารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาล และกรดอะมิโนบางชนิด เป็นต้น และใช้ในปริมาณที่แตกต่างกัน สารบางชนิดอาจใช้ในปริมาณที่น้อยมากๆ ดังนั้นถ้าชั่งสารทุกชนิดในการเตรียมอาหารแต่ละครั้งจะมีผลทำให้เกิดการเสียเวลา ไม่สะดวก และที่สำคัญอาจเกิดการคลาดเคลื่อนได้เป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเตรียมสารเคมีต่างๆเป็น stock solution โดยจัดแบ่งกลุ่มของสารเคมีต่างๆที่สามารถรวมอยู่ด้วยกันได้โดยไม่เกิดการตกตะกอน และไม่ทำปฏิกิริยาต่อกันจัดไว้เป็น stock เดียวกัน

การเตรียมอาหารสูตร MS สามารถเตรียมเป็น stock solution (ตารางที่1) ในความเข้มข้นต่างๆกัน เช่น 50 100 200 และ 1000 เท่า การเตรียมอาหารสูตร MS มีขั้นตอนดังนี้

1. ใส่น้ำกลั่นประมาณ 300-500 มิลลิลิตร ในภาชนะ 1-2 ลิตร
2. ดูด stock 1 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในภาชนะแล้วคนให้ทั่ว
3. ดูด stock 2 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในภาชนะแล้วคนให้ทั่ว
3. ดูด stock 3 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในภาชนะแล้วคนให้ทั่ว
4. ดูด stock 4 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในภาชนะแล้วคนให้ทั่ว
5. ดูด stock 5 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในภาชนะแล้วคนให้ทั่ว
6. ดูด stock 6 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในภาชนะแล้วคนให้ทั่ว
8. ดูด stock สารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น 2,4-D และ BA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. ชั่งน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ใส่ลงในภาชนะ คนให้ละลาย

10. นำภาชนะที่ใส่สารต่างๆเรียบร้อยแล้วไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร นำไปวัดความเป็นกรด-เบส ด้วยเครื่องวัด (pH meter) แล้วปรับให้มีค่าเท่ากับ 5.8 โดยใช้เบสและกรดเกลือ นอกจากนี้ความอ่อนหรือความแข็งของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังขึ้นอยู่กับการปรับ pH ด้วย ถ้า pH ต่ำอาหารจะไม่แข็ง และ pH เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยปกติ pH จะอยู่ในช่วง 5.0-6.0

11. ถ้าเป็นการเตรียมอาหารในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำการเติม phytagel 2.5 กรัมผสมกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 1 ลิตร แล้วนำไปให้ความร้อนให้วุ้นละลายจนเป็นเนื้อเดียวกันเทอาหารลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขวดละประมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วจึงนำขวดอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แต่ถ้าเป็นการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในจานแก้ว ทำการเติม phytagel ลงในขวดดูแรนด์ขนาด 500 มิลลิลิตร ผสมกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 250 มิลลิลิตร นำเข้าหม้อนึ่งความดัน แล้วจึงนำอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเทลงในจานแก้วใบละประมาณ 20 มิลลิลิตร

12. นำขวดอาหารจากหม้อนึ่งแล้วควรจะปิดฝาขวดให้แน่นอีกครั้งเพราะขณะนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ความร้อนและความดันภายในหม้อนึ่งความดันจะมีผลทำให้ฝาขวดคลายเกลียวออกและควรจะเก็บอาหารไว้อย่างน้อย 1-2 วัน ก่อนที่จะนำไปใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพราะจะทำให้มีความมั่นใจว่าอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วนั้นไม่มีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหาร MS	ชื่อสารเคมี	ความเข้มข้น (เท่า)	จำนวนที่ใช้ (กรัม)	ปริมาณที่เตรียม (ลิตร)
stock 1	NH_4NO_3	100X	165	1
	KNO_3		190	
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$		37	
	KH_2PO_4		17	
stock 2	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	100X	44	1
stock 3	H_3BO_3	1000X	3.1	1:2
	KI		0.415	
	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$		0.125	
	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$		0.0125	
Stock 4	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	100X	2.23	1
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$		0.86	
	$CuSO_4 \cdot 5H2O$		0.0025	
Stock 5	Na_2EDTA	100X	3.73	1
	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$		2.78	
Stock 6	Inositol	100X	5	1:2
	Nicotinic acid		0.025	
	Pyridoxine HCL		0.025	
	Thiamine HCL		0.005	
	Glycine		0.1	

ตารางที่ 1 แสดงสูตรอาหาร MS และองค์ประกอบต่างๆ

การทดลองที่ 1 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส

1. นำชิ้นส่วนของต้นมันเทศบริเวณ ใบ ลำต้น และ ก้านใบ ล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกภายนอก

2. นำชิ้นส่วนของมันเทศใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ที่มีคลอรอกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ และ tween-20 แล้วแช่เป็นเวลา 20 นาที

3. นำชิ้นส่วนของมันเทศมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยล้าง 3 ครั้งๆละ 4-6 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นำชิ้นส่วนของมันเทศมาวางบนจานแก้วที่มีทิชชู่ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ผึ่งให้แห้งเล็กน้อย

5. ทำการตัดแต่งชิ้นส่วนของมันเทศให้ได้ขนาดตามที่ต้องการ

- ใบ ตัดแต่งให้มีขนาดกว้างประมาณ 0.4-0.6 เซนติเมตร ยาวประมาณ 0.4-0.6 เซนติเมตร

- ลำต้น และก้านใบตัดแต่งให้มีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร

6. นำชิ้นส่วนของมันเทศที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ววางลงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เตรียมไว้ โดยทำอาหาร 4 สูตร คือ อาหารแข็งสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย 2,4-D 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร Thiamine 4 มิลลิกรัมต่อลิตร α-ketaglutarate 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟตาเจล 2.5 เปอร์เซ็นต์ ปิดให้สนิทด้วยพาราฟิล์ม

- นำชิ้นส่วนของใบ วางบนอาหารแข็งสูตร MS สูตรอาหารละ 10 ชิ้น ลงในจานเพาะเลี้ยง

- นำชิ้นส่วนของลำต้น และก้านใบ วางลงบนอาหารแข็งสูตร MS สูตรอาหารละ 5 ชิ้นลงในจานเพาะเลี้ยง

7. นำจานเพาะเลี้ยงที่มีชิ้นส่วนของมันเทศไปไว้ในที่มืดที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส

8. ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 4 สัปดาห์

9. ตรวจสอบการเจริญเติบโตของแคลลัส โดยมีวิธีการดังนี้

9.1 ใช้เวอร์เนียวัดความกว้าง และความยาวของแคลลัสของทุกสูตรอาหาร โดยทำการวัดที่ช่วงเวลา 0 14 28 และ 42 วัน ตามลำดับ

9.2 นำความกว้างคูณกับความยาว จะได้พื้นที่ของแคลลัส

9.3 นำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย จะได้ค่าประมาณของพื้นที่แคลลัส

9.4 เปรียบเทียบพื้นที่ของแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดแคลลัส

การทดลองที่ 2 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่โดยการใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA ที่แตกต่างกัน

1. แยกชิ้นส่วนของแคลลัสที่มีลักษณะเกาะตัวกันแน่น (compact) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส วางในที่มีแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ นาน 2-6 สัปดาห์

3. ทำการเปลี่ยนอาหารทุกๆ 4 สัปดาห์ ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไป 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เป็นต้นใหม่โดยการใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA ที่เหมาะสม

1. ทำการชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้นใหม่ โดยเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมซีเอทิน 0.1 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ศึกษาการเจริญเติบโตของแคลลัสโดยดูการเกิดจุดสีเขียวที่แคลลัสบนอาหารแต่ละสูตร ทำการเปรียบเทียบจุดสีเขียวบนอาหารแต่ละสูตรเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้นใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัส

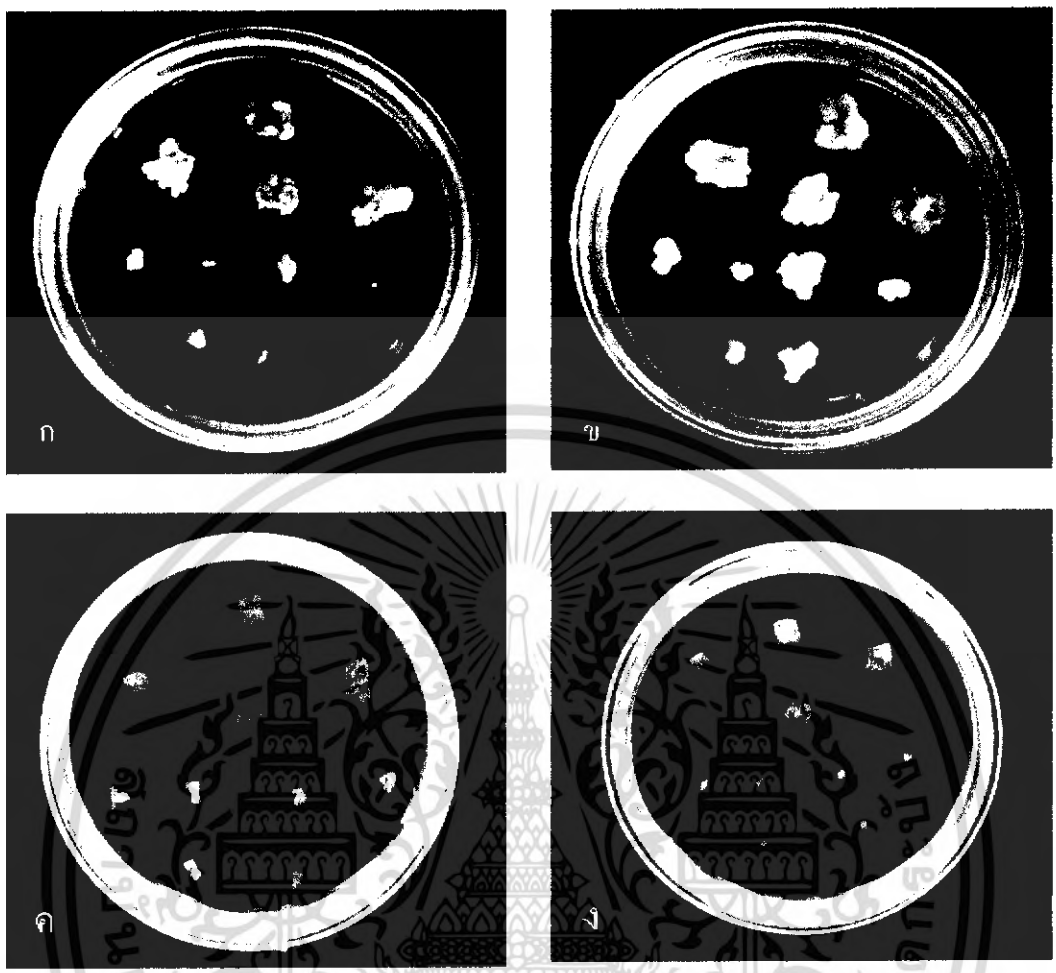
การทดลองหาสูตรอาหารที่เหมาะสมโดยทำการวัดขนาดแคลลัสที่มีการเจริญเติบโต ซึ่งจะแบ่งระยะการวัดออกเป็น 4 ระยะ คือ 0 14 28 และ 42 วัน และนำผลที่ได้ในแต่ละสูตรมาเปรียบเทียบกันเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัส โดยได้ทดลองเปรียบเทียบในอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน 4 สูตร คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและใช้มันเทศจำนวน 7 สายพันธุ์ พบว่า มันเทศทั้ง 7 สายพันธุ์สามารถเกิดแคลลัสที่มีลักษณะ 2 แบบ คือ compact callus และ friable callus โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นจะมีสีเหลืองอ่อนๆ แต่มีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ดังนี้

มันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 และ พจ 206 พบว่า อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนของใบ ลำต้นและก้านใบให้เจริญเป็นแคลลัสได้ โดยสายพันธุ์ พจ 95040-10 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนของใบและลำต้นให้เจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด (ตารางที่ 1 และ 2) และอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำชิ้นส่วนของก้านใบให้เจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุดโดยวัดจากพื้นที่ของแคลลัสที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่3) ส่วนสายพันธุ์ พจ 206 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำชิ้นส่วนของใบ ลำต้นและก้านใบให้เจริญเป็นแคลลัสได้ดีไม่แตกต่างกัน (ตารางที่4-6)

มันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 ไข่ และ กระต่าย พบว่า อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำ ชิ้นส่วนของใบ ลำต้นและก้านใบให้เจริญเป็นแคลลัสได้ ส่วนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนของใบ ลำต้นและก้านใบไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนของใบ ลำต้น และก้านใบของมันเทศทั้ง 3 สายพันธุ์ให้เจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด (ตารางที่ 7-15)

มันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 และ พจ 226-24 พบว่า อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนของใบ ลำต้นและก้านใบให้เจริญเป็นแคลลัสได้ ส่วนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนของใบ ลำต้นและก้านใบไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำชิ้นส่วนของใบ ลำต้นและก้านใบของมันเทศทั้ง 2 สายพันธุ์ให้เจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด (ตารางที่ 16-21)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 8 แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆ ของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

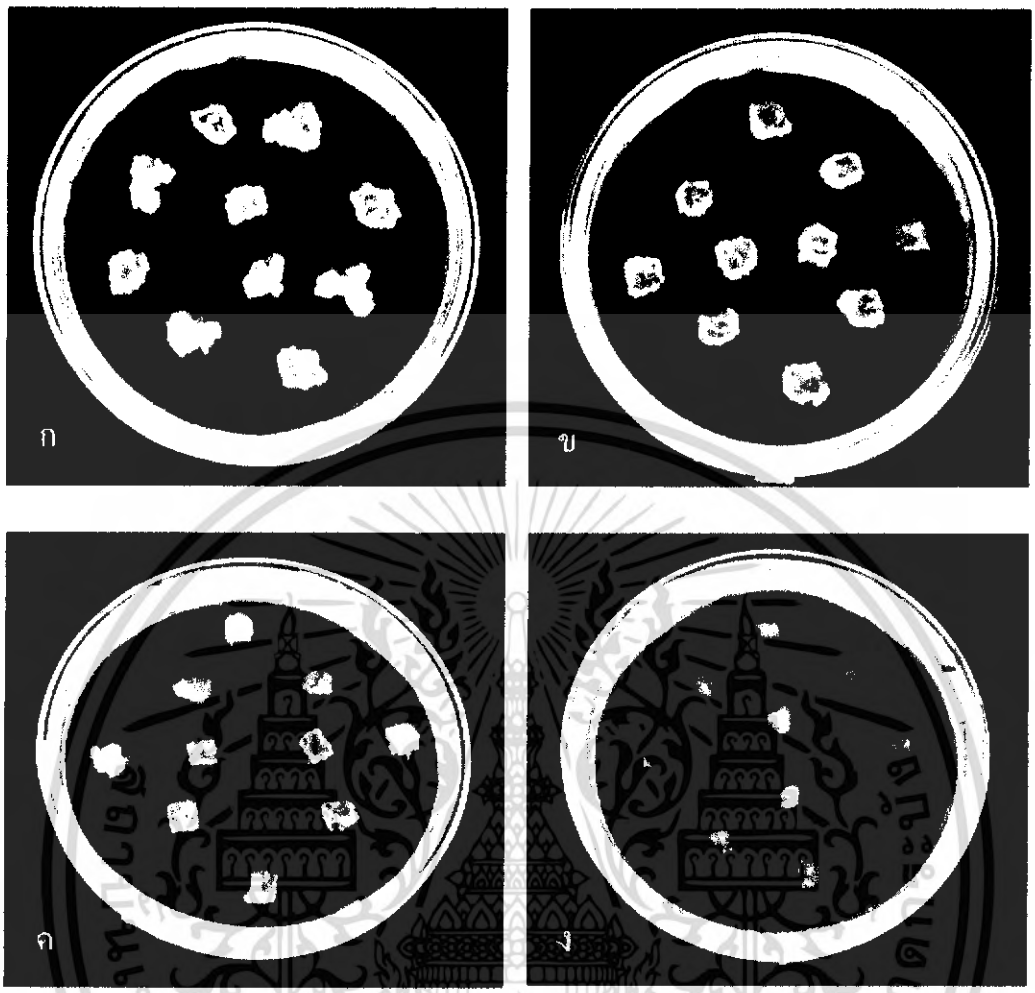
ก เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

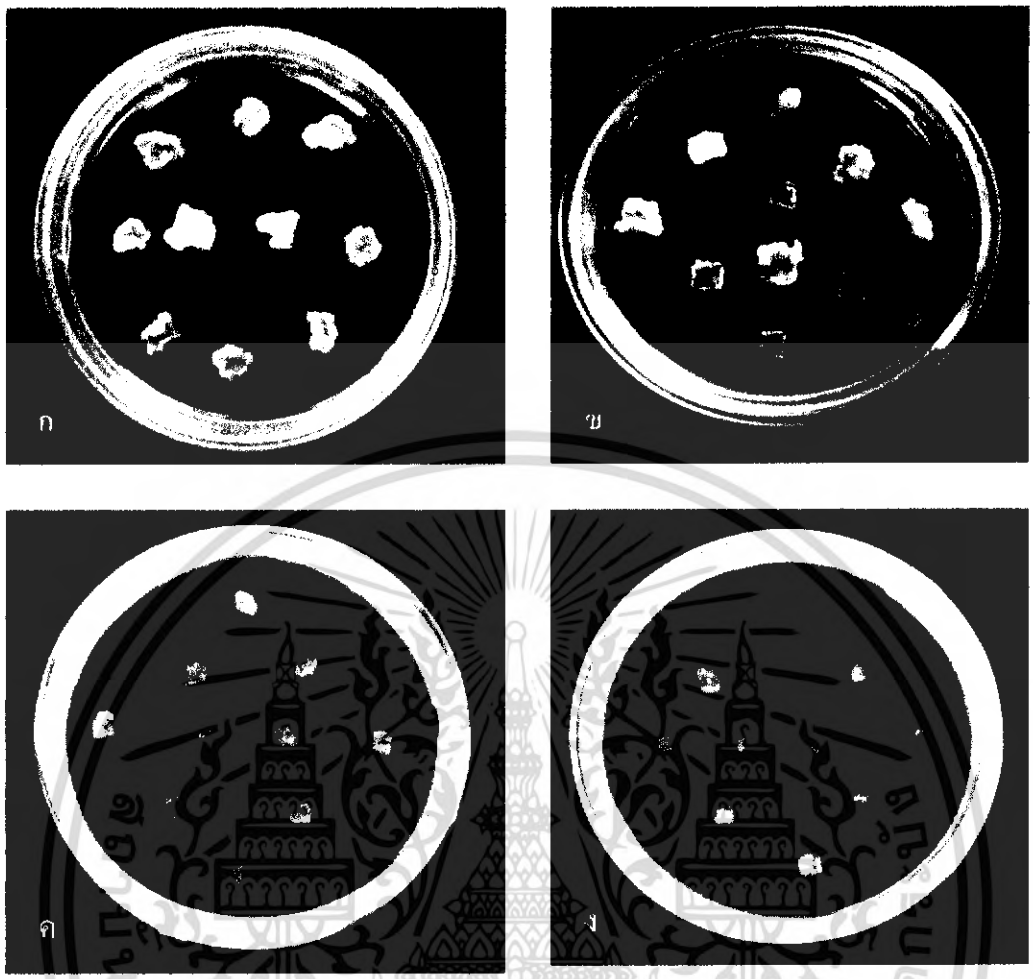
ง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9 แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆ ของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206 ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ก เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ข เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
ค เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร
ง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆ ของปั้นเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

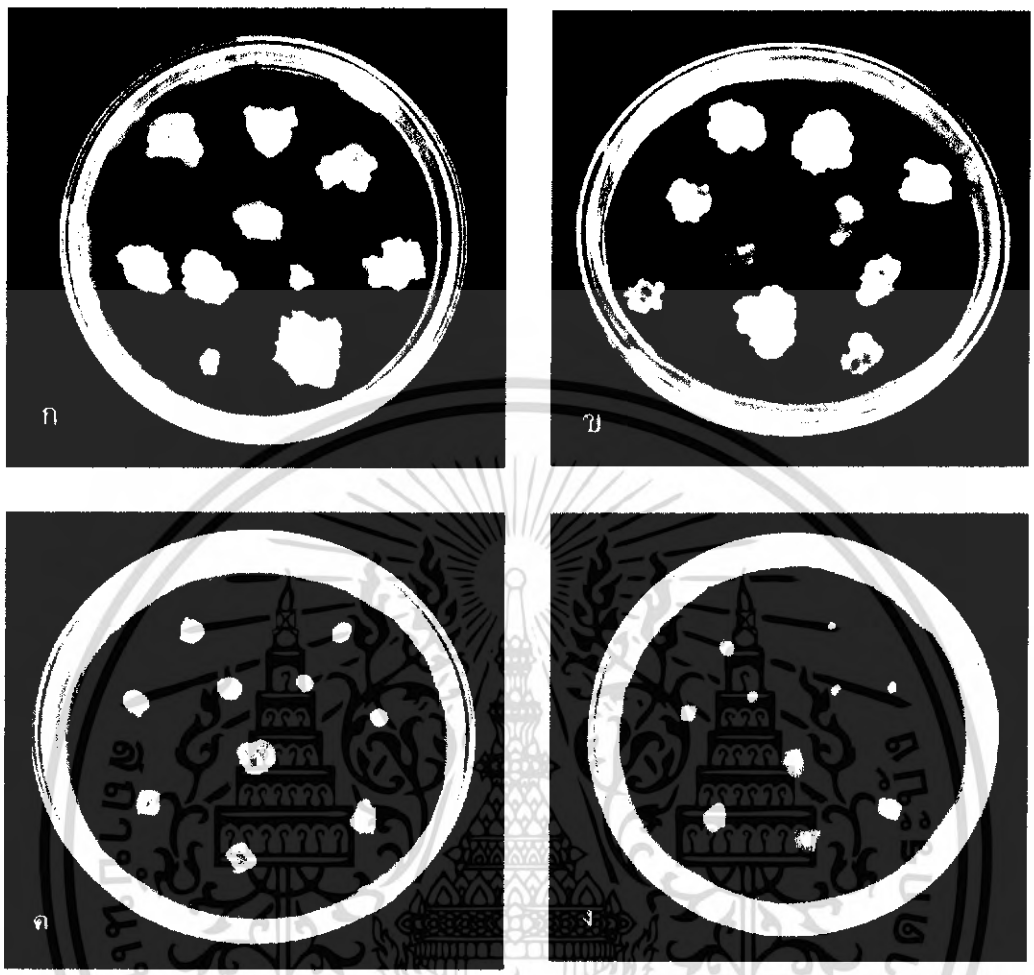
ก เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 11 แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆ ของมันเทศสายพันธุ์ ไข่ ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

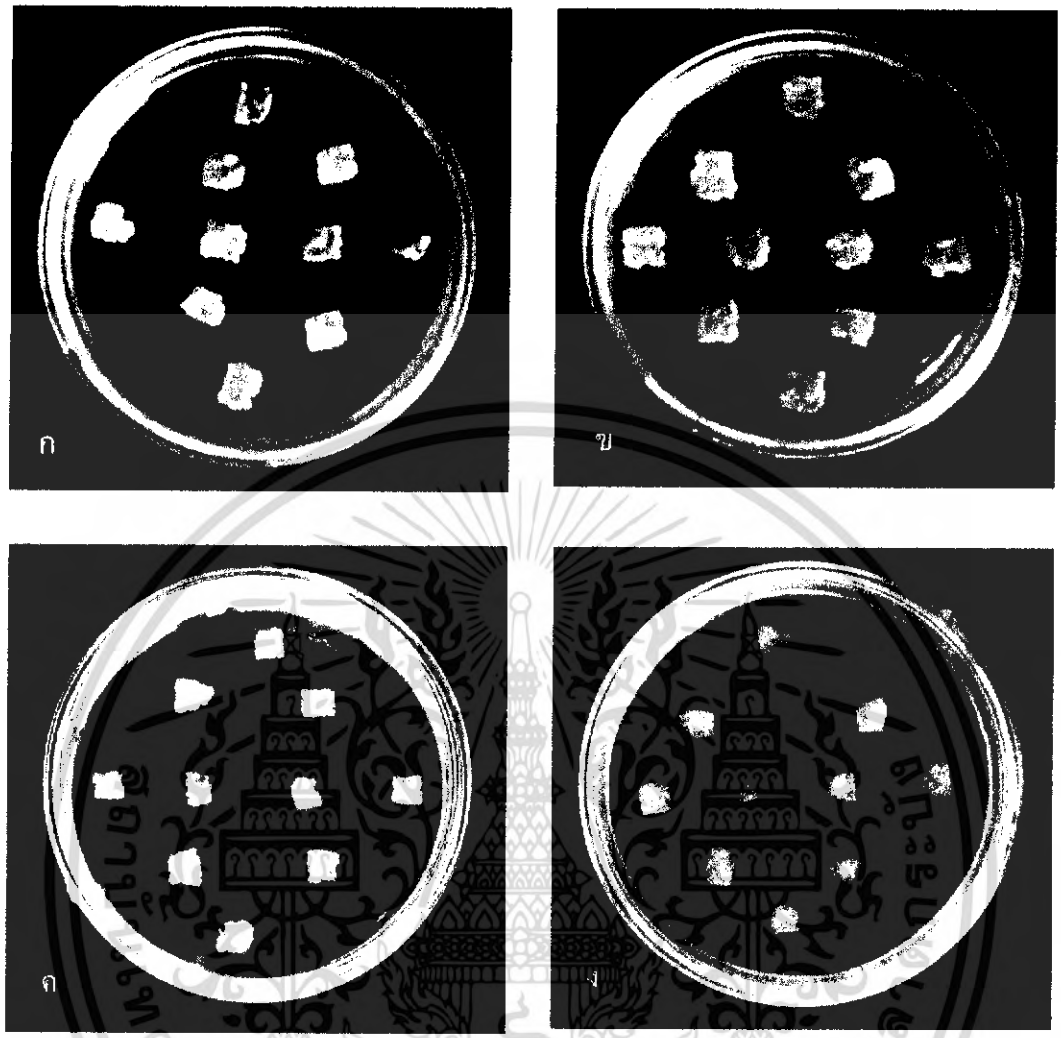
ก เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 12 แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆ ของต้นแทรสายพันธุ์ กระต่าย ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

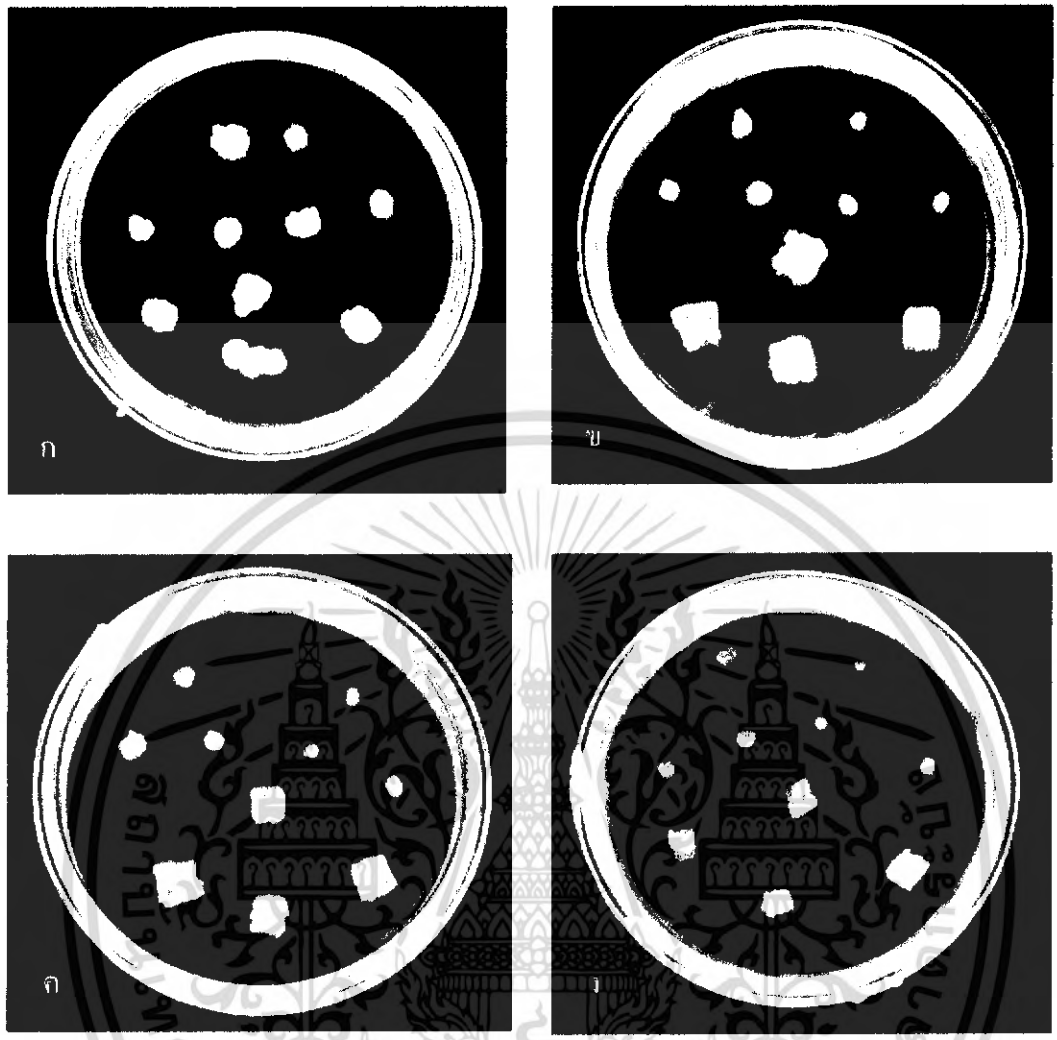
ก เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 13 แสดงการพัฒนาของกลุ่มเซลล์ต่างๆ ของต้นเทสสายพันธุ์ 265-1 ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

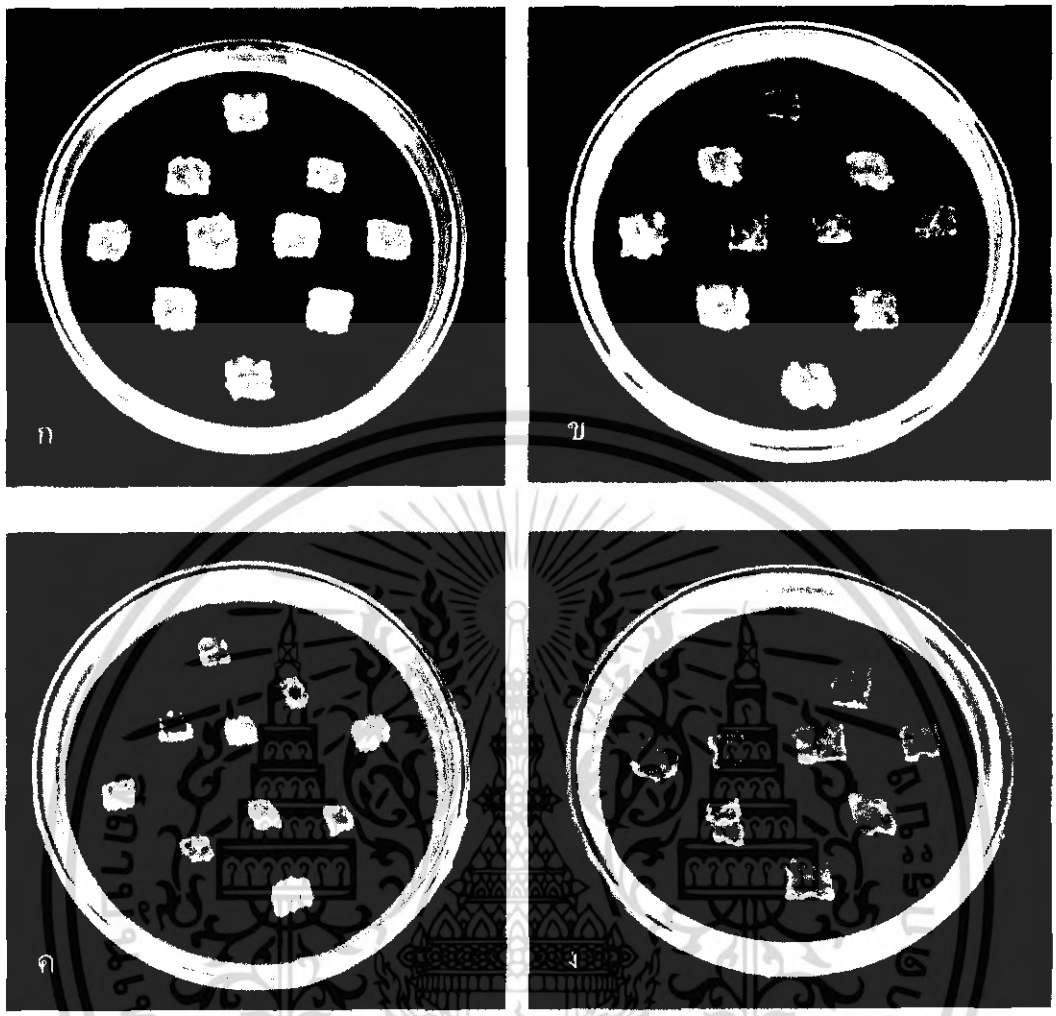
ก เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 14 แสดงการพัฒนาจากส่วนต่างๆ ของต้นเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 ไปเป็นแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแข็ง MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

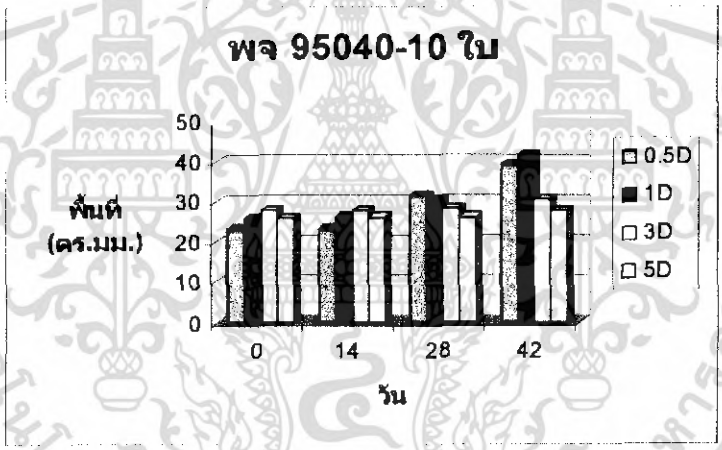
ค เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	23.35	23.40	31.60	39.12
1	25.95	26.14	30.20	41.57
3	27.95	28.01	28.44	30.73
5	26.00	26.13	26.23	27.82

ตารางที่ 2 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

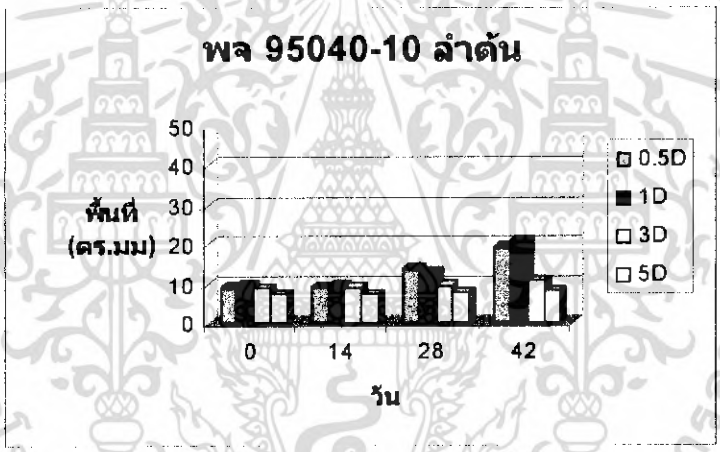


รูปที่ 15 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	9.18	9.50	14.06	19.43
1	9.63	9.73	13.35	21.19
3	8.94	9.08	9.58	10.92
5	7.51	7.52	7.76	8.28

ตารางที่ 3 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

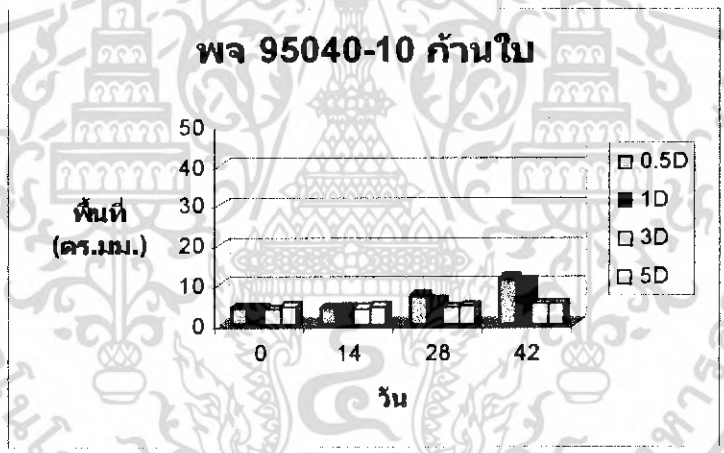


รูปที่ 16 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	4.13	4.31	7.38	11.73
1	4.29	4.36	6.23	10.99
3	3.92	3.95	4.18	5.22
5	4.49	4.50	4.59	5.04

ตารางที่ 4 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

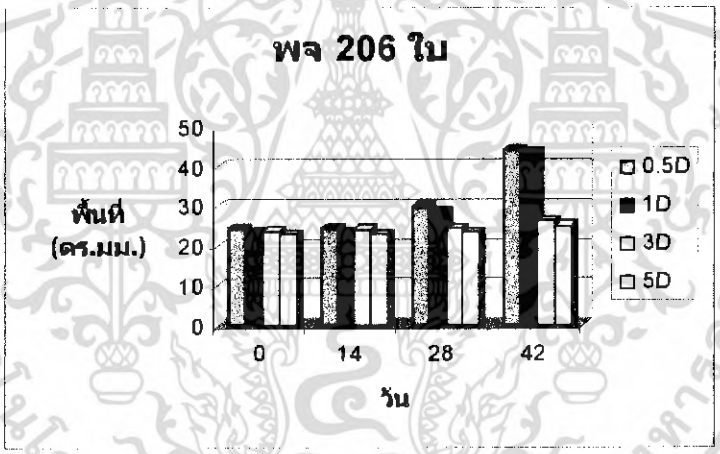


รูปที่ 17 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	24.44	24.55	30.02	44.18
1	23.39	23.57	28.70	43.41
3	23.84	24.34	24.51	26.60
5	22.92	23.05	23.69	25.21

ตารางที่ 5 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

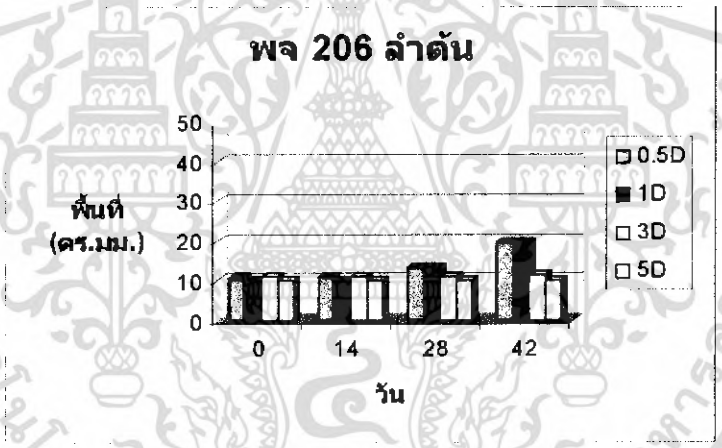


รูปที่ 18 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	10.74	11.08	13.56	19.58
1	9.93	9.99	13.27	19.59
3	10.96	11.03	11.13	11.35
5	9.87	10.08	10.11	10.15

ตารางที่ 6 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

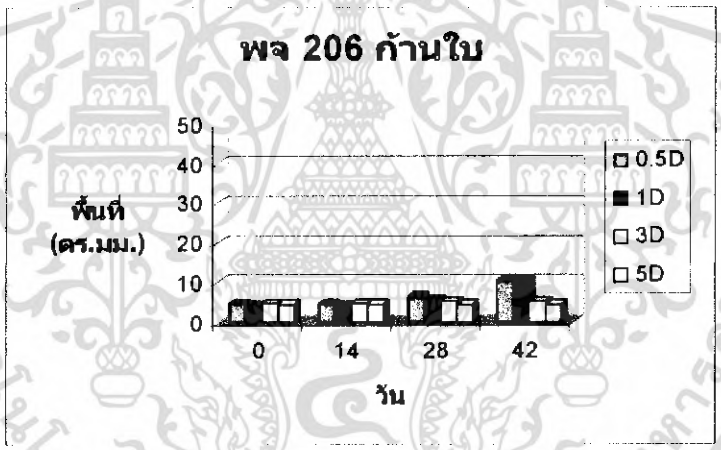


รูปที่ 19 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส จากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	4.54	4.76	6.36	10.55
1	4.02	4.07	5.43	10.43
3	4.72	4.77	5.02	5.27
5	4.44	4.46	4.46	4.48

ตารางที่ 7 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

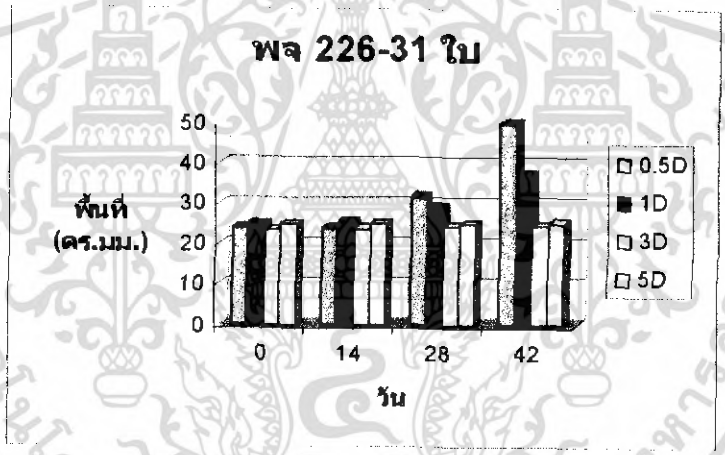


รูปที่ 20 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 206 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	23.98	24.12	31.83	51.18
1	24.83	25.21	29.02	37.16
3	23.74	23.84	24.64	24.69
5	24.87	24.95	25.17	25.28

ตารางที่ 8 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

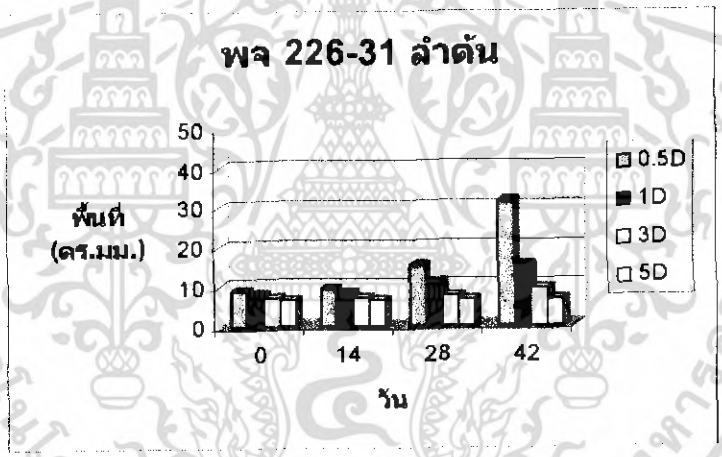


รูปที่ 21 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	9.12	9.57	15.39	31.50
1	8.17	8.30	11.04	15.37
3	7.11	7.12	7.48	9.42
5	6.68	6.72	6.73	6.75

ตารางที่ 9 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

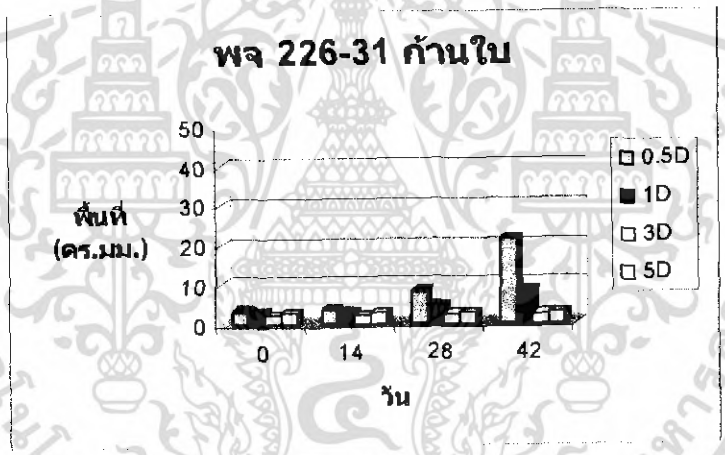


รูปที่ 22 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	3.45	3.62	8.33	21.48
1	3.05	3.10	4.77	8.56
3	2.35	2.36	2.54	2.56
5	2.67	2.68	2.68	2.69

ตารางที่ 10 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

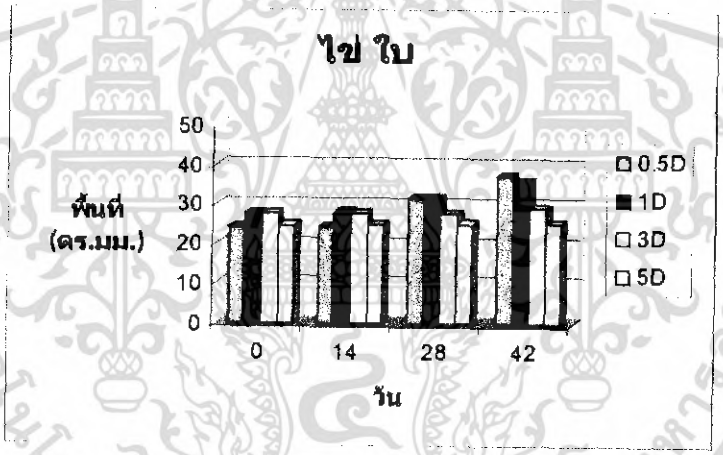


รูปที่ 23 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-31 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	24.50	24.65	31.93	37.52
1	27.87	28.18	31.94	35.96
3	27.74	27.81	27.89	29.37
5	24.80	24.87	25.21	25.57

ตารางที่ 11 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ไข่ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

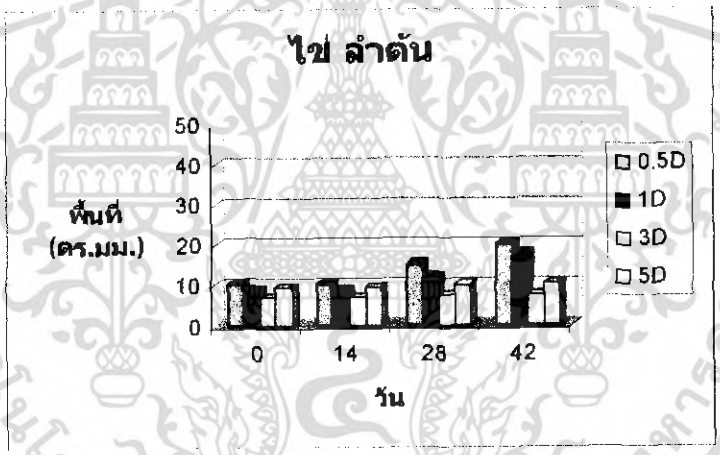


รูปที่24 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ไข่บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	10.22	10.33	15.27	20.10
1	8.78	8.86	12.29	17.70
3	7.09	7.15	7.40	7.64
5	9.40	9.48	10.05	10.24

ตารางที่12 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ไข่ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

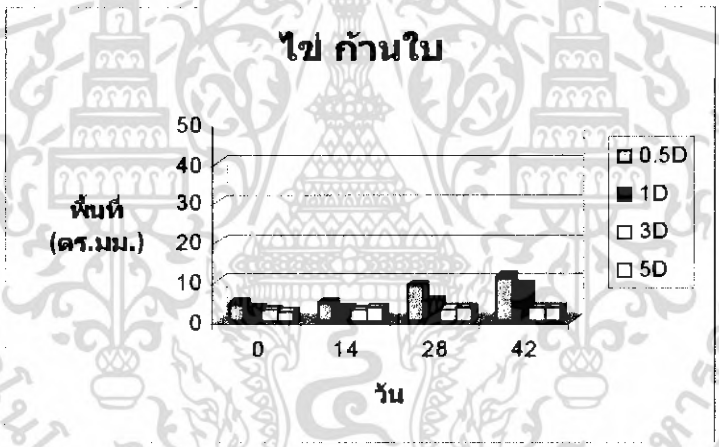


รูปที่25 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ไข่ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	4.50	4.70	8.93	11.26
1	3.05	3.11	4.99	9.23
3	2.69	2.72	2.98	3.24
5	2.43	3.28	3.36	3.37

ตารางที่ 13 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ไข่ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

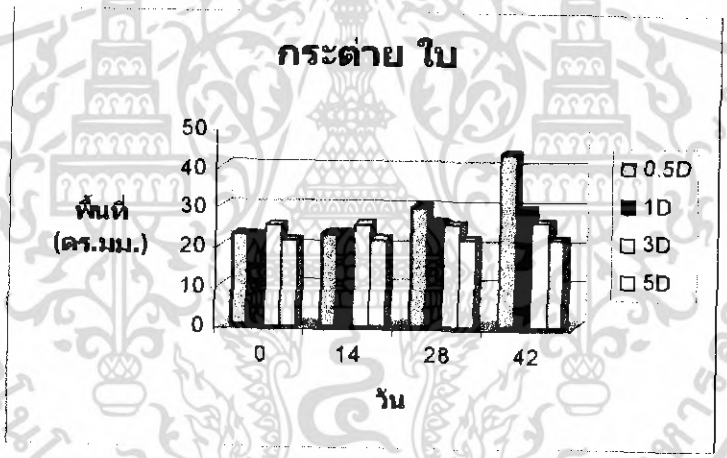


รูปที่ 26 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ไข่ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	23.22	23.52	30.19	43.86
1	22.86	23.59	26.48	29.67
3	25.54	25.68	25.79	26.56
5	21.63	21.86	21.92	22.02

ตารางที่ 14 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์กระต่าย บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

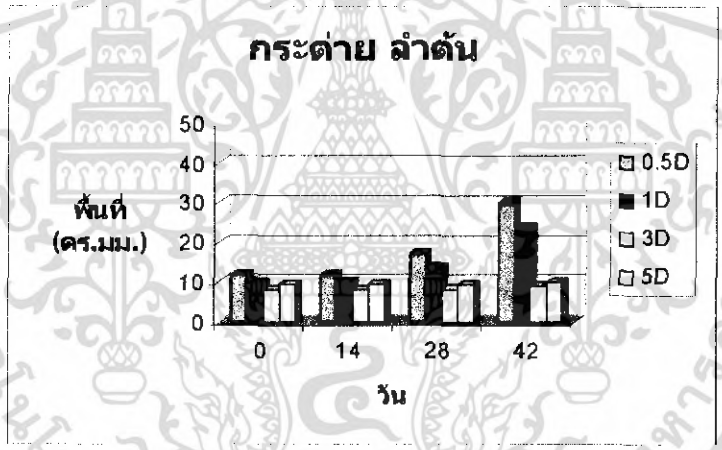


รูปที่ 27 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์กระต่ายบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	11.85	12.10	17.19	30.11
1	10.11	10.12	13.75	24.15
3	7.95	8.02	8.37	9.07
5	9.40	9.45	9.55	9.88

ตารางที่ 15 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์กระต่าย บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

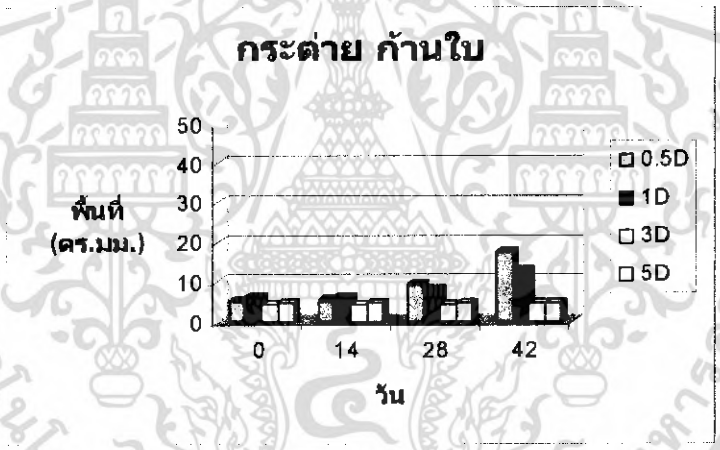


รูปที่ 28 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์กระต่ายบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	5.27	5.47	9.42	17.65
1	6.10	6.14	7.96	12.74
3	4.19	4.21	4.37	4.74
5	4.76	4.78	4.78	4.80

ตารางที่ 16 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์กระต่ายบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

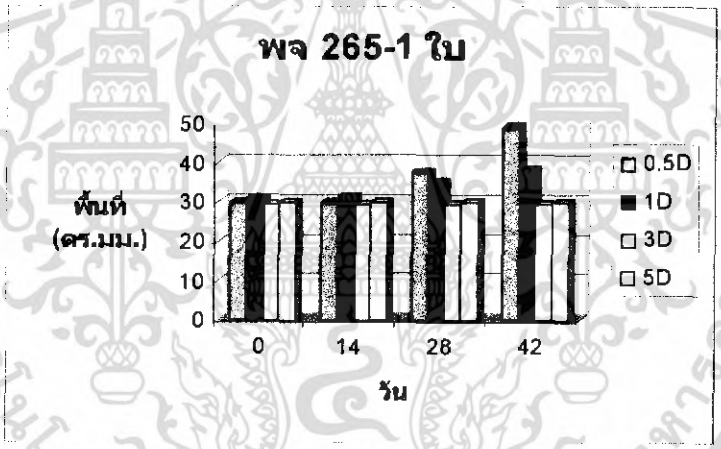


รูปที่ 29 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์กระต่ายบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	29.73	29.84	37.49	48.94
1	30.95	31.22	35.16	37.96
3	29.18	29.30	29.37	29.48
5	29.77	29.90	29.97	30.00

ตารางที่ 17 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

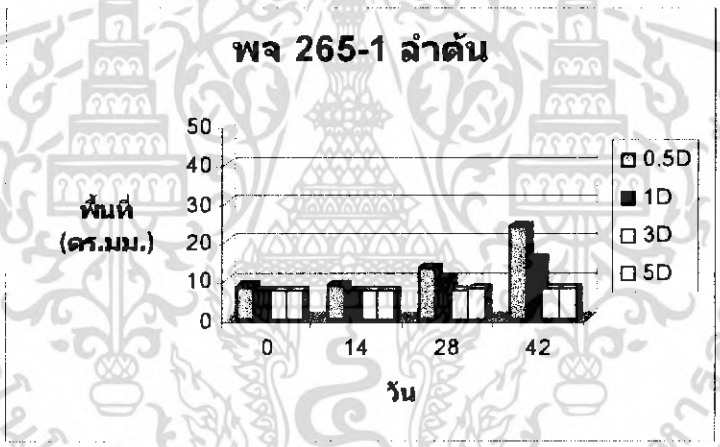


รูปที่ 30 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	8.53	8.86	13.17	24.05
1	7.11	7.20	9.95	15.42
3	7.25	7.36	7.40	7.70
5	7.39	7.41	7.56	7.56

ตารางที่ 18 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

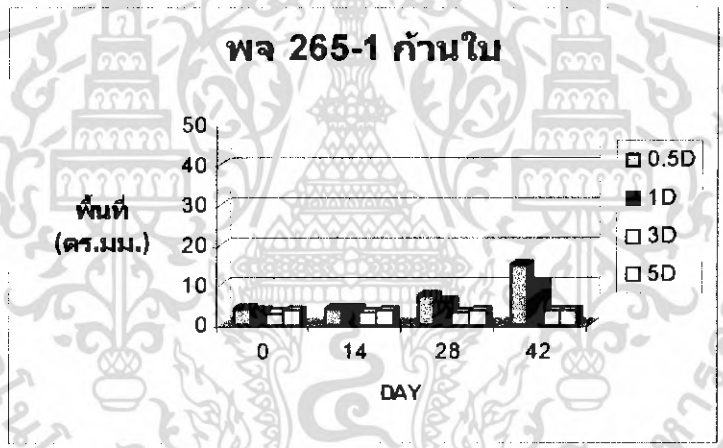


รูปที่ 31 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	4.03	4.22	7.34	15.19
1	3.77	3.84	5.99	10.37
3	2.97	3.09	3.11	3.69
5	3.46	3.48	3.48	3.48

ตารางที่ 19 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

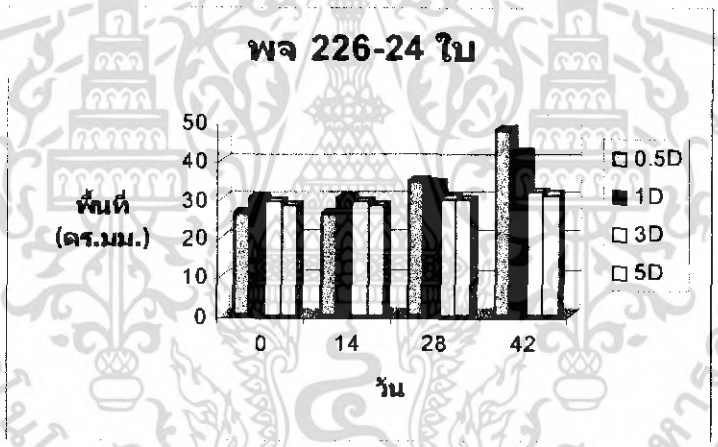


รูปที่ 32 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	26.43	26.53	34.76	47.96
1	30.23	30.48	34.46	42.13
3	29.28	29.35	30.18	31.73
5	28.39	28.46	30.05	31.12

ตารางที่ 20 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

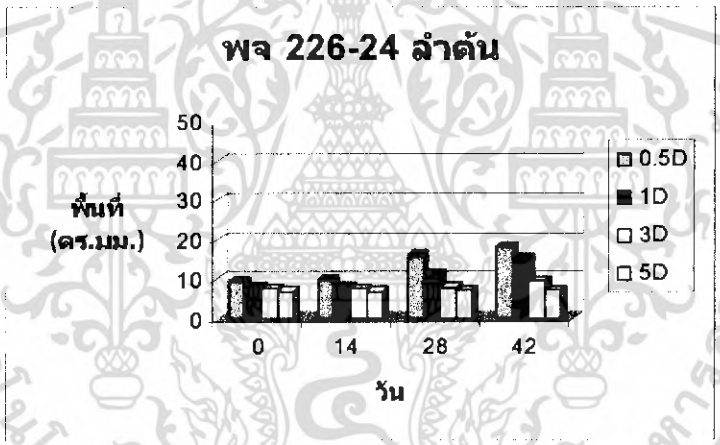


รูปที่ 33 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	9.36	9.83	16.04	18.29
1	8.03	8.15	11.56	15.51
3	7.54	7.56	7.83	9.57
5	6.91	6.93	7.13	7.15

ตารางที่ 21 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

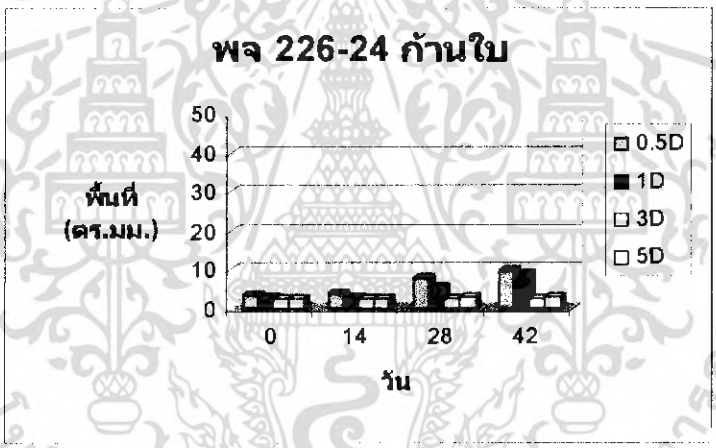


รูปที่ 34 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนลำต้นของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตร.มม.)			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
0.5	3.74	4.02	7.84	9.83
1	3.13	3.20	5.52	8.86
3	2.47	2.50	2.52	2.52
5	2.76	2.78	2.94	2.94

ตารางที่ 22 แสดงพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกันคือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 35 กราฟแสดงการเพิ่มขึ้นของพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสจากส่วนก้านใบของมันเทศสายพันธุ์ พจ 226-24 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ 2,4-D แตกต่างกัน คือ 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่โดยการใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA ที่แตกต่างกัน

การทดลองนี้จะทำการหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ และนำผลที่ได้ในแต่ละสูตรอาหารมาเปรียบเทียบกัน โดยได้ทดลองเปรียบเทียบในอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกัน 5 สูตร คือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้มันเทศจากชิ้นส่วนของลำต้นที่มีการเจริญของแคลลัสที่ดีที่สุดจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ พจ 95040-10 ที่นำมาจากอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับสายพันธุ์ พจ 265-1 ไข่ และกระต่าย ที่นำมาจากอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า

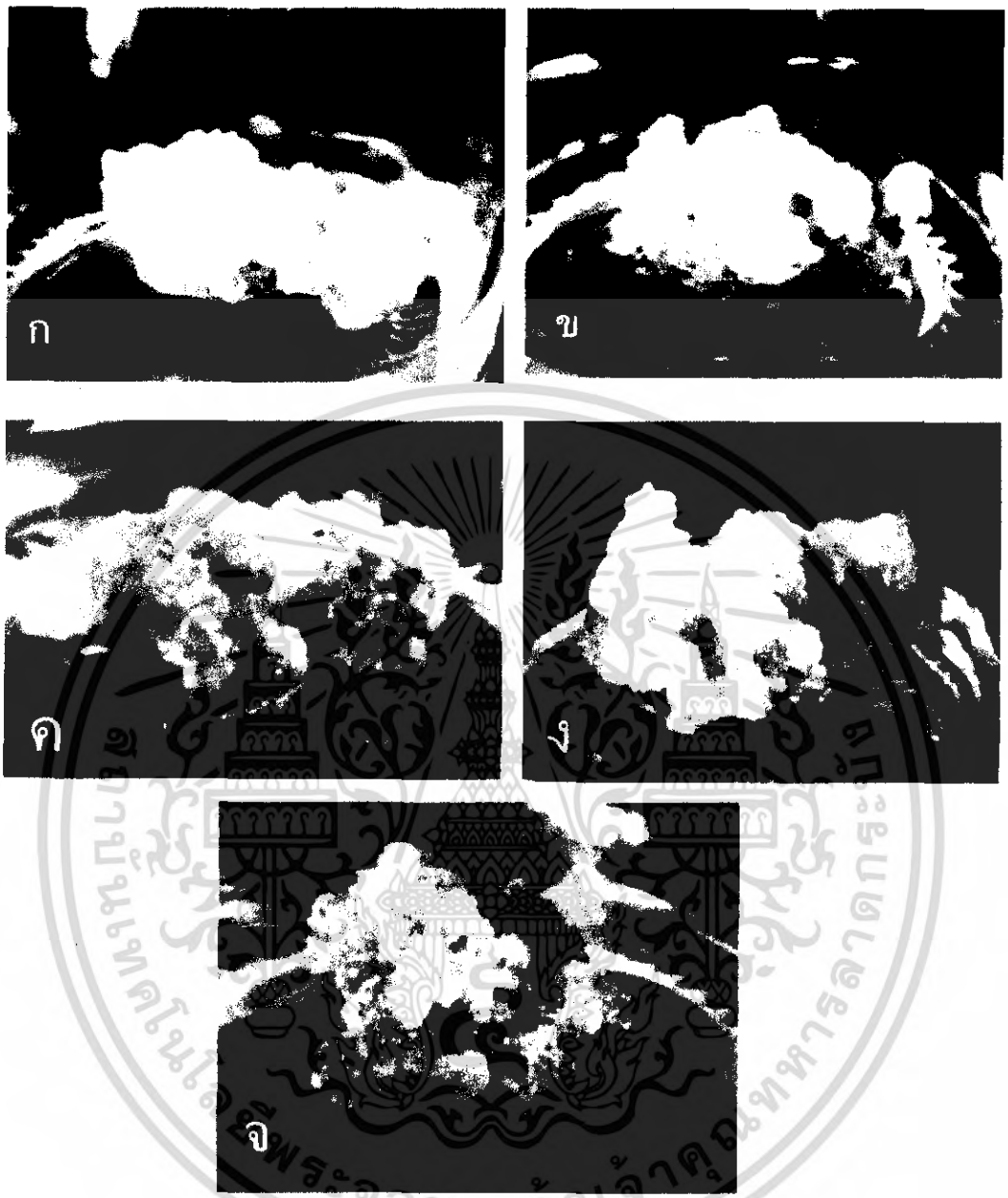
สายพันธุ์ พจ 95040-10 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียว แต่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวมากที่สุดที่ 40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 23)

สายพันธุ์ พจ 265-1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียว แต่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวมากที่สุดที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 24)

สายพันธุ์ไข่ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียว แต่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวมากที่สุดที่ 75 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 25)

สายพันธุ์กระต่าย ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียว แต่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวมากที่สุดที่ 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 26)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 36 แสดงการเปรียบเทียบแคลลัสสายพันธุ์ พจ 95040-10 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

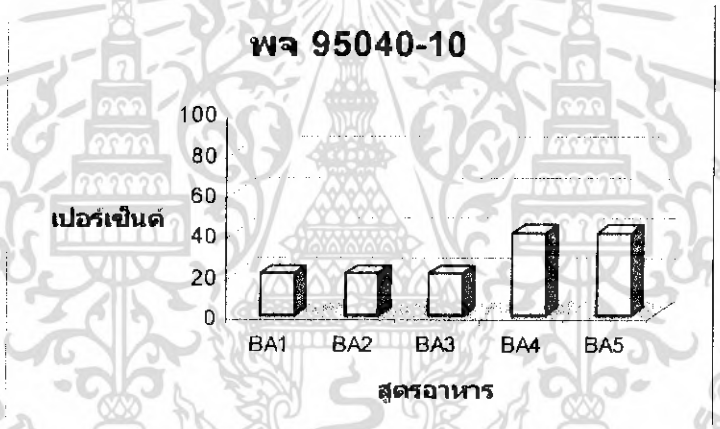
ง เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

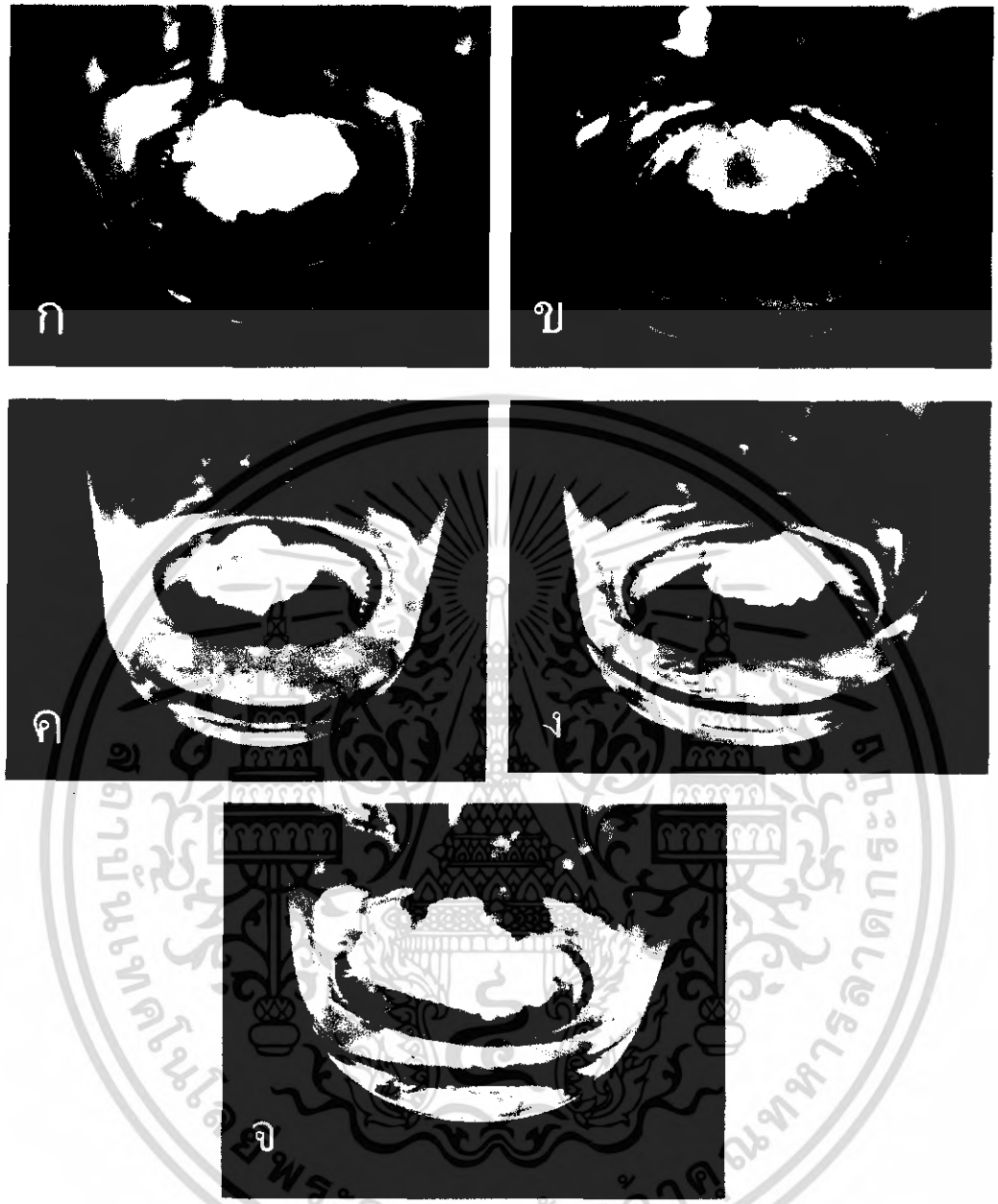
ปริมาณ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียว
1	20
2	20
3	20
4	40
5	40

ตารางที่ 23 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสของมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 37 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสมันเทศสายพันธุ์ พจ 95040-10 ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่39 แสดงการเปรียบเทียบแคลลัสสายพันธุ์ พจ 265-1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

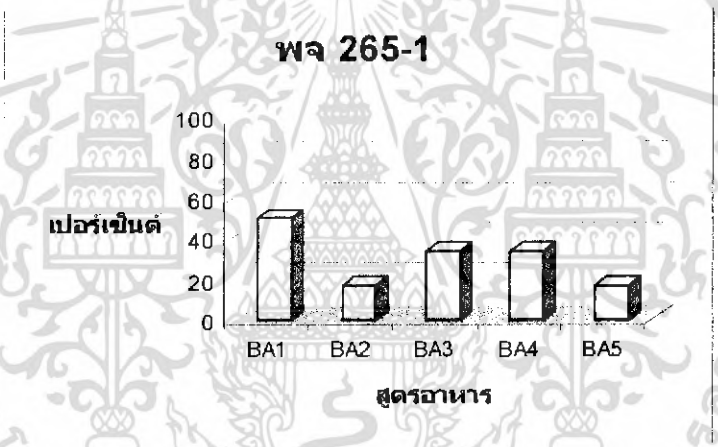
ง เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

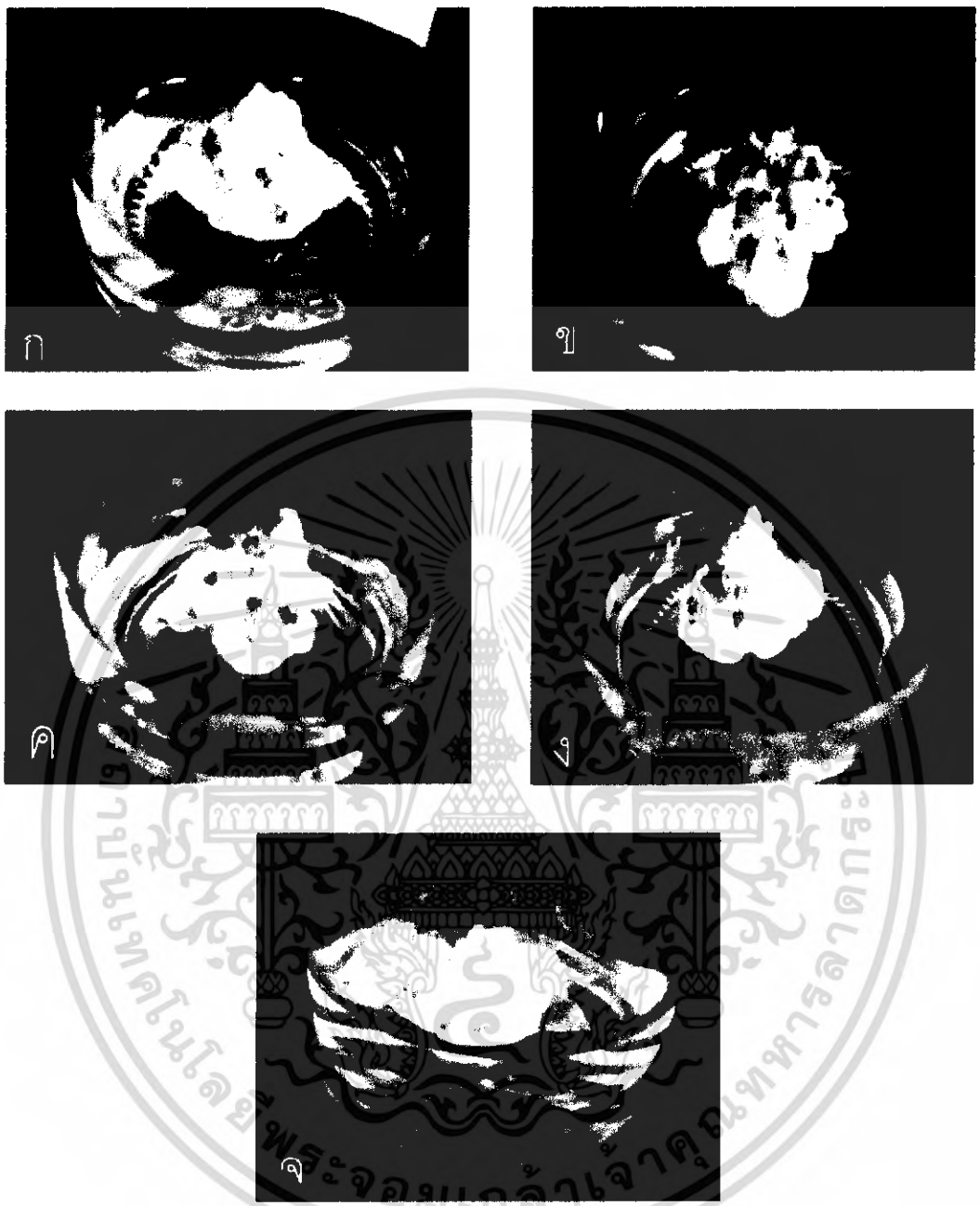
ปริมาณ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียว
1	50
2	16.67
3	33.33
4	33.33
5	16.67

ตารางที่ 24 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสของมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 39 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสมันเทศสายพันธุ์ พจ 265-1 ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 40 แสดงการเปรียบเทียบแคลลัสสายพันธุ์ไข่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA แตกต่างกันคือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

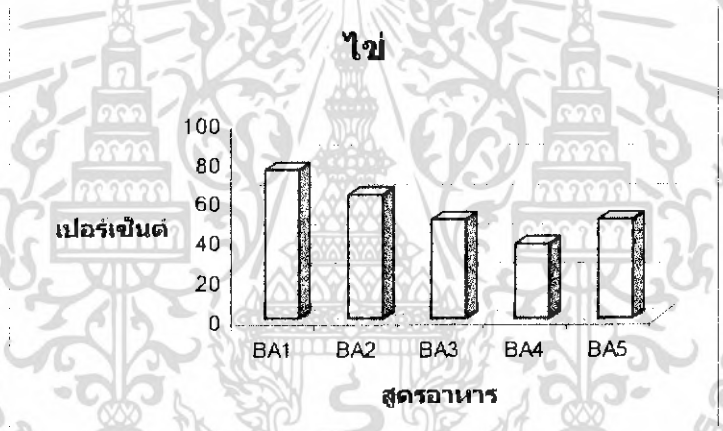
ง เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

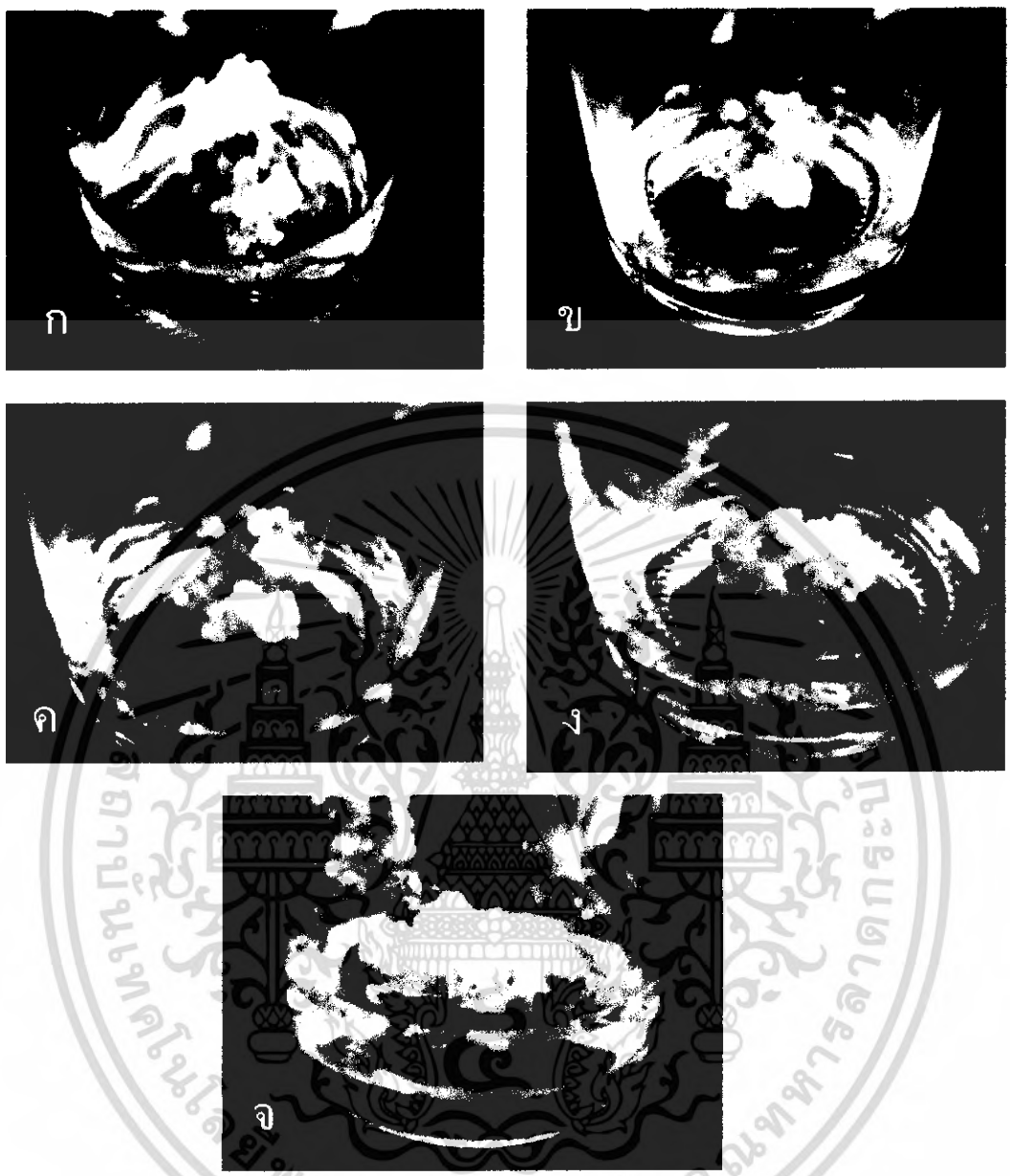
ปริมาณ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียว
1	75
2	62.5
3	50
4	37.5
5	50

ตารางที่ 25 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสของมันเทศสายพันธุ์ไข่ที่เจริญอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 41 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสมันเทศสายพันธุ์ไข่ที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 42 แสดงการเปรียบเทียบแคลลัสสายพันธุ์กระต่าย เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

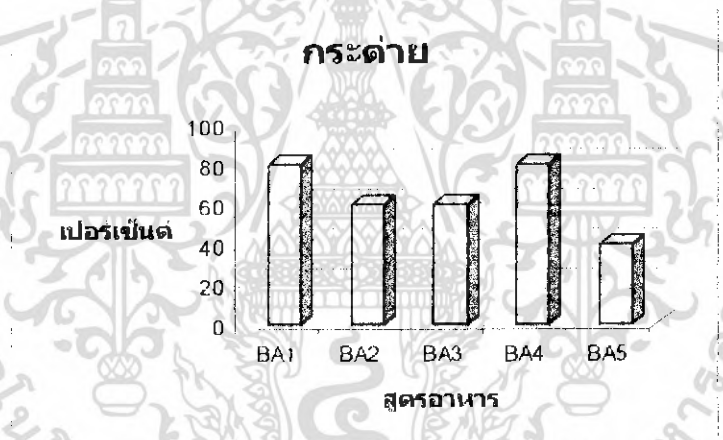
ง เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียว
1	80
2	60
3	60
4	80
5	40

ตารางที่ 26 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสของมันเทศสายพันธุ์กระต่ายที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร



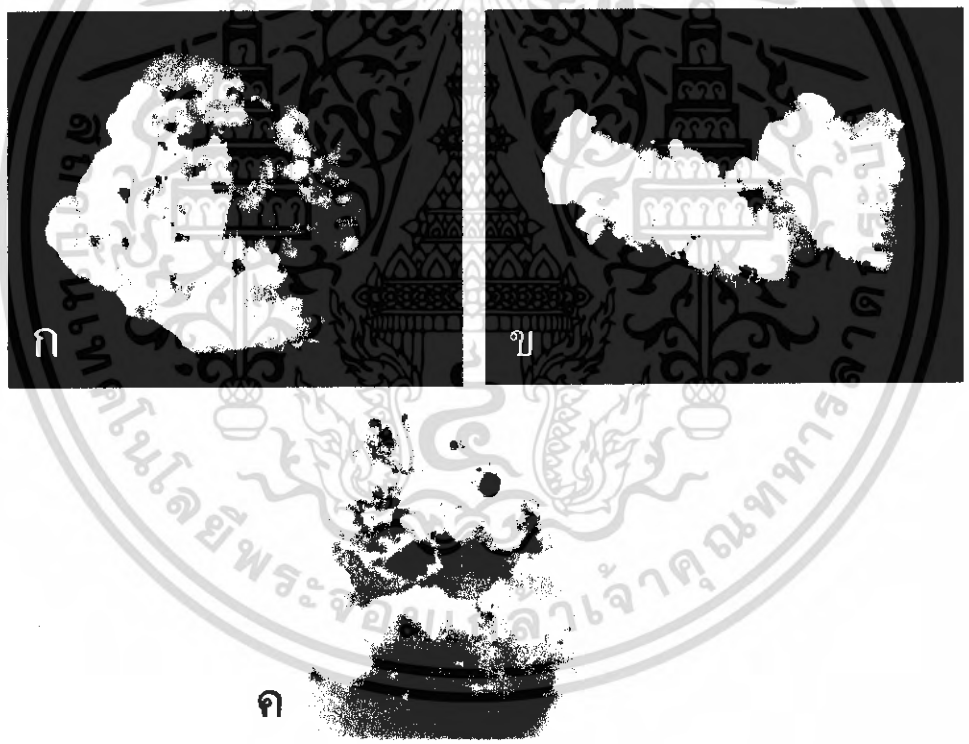
รูปที่ 43 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวของแคลลัสมันเทศสายพันธุ์กระต่ายที่เจริญ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA แตกต่างกันคือ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เป็นต้นใหม่โดยการใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA ที่เหมาะสม

การทดลองนี้จะทำการหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่โดยการใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA ที่เหมาะสมสำหรับแต่ละสายพันธุ์ โดยได้ทดลองเปรียบเทียบในมันเทศจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ไข่และกระต่าย ซึ่งจากการทดลองที่ 2 พบว่าปริมาณ BA ที่เหมาะสมสำหรับทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยนำมาเติม zeatin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 3 ความเข้มข้น คือ 0.1 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำผลที่ได้ในแต่ละสูตรอาหารมาเปรียบเทียบกัน ได้ผลการทดลองดังนี้

สายพันธุ์ไข่และกระต่าย ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม zeatin ทั้ง 3 ความเข้มข้นมีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์สีเขียวเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่สามารถเปรียบเทียบความแตกต่างของทั้ง 3 ความเข้มข้นได้



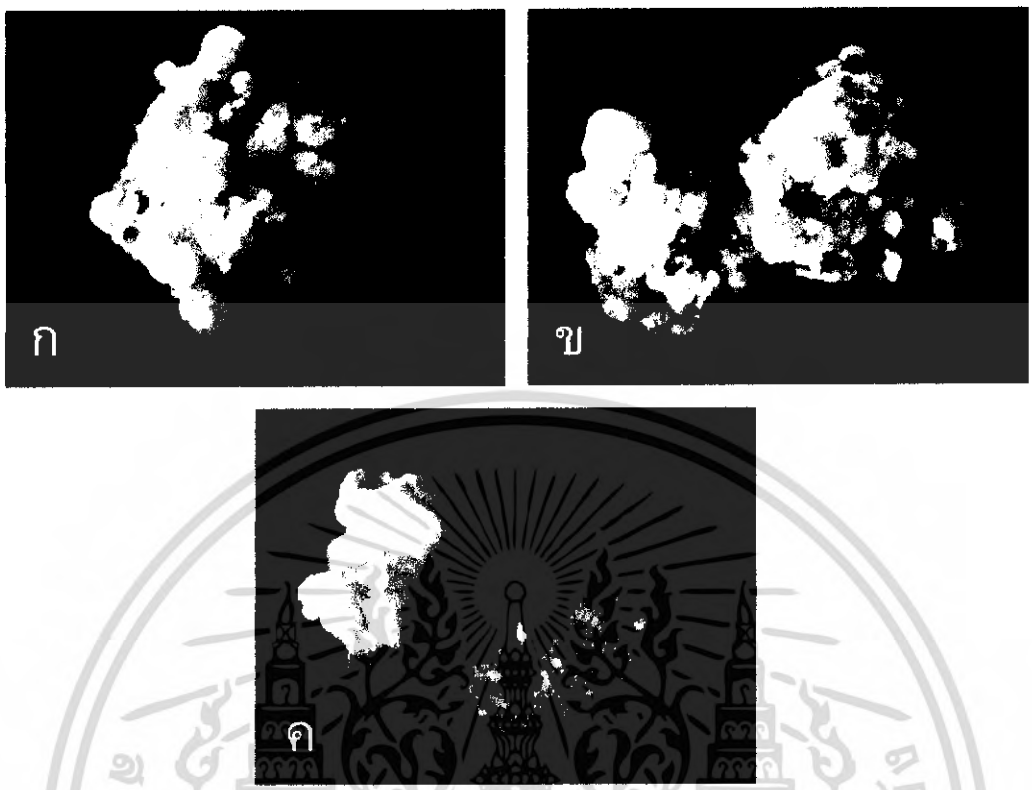
รูปที่ 44 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสายพันธุ์ไข่ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ zeatin มีปริมาณแตกต่างกัน คือ 0.1 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก เติม zeatin 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เติม zeatin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เติม zeatin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 45 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสายพันธุ์กระต่าย ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัม ต่อลิตร และ zeatin มีปริมาณแตกต่างกันคือ 0.1 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก เติม zeatin 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข เติม zeatin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค เติม zeatin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัส

จากการทดลองเพาะเลี้ยงมันเทศ 7 สายพันธุ์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ปริมาณแตกต่างกัน โดยศึกษาในช่วงเวลา 28-42 วัน พบว่า สายพันธุ์ พจ 95040-10 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสดีที่สุด สายพันธุ์ พจ 265-1 พจ 226-31 และกระต่าย ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิดรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด สำหรับสายพันธุ์ พจ 226-24 พจ206 และ ไข่ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี

การทดลองที่ 2 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่โดยการใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA ที่แตกต่างกัน

จากการทดลองเพาะเลี้ยงมันเทศ 4 สายพันธุ์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ปริมาณแตกต่างกัน พบว่า สายพันธุ์ พจ 95040-10 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวมากที่สุดที่ 40 เปอร์เซ็นต์

สายพันธุ์ พจ 265-1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวมากที่สุดที่ 50 เปอร์เซ็นต์

สายพันธุ์ไข่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวมากที่สุดที่ 75 เปอร์เซ็นต์

สายพันธุ์กระต่าย ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวมากที่สุดที่ 80 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 3 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เป็นต้นใหม่โดยการใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณ BA ที่เหมาะสม

จากการทดลองเพาะเลี้ยงมันเทศ 2 สายพันธุ์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม zeatin ปริมาณแตกต่างกัน พบว่า สายพันธุ์ไข่ และกระต่าย ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม zeatin ทั้ง 3 ความเข้มข้นมีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์สีเขียวเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่สามารถเปรียบเทียบความแตกต่างของทั้ง 3 ความเข้มข้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2544. หลักเทคโนโลยีชีวภาพของพืช. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. อุดรธานี : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี

ภูวดล บุตรรัตน์. 2538. โครงสร้างภายในของพืช. กรุงเทพฯ : บริษัทสำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด

นพดล จรัสสัมฤทธิ์. 2537. ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซท

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2540. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ขอนแก่น : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รังสฤษฏ์ กาวีตี๊ะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. กรุงเทพฯ : คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Murashige T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15 : 473-497.

Prakash C. S. 1994. Sweet potato Biotechnology. *Progress and potential, Biotechnology and Development Monitor.* 18 : 18-19.

Otani M., Shimada T. and Niizeki H. 1987. Mesophyll protoplast culture of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Plant Science.* 53 : 157-160.

Murata T., Hoshino K. and Miyaji Y. 1987. Callus formation and plant regeneration from petiole protoplast of sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. *Japan.J. Breed.* 37 : 291-298.

Murata T., Fukuoka H. and Miyaji Y. 1989. Culture condition on shoot tip culture of sweet potato,*Ipomoea batatas* (L.) Lam. *Proceeding of the Faculty of Agriculture, Kyushu Tokai University.* 8 : 9-14.

Murata T. and Fukuoka H. 1991. Plant regeneration from stem callus and rapid clonal propagation by roller tube culture of sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. *Proceeding of the Faculty of Agriculture, Kyushu Tokai University.* 10 : 37-44.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Murata T. and Fukuoka H. 1993. Plant regeneration from anther culture of sweet potato,*Ipomoea batatas* (L.) Lam. *Proceeding of the School of Agriculture, Kyushu Tokai University.* 12 : 1-9.

Murata T., Fuoka H. and Kishimoto M. 1994. Plant regeneration from mesophyll and cell suspension protoplasts of sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. *Breeding Science.* 44 : 35-40.

Dessai A. P., Gosukonda R. M., Blay E., Dumenyo C. K., Medina-Bolivar F. and Prakash C. S. 1995. Plant regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) from leaf explants in vitro using a two-stage protocol. *Scientia Horticulturae.* 217-224.

Jiang S. J. 2004. Regeneration of sweet potato transgenic plant with Oryzacystain-I(OCI)gene. *Chinese Journal of Agricultural Biotechnology.* 1 : 99-102(4).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog)

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3	6.2
$MnSO_4.H_2O$	6.9
$ZnSO_4.H_2O$	6.14
KI	0.83
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Na_2EDTA	37.25
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thyamine-HCl	0.1
Sucrose	30,000
pH 5.6	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้