13815

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนยอดกล็อกซิเนียและการเก็บรักษาพันธุ์เยอบีรา ในสภาพปลอดเชื้อ

Media for Propagation of Gloxinia and Conservation of Gerbera in Aseptic Culture

โดย

นางสาวปริดา สารบูรณ์

นางสาววิภาวดี สืบสะอาด

อาจารย์วิชัย ลิ้มภาดุลพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

T100132

(ผศ.ดร. อารมย์ ศรีพิจิตต์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ ๑๔ มีนาคม พ.ศ. 2533

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....100132
วัน,เดือน,ปี.....17 JUN 2009

ปพ.
ป456ส
2533

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษเรื่องนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือจาก อาจารย์วิชัย สิ้มภาณุจนพงศ์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ซึ่งได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ ในการแก้ปัญหาต่างๆอย่างดียิ่ง ตลอดจนได้ช่วยตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษอย่างละเอียดจนสำเร็จเรียบร้อย

นอกจากนี้คุณพ่อ คุณแม่ได้กรุณาให้กำลังใจ และช่วยเหลือเรื่องการศึกษาเป็นอย่างดียิ่งตลอดมา อีกทั้งเพื่อน ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจและมีส่วนผลักดันให้ผู้จัดทำสามารถทำปัญหาพิเศษเรื่องนี้จนสำเร็จลงด้วยดี ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ณ ที่นี้ด้วย

ปริดา สารบูรณ์

วิภาวดี สิบสะอาด

28 มีนาคม 2533

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนยอดกล็อกซิเนียและการเก็บรักษาพันธุ์เยอบีรา ในสภาพปลอดเชื้อ

Media for Propagation of Gloxinia and Conservation of Gerbera in Aseptic Culture

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์กล็อกซิเนียเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสม โดยนำ clean culture กล็อกซิเนียมาเลี้ยงในอาหาร MS + Kinetin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ 0, 0.5, 1, 2, 4, 6 ppm โดยให้ความเข้มข้นของ IAA คงที่ คือ เท่ากับ 0.5 ppm พบว่าแนวโน้มจำนวนยอดในอาหารสูตร MS + Kinetin 2 ppm + IAA 0.5 ppm จะให้ผลค่อนข้างดีในช่วงเวลา 1 เดือน ในเดือนที่ 2 บางสูตรจำนวนยอดลดลง ฉะนั้นถ้าต้องการใช้ยอดในการขยายพันธุ์ ควรใช้ต้นในการขยายพันธุ์ ควรใช้ต้นในช่วงอายุก่อน 2เดือน และเนื่องจากในช่วงอายุ 2 เดือน ต้นจะมีความสูงมากขึ้น ซึ่งกล็อกซิเนียสามารถขยายพันธุ์ด้วยข้อได้ ต้นที่สูงมากขึ้นแสดงว่ามีข้อมากขึ้นด้วย ฉะนั้นในช่วงอายุ 2 เดือน กล็อกซิเนียเหมาะที่จะใช้ต้นขยายพันธุ์ได้ และความสูงของต้นจะมากที่สุดในอาหารสูตร MS + Kinetin 0 ppm + IAA 0.5 ppm

ส่วนการศึกษาการเก็บรักษาเยอบีราโดยใช้สารชะลอการเจริญเติบโต 2 ชนิดคือ CCC และAncymidol ที่มีความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8, 10 ml/l ปรากฏผลว่า Ancymidol จะได้ต้นเยอบีราที่มีความสูงน้อยที่สุด สำหรับการใช้ CCC และ Control จะได้ต้นเยอรบีราที่มีความสูงใกล้เคียงกัน ความเข้มข้นของ Ancymidol ที่ให้ผลการชะลอการเจริญเติบโตมากที่สุด คือ ตั้งแต่ 4 ml/l ขึ้นไป ซึ่งจะให้ผลใกล้เคียงกันในแต่ละความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
สารบาญตาราง	1
สารบาญภาพ	2
คำนำ	4
การตรวจเอกสาร	6
อุปกรณ์และวิธีการ	13
ผลการทดลอง	17
วิจารณ์	29
สรุปผลการทดลอง	31
เอกสารอ้างอิง	32
ภาคผนวก	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. แสดงจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นในต้นกล็อกซิเนียที่เลี้ยง
ในอาหารสูตร MS + KI + IAA ที่อายุ 1 เดือน..... 17

2. แสดงจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นในต้นกล็อกซิเนียที่เลี้ยง
ในอาหารสูตร MS + KI + IAA ที่อายุ 2 เดือน..... 18

3. แสดงความสูงเฉลี่ยของต้นต้นกล็อกซิเนียที่เลี้ยง
ในอาหารสูตร MS + KI + IAA ที่อายุ 2 เดือน..... 19

4. แสดงความสูงเฉลี่ยของต้นเยอบีราที่อายุการเก็บรักษาต่าง ๆ กัน
ในอาหารสูตร MS + สารชะลอการเจริญเติบโต..... 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

ภาพที่ หน้า

1. อัตราความสูงของต้นเยอบีราบนอาหาร MS ที่เติม
Ancymidol 0, 2, 4, 6, 8, 10 ml/lit.
ที่อายุการเก็บรักษา 1, 2, 3 เดือน..... 23

2. อัตราความสูงของต้นเยอบีราบนอาหาร MS ที่เติม
CCC 0, 100, 300, 500, 700, 900, ที่อายุ
การเก็บรักษา 1, 2, 3 เดือน..... 24

3. เปรียบเทียบอัตราความสูงของต้นเยอบีราบนอาหาร
MS ที่เติม Ancymidol และที่เติม CCC..... 25

4. ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นเยอบีราที่เลี้ยงบน
อาหาร MS เติม Ancymidol 0, 2, 4, 6, 8,
10 ml/lit. ที่อายุการเก็บรักษา 2 เดือน..... 26

5. ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นเยอบีราที่เลี้ยงบน
อาหาร MS เติม CCC 0, 100, 300, 500,
700, 900 ppm ที่อายุการเก็บรักษา 2 เดือน..... 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

6. ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นเยอบีราที่เลี้ยงบนอาหาร MS เติม Ancymidol, CCC เปรียบเทียบกับ Control..... 28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนยอดกล็อกซิเนียและการเก็บรักษาพันธุ์เยอบีราในสภาพปลอดเชื้อ

Media for Propagation of Gloxinia and Conservation of Gerbera in Aseptic Culture

คำนำ

ความรู้ทางการเกษตรได้พัฒนาและก้าวหน้ามากขึ้น เช่น ในด้านการขยายพันธุ์พืช นอกจากจะขยายพันธุ์พืชด้วยเมล็ดแล้ว ยังใช้วิธีการต่างๆ เช่น การตอน การตัดชำ การติดตา การทาบกิ่ง ซึ่งเป็นการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (asexual propagation) ในปัจจุบันได้มีการนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ขยายพันธุ์อีกวิธีหนึ่ง โดยใช้ส่วนต่างๆของพืช เช่น ตา ข้อ ปล้อง ใบ ดอก ผล ละอองเกสร ฯลฯ ได้

ดอกไม้เป็นสิ่งให้ความสุขแก่มนุษย์ทางจิตใจ บรรดาไม้ดอกต่างๆที่ปลูกในปัจจุบันมีทั้งกำเนิดในเมืองไทย และส่งมาจากต่างประเทศ ไม้ดอกที่สั่งเข้ามาปลูกยังมีอีกมาก ในบรรดาที่สั่งเข้ามาทดลองปลูกนี้ กล็อกซิเนียเป็นชนิดหนึ่งที่จะปลูกได้ผลดีในบ้านเรา

กล็อกซิเนียเป็นไม้กระถางที่มีลักษณะพิเศษว่ากระถางที่เราเห็นอยู่ทั่วไป คือ เป็นไม้ที่ทนร่มได้ดีมาก ดังนั้นจึงเหมาะที่จะปลูกประดับตามระเบียงบ้าน หรือห้องรับแขก นอกจากนี้กล็อกซิเนียถึงแม้ว่าจะอยู่ในที่ค่อนข้างร่ม ก็ยังให้ดอกได้ดีอีกด้วย ซึ่งผิดกับไม้ดอกชนิดอื่นๆเป็นส่วนใหญ่ที่ต้องการแสงแดดมากจึงจะให้ดอก ดังนั้นจึงได้ทำการสั่งพันธุ์กล็อกซิเนียเข้ามาปลูกโดยทั่วไปการขยายพันธุ์กล็อกซิเนียใช้การปลูกจากหัว โดยการปักชำใบ และการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดซึ่งใช้เวลานานอย่างน้อย 3-4 เดือน และสิ้นเปลืองเนื่องจากการขยายพันธุ์จะประสบปัญหามากมายทั้งสภาพอากาศ โรค แมลง ความชื้น ทำให้ได้ต้นกล็อกซิเนียที่เข็งแรงจำนวนน้อย และยังสิ้นเปลืองในการดูแลรักษาอย่างใกล้ชิดระหว่างการขยายพันธุ์อีกด้วย จึงได้มีผู้นำมาขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่ยังไม่มีสูตรอาหารที่เหมาะสมแน่นอนลงไป จึงสมควรหาสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ต้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาถึงระดับความเข้มข้นของ Kinetin ร่วมกับ IAA 0.5 ppm ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนยอดของกล็อกซิเนีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากจะมีการใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อประโยชน์ในการขยายพันธุ์แล้ว ยังสามารถเก็บรักษาพันธุ์พืชได้อีกด้วย เพราะการเก็บรักษาโดยวิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวก ประหยัดพื้นที่และแรงงานในการดูแลรักษา และยังปลอดภัยจากภัยธรรมชาติด้วย

เยอบีราเป็นไม้ดอกที่สวยงามโดยเฉพาะเยอบีราพันธุ์ยุโรปเหมาะสมที่จะตัดดอกขายมาก เนื่องจากดอกมีก้านที่แข็งแรง กลีบใหญ่ หนา และแข็งแรงกว่าของไทย ก้านยาวสูง ไม่เหี่ยวเฉาง่ายมีความทนทานนาน โดยปกติเยอบีราพันธุ์ยุโรปส่วนใหญ่ใช้การขยายพันธุ์โดยการใช้เมล็ดจะช้ามาก ดังนั้นการขยายพันธุ์เยอบีราพันธุ์ยุโรปในปัจจุบันจึงนิยมใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกันอย่างกว้างขวาง มีหน่วยงานที่ทำการขยายพันธุ์เยอบีราวิธีนี้หลายหน่วยงาน ซึ่งตามปกติมีความจำเป็นต้องทำการ Subculture ตั้งแต่ 4-6 สัปดาห์ แต่จำนวนพันธุ์และจำนวนขวดที่เพิ่มมากในปัจจุบัน ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและแรงงาน เพียงแค่การ Subculture เพื่อทำการรักษาพันธุ์เอาไว้ จึงน่าจะหาวิธีลดหรือชะลอการเจริญเติบโตของต้นเยอบีราที่เพาะเลี้ยงอยู่ ให้โตช้าลง เพื่อประหยัดเวลาและแรงงานในการ Subculture

การเก็บรักษาโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถทำได้หลายวิธี เช่นการใช้อุณหภูมิต่ำ การลดปริมาณอาหารที่เลี้ยง เป็นต้น การใช้สารชะลอการเจริญเติบโตก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการเก็บรักษาได้ การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการทดลองศึกษาถึงผลของสารชะลอการเจริญเติบโต 2 ชนิด ที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเยอบีรา สารดังกล่าวได้แก่ CCC และ Ancymidol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

กล็อกซิเนีย(Gloxinia)หรือ Sinningia เป็นพันธุ์ไม้ที่ให้ดอกขนาดใหญ่และสีสดใส งดงามมาก เหมาะที่จะปลูกในกระถาง กล็อกซิเนียมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Sinningia speciosa อยู่ในสกุล Gesneriaceae (Laurie,1979) เป็นไม้เมืองร้อน และอบอุ่นมีหัวสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน กลีบดอกหนาเป็นกำมะหยี่ (velvety) ดอกมีทั้งดอกซ้อนและชั้นเดียว รูปดอกมีทั้งแบบรูปกรวย (trumpet) และแบบรูปรองเท้าแตะ (slipper) กล็อกซิเนียสามารถขยายพันธุ์ได้โดยวิธีเพาะเมล็ด ชำยอด ชำใบ บางครั้งใช้หัว (tuber) นอกจากนี้สามารถขยายพันธุ์ได้โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งจะได้ต้น (adventitious plantlets) เหมือนๆกันทุกต้น (Broertjes et al.,1978)

ในปัจจุบันสามารถปลูกกล็อกซิเนียให้ออกดอกได้สวยงามในประเทศไทย เหมาะที่จะปลูกเป็นไม้กระถางประดับอาคารบ้านเรือน จึงสมควรหาวิธีขยายพันธุ์ให้ได้ต้นเหมือนเดิมเป็นจำนวนมาก จึงได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากก้านช่อดอก และหาวิธีเพิ่มปริมาณให้ได้ต้นเป็นจำนวนมาก

ในปี 1977 Nazario ได้ศึกษาการเลี้ยงกล็อกซิเนียในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร B5 (Gamborg et al.,1968) และเติม NAA 1 um และ BA ระดับ 1,5,10 um ให้ได้รับแสง 100 แรงเทียน เป็นเวลา 16 ชั่วโมงภายใน 6 สัปดาห์ สามารถงอกต้นเป็นจำนวนมาก และถ้าใช้ BA ระดับต่างๆจะชักนำให้เกิดแคลลัส(callus)สีเขียวแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลใน 3 เดือนต่อมา และพบว่าสามารถใช้ปลายยอดที่มีเนื้อเยื่อเจริญ(meristem tip) เป็นชิ้นส่วนที่จะนำมาเพาะเลี้ยงได้นอกเหนือจากใบ

ปี 1974 Murashige ได้รวบรวมผลงานที่นักวิทยาศาสตร์บางท่านได้ศึกษาการขยายพันธุ์กล็อกซิเนียในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าสามารถนำส่วนของปลายยอด(shoot tip)และใบเป็น explant เมื่อนำส่วนของปลายยอดมาเลี้ยงจะแตกตาข้าง(axillary shoot)ถ้านำใบมาเลี้ยงจะได้ทั้งแคลลัส(callus)และต้น(adventitious shoot)

ปี 1957 Skoog และ Miller พบว่าการพัฒนาของเนื้อเยื่อไปเป็นต้นหรือรากขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2 กลุ่มคือ auxin และ cytokinin ถ้าอัตราของ auxin ต่อ cytokinin ต่ำกว่าสมดุลย์ เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นยอด และถ้าอัตราของฮอร์โมนทั้งสองกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สงดุลย์กัน เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นต้นที่มีทั้งยอดและราก

รงรอง(2528) ทำการขยายพันธุ์กล็อกซิเนียโดยการนำส่วนของก้านดอกตูมมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Murashing และ Skoog (MS) 1962 พบว่าภายในเวลา 2 เดือน สามารถเกิดต้นได้ 3-4 ต้น และเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS + Kinetin 2 mg/l สามารถเพิ่มปริมาณได้เป็นพันต้นภายใน 3-4 เดือน

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ (morphology) เช่นการเกิดยอด ราก และอื่น ๆ ไพบูลย์ (2524) ได้เรียบเรียงเกี่ยวกับหลักการนี้ว่า โดยหลักการแล้วเซลพืชทุกเซลจะมีลักษณะทางด้านพันธุกรรมที่ครบสมบูรณ์ ซึ่งสามารถเจริญไปเป็นพืชทั้งต้นได้ แต่การเจริญและพัฒนาจะไม่เกิดกับเซลที่อยู่ในต้นพืชทุกเซล ทั้งนี้ก็เพราะความสัมพันธ์ของเซลที่มีต่อกันในต้นพืช

มีปัจจัยหลายอย่างที่ควบคุมการเกิดการเจริญของเนื้อเยื่อและ morphogenesis ซึ่งพอจะสรุปได้ดังนี้

1. ปัจจัยภายใน (endogenous factors)

ก. ลักษณะทางพันธุกรรม (genetic factor) การเกิดยอดและ/หรือรากนั้นขึ้นกับชนิดของพืช พืชบางชนิดอาจจะเกิดเป็นรากและยอดได้ง่าย ในขณะเดียวกันพืชอีกชนิดหนึ่งเกิดขึ้นได้ยากแม้จะเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสม

ข. สารควบคุมการเจริญเติบโตในพืช (hormone) ฮอร์โมนมีบทบาทอย่างมากกับขบวนการ morphogenesis ซึ่งเข้าใจว่าการเกิด morphogenesis จะถูกควบคุมด้วยระดับและชนิดของฮอร์โมนในชิ้นส่วนของพืชฮอร์โมนบางชนิดอาจจะช่วยส่งเสริมให้มีการเกิด morphogenesis ในขณะที่ฮอร์โมนบางตัวชะงักการเกิดขบวนการดังกล่าว

ระดับ (levels) และชนิด (kinds) ของฮอร์โมนในชิ้นส่วนของพืชมีความแตกต่างกันออกไปขึ้นกับชนิดของพืช, ชนิดของเนื้อเยื่อ, สภาพของเนื้อเยื่อและอื่น ๆ

ในพืชแต่ละชนิดมีระดับและชนิดของฮอร์โมนแตกต่างกันได้ เช่น ในพืชชนิดหนึ่งอาจมีฮอร์โมน auxin ในปริมาณมาก แต่อีกชนิดหนึ่งอาจจะมีฮอร์โมน auxin ในปริมาณน้อย แต่มี gibberllin ในปริมาณมากเป็นต้น และแม้ในพืชต้นเดียวกันเนื้อเยื่อแต่ละชนิดก็ยังมีระดับและชนิดของฮอร์โมนแตกต่างกันออกไปได้ และเพราะว่าเนื้อเยื่อของพืชมีการเจริญและพัฒนาอยู่เสมอฉนั้นระดับและชนิดของฮอร์โมนที่อยู่ในเนื้อเยื่อชนิดหนึ่ง ๆ จึงเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพ เป็นที่เชื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กันว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับและชนิดของฮอร์โมน เป็นสาเหตุทำให้เนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีระ มิใช่เป็นผลของการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ดีการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของเนื้อเยื่อ และการเปลี่ยนแปลงระดับและชนิดของฮอร์โมนในเนื้อเยื่อมักจะเกิดควบคู่กันไปเสมอ

2. ปัจจัยภายนอก (exogenous factors)

ก. แสง (light) พืชหลายชนิดที่ต้องการความมืดในการเกิดรากหรือยอดและในการให้แสงแก่เนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อนั้น เชื่อกันว่าการให้แสงมิได้มีจุดหมายเพื่อให้เนื้อเยื่อใช้แสงในการปรุงอาหาร (photosynthesis) แต่เพื่อช่วยการเกิด morphogenesis มากกว่าซึ่งการให้แสงจะเกี่ยวกับคุณภาพของแสง ความเข้มของแสง และมีผู้เชื่อว่าปริมาณแสงชนิดใดชนิดหนึ่ง (ความเข้มข้นของแสง x ระยะเวลาการให้แสง) มีความสำคัญมากกว่าความเข้มข้นของแสง หรือระยะเวลาในการให้แสงเพียงอย่างเดียว ในการชักนำหรือควบคุมการเกิด morphogenesis

ข. อุณหภูมิ (temperature) การเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วๆไปมักจะใช้อุณหภูมิคงที่ประมาณ 25° ซ. นอกจากการใช้อุณหภูมิคงที่แล้ว การใช้อุณหภูมิสูงต่ำสลับกันระหว่างกลางคืนและกลางวัน ก็มีส่วนทำให้เลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชบางชนิดประสบความสำเร็จ

ค. สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regurators) Miller และ Skoog (1957) ได้เสนอไว้ว่าการเกิดเป็นต้น,ราก หรือแคลลัสของพืชแต่ละชนิดนั้นขึ้นกับความสมดุลย์ของปริมาณ auxin และ cytokinin ในอาหาร นอกจาก auxin และ cytokinin แล้วสารตัวอื่นๆก็มีความสำคัญในการควบคุมการเกิด morphogenesis ด้วย เช่นเมื่อมี gibberellin ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อมาก จะทำให้การเกิด morphogenesis เป็นไปได้ยากขึ้น ส่วนการใส่ ABA ส่วนใหญ่มักจะไประงับการเกิดต้นและ/หรือรากเป็นต้น

และสำหรับปัจจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับ morphogenesis ได้แก่ ขนาดของชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง(size of explant) สภาพการเลี้ยงเนื้อเยื่อ(cultural condition) เช่นการเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งหรืออาหารเหลวและปริมาณอากาศที่อยู่ในภาชนะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การเปลี่ยนเนื้อเยื่อจากอาหารเก่าลงสู่อาหารใหม่(subculture) และส่วนประกอบของอาหาร(medium component)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เยอบีราเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์(Family) Compositae ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Gerbera jamesonii Hort.มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางแอฟริกาใต้ มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 50 (Broertjes et al.,1978) เยอบีรามีชื่อเรียกได้หลายชื่อตามแหล่งกำเนิดและลักษณะดอกซึ่งคล้ายดอกเดซี่ เช่น "Transvaal Daisy", " Barberton Daisy" หรือ "African Daisy" เยอบีราสามารถขยายพันธุ์ได้โดยวิธีการเพาะเมล็ด การแยกหน่อ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (สมเพียร,2524)

Pierik และคณะ(1973) ได้ทำการขยายพันธุ์เยอบีราด้วยส่วนของฐานรองดอก (receptacle) ที่ติดอยู่บนก้าน (scape) ขนาด 2.5 ซม. ซึ่งรวมเรียกว่า capitulum explant โดยนำไปเลี้ยงในอาหารสูตร Hellers ที่เติม IAA 10^{-8} mg/l และ 6-benzyl amino purine(BA)

Murashige และคณะ (1974) ได้ทำการขยายพันธุ์เยอบีรา โดยใช้ส่วนปลายยอด (shoot tip) ขนาด 0.5-1.0 ซม. โยนำไปเลี้ยงในสูตรอาหารของ Murashige and Skoog (pH 5.7) ซึ่งมีอัตราส่วนของ IAA และ Kinetin ต่างกัน พบว่าการเพิ่มปริมาณการแบ่งเซลจะเกิดขึ้นมาก เมื่อเติม IAA 0.5 ppm และ Kinetin 10 ppm

รงรอง(2528) ทดลองชักนำให้เยอบีรากลายพันธุ์ในหลอดทดลองจากการเพาะเมล็ด เยอบีราสายพันธุ์ยุโรปในอาหารสูตร MS และ MMS ที่เติม Kinetin 10 mg/l และ IAA 0.5 mg/l ภายในเวลา 1 เดือน ต้นจะแตกหน่อเพิ่มจำนวนได้ถึง 6 ต้น เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 0.5 mg/l ทำให้ออกราก สามารถนำออกปลูกได้

การเก็บรักษาพันธุ์พืช (Plant Preservation)

พันธุ์พืชเป็นจำนวนมากได้สูญหายหรือกำลังจะสูญหายไป ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากภัยทางธรรมชาติที่ไม่สามารถป้องกันได้ หรือมนุษย์และสัตว์เข้าทำลายเพื่อประโยชน์แก่ตนเองมากเกินไป ซึ่งพันธุ์พืชเหล่านั้นอาจกลับมามีความสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต ปัจจุบันได้มีการเก็บรักษาพันธุ์พืชโดยทั่วไป โดยการปลูกเป็นสวนพฤกษศาสตร์หรือวนอุทยานซึ่งถือเป็นวิธีที่ดีที่สุดในขณะนี้ แต่ก็ยังเป็นการเสี่ยงต่อภัยธรรมชาติ สิ้นเปลืองพื้นที่เรงงาน และค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมาก ความสูญเสียของพืชเหล่านี้ก็ยังมีขึ้นได้ การเก็บรักษาโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะใช้เนื้อที่และแรงงานน้อยอีกทั้งยังปลอดภัย ซึ่งอาจทำได้โดยการเลี้ยงในหลอดแก้วและคอยเปลี่ยนอาหารอยู่เรื่อยๆ หรือเลี้ยงในอุณหภูมิต่ำ เพื่อให้มีการเจริญเติบโตน้อย อันมีผลทำให้มีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนอาหารน้อยครั้งลง นอกจากนี้อาจจะเก็บเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิต่ำมากๆ โดยเนื้อเยื่อไม่ตาย เช่นเก็บในไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) ซึ่งมีอุณหภูมิต่ำถึง -196° ซ. จะทำให้เนื้อเยื่อไม่มีการเจริญเติบโต แต่มีชีวิต เมื่อต้องการปลูกก็นำออกมาปลูกในสภาพปกติ วิธีนี้ก็สามารถเก็บรักษาพืชได้นาน เป็นต้น

<u>วิธีการเก็บรักษาพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ</u> สามารถเก็บรักษาโดยการ

1. เทคนิคการตัดแยกเนื้อเยื่อ (subculture technique) เป็นการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปกติชั่วระยะหนึ่ง เมื่อเนื้อเยื่อเจริญถึงจุดหนึ่งจึง subculture ย้ายลงอาหารใหม่ไปเรื่อยๆโดยไม่มีการนำออกปลูก แต่การใช้วิธีนี้มีข้อควรระวังคือเนื้อเยื่อเมื่อทำการ subculture ไปหลายๆครั้งเป็นเวลานานอาจสูญเสียความสามารถในการพัฒนาเป็นต้นได้ (Totipotency) ตลอดจนสิ้นเปลืองอาหารและแรงงานมากเกินไป

2. การชะลอการเจริญเติบโต (minimal growth) เป็นการชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อซึ่งอาจกระทำได้โดย

2.1 การเลี้ยงเนื้อเยื่อในอุณหภูมิต่ำ เนื้อเยื่อโดยทั่วไปมีการเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 20-30° ซ. เมื่ออุณหภูมิต่ำลงจะทำให้ขบวนการทางชีวเคมีภายในเซลเกิดช้าลง และอุณหภูมิที่ลดต่ำลงนี้จะต้องไม่ต่ำกว่าจุดที่ทำให้เนื้อเยื่อพืชได้รับอันตรายเนื่องจากความเย็น (chilling injury) ระดับอุณหภูมิที่ทำให้พืชได้รับอันตรายจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช Roca (1979) ได้รายงานถึงความสำเร็จของหน่วยงานในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20° ซ. เนื้อเยื่อจะมีอัตราการเจริญเติบโต 3 มม.ต่อเดือน และเนื้อเยื่อสามารถมีชีวิตอยู่ได้นาน 10 เดือน โดยไม่มีการเปลี่ยนอาหาร เมื่อย้ายลงบนอาหารใหม่เนื้อเยื่อก็สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ส่วนเนื้อเยื่อเจริญของมันฝรั่งสามารถยืดเวลาการเปลี่ยนอาหารเป็น 1 ปีได้ ถ้าเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 22° ซ. โดยมีอัตราอยู่รอดร้อยละ 83 เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12° ซ. และกลางคืน 6° ซ. (Henshaw <u>et al.</u>,1980) และได้มีการทดลองเก็บรักษาส่วนปลายยอดของ Kiwifruit (<u>Actinia chinensis</u> Planch .CV. Hayward) ในที่มืดและอุณหภูมิ 8° ซ. พบว่าสามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน 1 ปี มียอดเพิ่มขึ้น และน้ำหนักสดได้เพิ่มขึ้น 8 เท่า (Monette,1986)

2.2 การเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรดัดแปลง เช่นการเพิ่มปริมาณอาหารหรือเพิ่มปริมาณน้ำตาลเพื่อเพิ่ม osmotic pressure ทำให้เซลมีการดูดธาตุอาหารได้ช้าลง Henshaw และคณะ(1980) ได้รายงานว่าระดับน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อโดยทั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปประมาณ 3 % เมื่อเพิ่มน้ำตาลเป็น 8 % และเพิ่มปริมาณอาหารจาก 3.5 ml เป็น 6.0 ml เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดของมันฝรั่ง โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10° ซ. เป็นเวลา 1 ปี เนื้อเยื่อจะมีอัตราการอยู่รอด 39 % และเพิ่มถึง 56-88 % ในขณะที่เนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารธรรมดา มีอัตราการอยู่รอดเพียง 14 % เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 22° ซ. เป็นเวลา 1 ปี

3. การหยุดการเจริญเติบโต (Stop Growth) เป็นการเก็บรักษาโดยทำให้เนื้อเยื่อหยุดการเจริญเติบโตโดยวิธีการแช่แข็งในอุณหภูมิต่ำมาก การเก็บรักษาวิธีนี้สามารถเก็บได้ระยะเวลานานโดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหารใหม่ นิยมเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวซึ่งมีอุณหภูมิ -196° ซ. (Bajaj and Reinert,1977) วิธีนี้มีขบวนการที่ยุ่งยากและซับซ้อนมาก ถ้าต้องการป้องกันไม่ให้เซลได้รับอันตรายเนื่องจากอุณหภูมิต่ำมาก แต่มีเนื้อเยื่อพืชหลายชนิดที่ประสบความสำเร็จในการเก็บรักษาโดยวิธีนี้ เช่น ต้นกล้วยและเชื้อเทศ (Grout et al.,1978) เนื้อเยื่อส่วนตาของมันสำปะหลัง (Bajaj,1977)

และนอกจากนี้ในปัจจุบันมีการนำเอาสารชะลอการเจริญเติบโตมาใช้ประโยชน์ในการเก็บรักษาพันธุ์พืช เช่น การเก็บรักษากล้าไผ่ป่าและกล้าไผ่รวก พบว่าสามารถเก็บรักษาบนอาหารสูตรพื้นฐาน WP ที่เติมสารชะลอการเจริญเติบโต 2-chloroethyltrimethyl ammonium chloride (CCC) 1,000 , 1,500 และ 2,000 mg/l และบนอาหารที่เติมbutannedioic acid mono(2,2-dimethylhydrazide) (daminozide) 500และ1,000 mg/l โดยเก็บรักษาได้มากกว่า 8 เดือนสำหรับกล้าไผ่ป่า ขณะที่กล้าไผ่รวกสามารถเก็บรักษาได้มากกว่า 8 เดือนบนอาหารที่เติม CCC 500 และ 1,000 mg/l และ บนอาหารที่เติม daminozide 500 mg/l(นิ่มนวล,2528)

พีระเดช(2526) ได้กล่าวถึงคุณสมบัติและการใช้สารชะลอการเจริญเติบโตบางชนิดไว้ดังนี้

1. chlomequat (2-chloetyl-trimethylammonium chloride) เป็นสารที่ใช้กันมากที่สุดในโลก โดยใช้ในการผลิตไม้ผล และป้องกันการหักล้มของต้นธัญญพืช เช่น ข้าว ข้าวสาลี ในกรณีของไม้ดอกไม้ประดับจะช่วยลดความสูงของต้นได้ เช่น คาร์เนชั่น เจอร์ราเนียม พิทูเนีย ดาวเรือง เวอร์บีนา เพิ่มผลผลิตของโกโก้ และมันสำปะหลัง ช่วยในการติดผลขององุ่นหลายพันธุ์ ป้องกันการเกิดไหล (stolon) ของสตรอเบอรี่ กระตุ้นการเกิดรากในกิ่งตอน และกิ่งปักชำโดยทำให้เกิดการสะสมคาร์โบไฮเดรตภายในกิ่งมากขึ้น กระตุ้นให้พืชออกดอกมากขึ้น เพราะสาร chlormequat จะลดปริมาณ gibberellin ให้ลดต่ำลงทำให้พืชออกดอกได้ เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ในการเพิ่มดอกตัวเมียของสำไย นอกจากนั้นยังมีการใช้เพื่อช่วยยืดอายุปักแจกันของไม้ดอกบางชนิดโดยมีผลชะลอการสร้าง ethylene ในดอก ชะลอการทำลายอาหาร และทำให้ดอกใช้น้ำน้อยลง เช่นใช้กับดอกคาร์เนชั่น และลิ้นมังกร (snapdragon) สาร chlormequat มีชื่อการค้าว่า Cycocel เป็นสารบริสุทธิ์มีลักษณะเป็นผลึกไม่มีสี มีกลิ่นคล้ายคาวปลา ละลายน้ำได้ดีมาก เป็นสารที่มีพิษสูงปานกลาง

2. ancymidol (∝-cyclopropyl- ∝-4-methoxyphenyl-5-pylimidine methanol) สารนี้มีประสิทธิภาพสูงมากในการลดความสูงของไม้ดอกไม้ประดับได้หลายชนิด เช่น ดาวเรือง ดาวกระจาย พิทูเนีย โดยต้นที่ได้รับสารจะมีปล้องสั้นลง รูปทรงกะทัดรัด โดยที่ขนาดดอกและจำนวนดอกไม่ได้ลดลงทำให้ไม่เกิดผลเสียดอก เป็นสารที่ใช้จำกัดเฉพาะไม้ดอกไม้ประดับเท่านั้น ไม่มีการนำมาใช้กับพืชผัก ไม้ผลหรือธัญพืช เป็นสารที่มีราคาสูงมาก โดยผลิตภายใต้ชื่อการค้าว่า A-Rest การใช้สารชนิดนี้กับพืชทำได้โดยการรดลงดินหรือพ่นทางใบ ซึ่งให้ประสิทธิภาพสูงมากเท่า ๆ กัน โดยไม่เกิดพิษต่อใบหรือรากพืช สารนี้ดูดซึมเข้าทางรากและทางใบได้ดี ถึงแม้จะมีฝนตกภายหลังการใช้สารเพียง 5 นาทีก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1.พืชทดลอง ได้แก่

-ต้นเยอบีราที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ พันธุ์ BAHAMA ได้จากสถานีทดลองพืชสวนบางกอกน้อย

-ต้นกล็อกซิเนียที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ 3 clone คือ

cloneที่ 1 ได้แก่ต้น G_3 ที่ได้ต้น clean culture มาจากห้องปฏิบัติการสถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้

cloneที่ 2 ได้แก่ต้น G_4 ที่ได้ต้น clean culture มาจากห้องปฏิบัติการสวนจิตรดา

cloneที่ 3 ได้แก่ต้น G_5 ที่ได้ต้น clean culture มาจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดต้นที่มีดอกซ้อน

2.สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog,1962)*1

2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต (Growth regulators) ได้แก่

6-furfurylamino purine(Kinetin)

2-chloroethyl-trimethylammonium chloride(CCC)*2

Indole-3-acitic acid(IAA)

α-cyclopropyl-α-4- methoxyphenyl-5-pyrimidine methano (Ancymidol)*3

2.3 น้ำตาล 30 g/l

2.4 น้ำกลั่น

2.5 วุ้นผง อาหารกล็อกซิเนีย 6.2 g/l

อาหารเยอบีรา 7.0 g/l

*1 รายละเอียดของอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog,1962) แสดงในตารางภาคผนวก

*2 ชื่อการค้า : CCC รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ใช้ เป็นผง 65%

*3 Ancymidol มีชื่อการค้าว่า A-REST รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ใช้ สารละลาย 0.026%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เครื่องมือ

3.1 เครื่องมือสำหรับการเตรียมอาหาร ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด กระบอกตวง บีกเกอร์ขนาดต่างๆ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง(pH meter) ขวดแก้วสำหรับบรรจุอาหาร พร้อมฝาปิด หม้อนึ่งความดันไอ(Autuclave)

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ(Lamina flow) ใบมีดผ่าตัดเบอร์11 ด้ามมีดเบอร์3 ปากคีบ จานแก้ว(Petri-dish) ตะเกียง(Automatic bunsen) แผ่นฟิล์มพลาสติกใสยืดได้(ใช้สำหรับพันปากขวดระหว่างการเพาะเลี้ยง เพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์จากมด)

4. สารเคมีสำหรับฆ่าเชื้อที่ผิว ได้แก่ เอธิลแอลกอฮอล์

5. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภายในห้องมีชั้นวางขวด และสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้แก่

-อุณหภูมิอากาศประมาณ 25-28 องศาเซนเซียส

-ใช้แสงจากหลอด Cool White ความเข้ม 3000 lux เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ควบคุมการปิดเปิดไฟด้วยเครื่องตั้งเวลาอัตโนมัติ (Timer)

วิธีการ

การทดลองที่ I การขยายพันธุ์กล็อกซิเนีย

ศึกษาระดับความเข้มข้นของ Kinetin ร่วมกับ IAA 0.5 ppm ที่เหมาะสมต่อการแตกยอดของกล็อกซิเนีย

นำต้นกล็อกซิเนียจำนวน 3 clone คือ G_3, G_4, G_5 ที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS มาตัดเป็นชิ้น ๆ แยกเป็นส่วนยอดและส่วนข้อ ซึ่งส่วนยอดจะตัดให้ยาวประมาณ 1.5 cm. ส่วนที่ตัดมาจากส่วนยอดตัดให้เป็นข้อ ๆ แต่ละชิ้นมี 1 ข้อ แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ IAA คงที่คือ 0.5 ppm และ Kinetin 0, 0.5, 1, 2, 4, และ 6 ppm เติมน้ำตาล 30 g/l วุ้น 6.2 g/l แต่ละวิธีการทำ 5 ซ้ำ วิธีการทดลองมีดังนี้คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

clone G_3 ส่วนยอด
ส่วนข้อ
clone G_4 ส่วนยอด
ส่วนข้อ
clone G_5 ส่วนยอด
ส่วนข้อ

ในอาหาร MS + IAA 0.5 ppm + Kinetin 0, 0.5, 1, 2, 4, 6 ppm

บันทึกผลโดยการนับจำนวนยอดที่เกิดเพิ่มขึ้นใหม่ และความสูงของต้น

การทดลองที่ II การเก็บรักษาเยอบีราโดยใช้สารชะลอการเจริญเติบโต

โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

1. ศึกษาระดับความเข้มข้นของ CCC ที่เหมาะต่อการเก็บรักษาเยอบีรา

นำต้นเยอบีราที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อพันธุ์ BAHAMA มาย้ายลงในอาหารสูตร MS โดยจะตัดแยกเป็นต้นเดี่ยว ๆ ในอาหารที่มีความเข้มข้นของ CCC ที่แตกต่างกัน คือ

0 ppm
100 ppm
300 ppm
500 ppm
700 ppm
900 ppm

ทำวิธีการละ 12 ซ้ำ

บันทึกผลโดยการจัดความสูงของต้นที่อายุการเก็บรักษา 1 เดือน, 2 เดือน, และ 3 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ศึกษาระดับความเข้มข้นของ Ancymidol ที่เหมาะต่อการเก็บรักษาเยอบีรา

นำเยอบีราที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อพันธุ์ BAHAMA มาย้ายโดยการตัดแยกเป็นต้นเดี่ยว ๆ ลง ในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ Ancymidol ที่แตกต่างกัน คือ

0 ml/l

2 ml/l

4 ml/l

6 ml/l

8 ml/l

10 ml/l

ทำวิธีการละ 12 ซ้ำ

บันทึกผลโดยการวัดความสูงของต้นที่อายุการเก็บรักษา 1 เดือน, 2 เดือน, และ 3 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การทดลองที่ I ผลของฮอร์โมน Kinetin ต่อการเจริญเติบโตในการขยายพันธุ์กล็อกซิเนีย

ผลการทดลองที่ได้ จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าการใช้ Kinetin ที่มีความเข้มข้น 2 ppm ร่วมกับ IAA 0.5 ppm จะทำให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุดทั้ง 3 clone คือ G_3, G_4, และ G_5 โดยจะให้ปริมาณยอดมากทั้งที่ใช้ยอดและข้อเป็นต้นเริ่มแรก วิธีการที่ใช้ข้อเป็นชิ้นส่วนเริ่มแรกจะให้ยอดใหม่มากกว่าการใช้ยอด

เนื่องจากในช่วงระยะเวลา 1 เดือน ต้นกล็อกซิเนียที่เลี้ยงไว้ไม่โตเพียงพอสำหรับการเปลี่ยนย้ายอาหาร (Subculture) ดังนั้นจึงได้เลี้ยงต่อไปให้เจริญเติบโตในขวดอีก 1 เดือน

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นในต้นกล็อกซิเนียที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+KI+IAA ที่อายุ 1 เดือน

Clone	ลักษณะชิ้นส่วนเริ่มแรกที่ทำการทดลอง	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด) ความเข้มข้นของฮอร์โมน KI (ppm) + IAA 0.5 ppm					
		0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0
G_3	ยอด	0.4	0.8	0.6	1.6	1.6	1.2
	ข้อ	2.4	2.0	2.0	2.4	2.0	0.8
G_4	ยอด	0.4	1.2	0.2	1.2	0.6	1.0
	ข้อ	2.0	2.0	1.6	2.0	2.2	1.6
G_5	ยอด	1.8	1.2	0.7	2.2	1.8	2.3
	ข้อ	2.3	2.5	2.3	3.5	2.0	2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

100132

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นในต้นกล็อกซิเนียที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+KI+IAA ที่อายุ 2 เดือน

Clone	ลักษณะชิ้นส่วนเริ่มแรกที่ทำการทดลอง	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด) ความเข้มข้นของฮอร์โมน KI (ppm) + IAA 0.5 ppm					
		0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0
G_3	ยอด	0.0	0.6	0.6	1.0	1.2	1.8
	ข้อ	2.4	2.0	1.8	2.2	2.0	2.0
G_4	ยอด	0.6	1.2	0.6	1.2	1.0	0.6
	ข้อ	2.0	2.0	1.8	2.0	1.4	2.6
G_5	ยอด	2.0	2.2	1.2	2.8	3.0	2.0
	ข้อ	2.5	2.8	3.0	4.5	6.3	3.5

จากตัวเลขที่แสดงไว้ในตารางที่ 2 ซึ่งเป็นจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดใหม่ในกล็อกซิเนียที่มีอายุ 2 เดือนในอาหารสูตร MS + IAA 0.5ppm จะเห็นว่า clone G_3 ที่ใช้ยอดเป็นชิ้นส่วนเริ่มแรกในการทำการทดลอง จะทำให้ได้ยอดมากที่สุดในวิธีการที่ใช้ฮอร์โมน Kinetin 6.0 ppm ซึ่งจะได้ยอด 1.8 ยอดโดยเฉลี่ย และในการใช้ชิ้นส่วนข้อจะให้จำนวนยอดมากที่สุดในวิธีการที่ไม่ได้เติม Kinetin คือ 0ppm จะได้ยอดใหม่ 2.4 ยอดโดยเฉลี่ย

clone G_4 การใช้ยอดเป็นชิ้นส่วนเริ่มแรกที่ความเข้มข้นของ Kinetin 6.0 ppm กลับให้จำนวนยอดน้อยที่สุด และจะมากที่สุดที่ความเข้มข้นของ Kinetin 0.5 ppm คือได้เท่ากับ 1.6 ยอดโดยเฉลี่ย สำหรับการใช้ข้อเป็นชิ้นส่วนเริ่มแรกจะให้จำนวนยอดมากที่สุดในวิธีที่ใช้ความเข้มข้นของ Kinetin 0.6 ppm คือ 2.6 ยอดโดยเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใน clone G_5 ความเข้มข้นของฮอร์โมน Kinetin ที่ให้ยอดเฉลี่ยมากที่สุดในการใช้ยอดเป็นชิ้นส่วนเริ่มแรกคือที่ 2 ppm ให้ยอดโดยเฉลี่ย 2.8 ยอด ส่วนที่ใช้ข้อเป็นชิ้นส่วนเริ่มแรกจะให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.3 ยอด ในการใช้ Kinetin ความเข้มข้น 4 ppm

จะเห็นว่าในแต่ละ clone ความเข้มข้นของฮอร์โมนที่เหมาะสมคือให้จำนวนยอดสูง จะแตกต่างกันไป จนไม่สามารถสรุปได้แน่นอน แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าการใช้ชิ้นส่วนข้อเป็นชิ้นส่วนเริ่มแรกจะให้จำนวนยอดใหม่สูงกว่าการใช้ยอดเป็นชิ้นส่วนเริ่มแรกของการทดลองเสมอ

แม้ว่าผลการทดลองเพิ่มจำนวนยอดในกล็อกซิเนียอายุ 2 เดือนไม่เป็นที่น่าพอใจ แต่ต้นก็มีการเจริญเติบโต ซึ่งสามารถที่จะใช้ตัดออกเป็นส่วนๆในการ Subculture ในครั้งต่อไป นอกเหนือจากการใช้ส่วนของยอดในการขยายพันธุ์ ฉะนั้นความสูงของต้นที่ได้ก็สามารถที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการ Subculture เพื่อขยายพันธุ์ได้ ซึ่งผลการเจริญเติบโตของต้นดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงความสูงของต้นกล็อกซิเนียที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+KI+IAA (cm.) ที่อายุ 2 เดือน

Clone	ลักษณะชิ้นส่วนเริ่มแรกที่ทำการทดลอง	ความสูงเฉลี่ย (cm.) ความเข้มข้นของฮอร์โมน KI (ppm) + IAA 0.5 ppm					
		0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0
G_3	ยอด	4.9	3.3	3.3	4.0	3.2	2.3
	ข้อ	4.3	3.4	2.3	4.0	4.1	3.0
G_4	ยอด	4.8	4.4	3.5	3.9	2.9	2.5
	ข้อ	6.0	4.6	3.9	4.4	2.7	3.0
G_5	ยอด	4.9	3.8	3.3	3.3	3.1	2.8
	ข้อ	5.0	3.8	4.0	4.0	3.1	3.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 3 จะพบว่ากล็อกซิเนียทั้ง clone G_3, G_4, และ G_5 จะมีความสูงมากที่สุดในวิธีการที่ไม่ได้ใช้ฮอร์โมน Kinetin เลย คืออาหารสูตร MS ที่มีแต่ IAA 0.5 ppm ซึ่งก็จะทำให้สามารถตัดต้นที่ได้เป็นชิ้นที่ใช้ในการขยายพันธุ์ต่อไปได้หลายชิ้นส่วนขึ้น

เป็นที่น่าสังเกตว่ายอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเดือนที่ 2 จะผอมและค่อนข้างอ่อนแอกว่ายอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยง 1 เดือน

การทดลองที่ II การเก็บรักษาเยอบีราโดยใช้สารชะลอการเจริญเติบโต

จะทำการบันทึกผลโดยการวัดความสูงของต้น และสังเกตดูความแตกต่างของลักษณะใบ ลักษณะทรงพุ่ม ความสูงของใบ ซึ่งจะทำการบันทึกผล 3 ครั้ง

ครั้งที่ 1 เมื่ออายุ 1 เดือน

ครั้งที่ 2 เมื่ออายุ 2 เดือน

ครั้งที่ 3 เมื่ออายุ 3 เดือน

สามารถแสดงผลการทดลองดังตารางที่ 4

จากตารางที่ 4และรูปที่ 1-6 จะเห็นว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้สารชะลอการเจริญเติบโต 2 ชนิด คือ Ancymidolและ CCC วิธีการที่ใช้ Ancymldol จะให้ต้นเยอบีราที่เตี้ยกว่าการใช้ CCC และการไม่ใช้สารชะลอการเจริญเติบโต ซึ่งการใช้ CCC จะได้ต้นที่มีความสูงใกล้เคียงกับวิธีการที่ไม่ใช้สารชะลอการเจริญเติบโต

แต่เมื่อเปรียบเทียบผลของสารทั้งสองในอายุการเก็บรักษาต่างๆกัน วิธีการที่ใช้Ancymidol จะให้ผลในการชะลอการเจริญเติบโตมากที่สุดที่อายุ 2 เดือนคือต้นจะเตี้ยกว่าที่อายุการเก็บรักษา 1 เดือน และ 3 เดือน ส่วนวิธีการที่ใช้ CCC จะไม่สามารถทำให้ความสูงลดลงได้ และเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ความสูงของต้นจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จากผลในตารางแสดงให้เห็นว่า ต้นเยอบีราที่เลี้ยงในอาหาร MS+CCC ต้นที่มีอายุ 3 เดือน จะมีความสูงมากที่สุด

เนื่องจากวิธีการที่ใช้ Ancymidolให้ผลชัดเจนในการชะลอการเจริญเติบโต ทำให้สามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น จึงสามารถเปรียบเทียบการใช้ Ancymidol ที่ความเข้มข้น(ml/l)ต่างๆกัน ดังนี้คือ แนวโน้มความสูงจะลดลง เมื่อใช้ความเข้มข้นของ Ancymidol สูงขึ้น แต่การใช้ความเข้มข้นตั้งแต่ 4 ml/l จนถึง 10 ml/l จะให้ผลดีที่ใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13815

สำหรับลักษณะทางคุณภาพของต้นเยอบีราที่ใช้สารชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิด เป็นดังนี้คือ

-ที่ 2 เดือนการใช้ Ancymidol จะทำให้ได้ต้นที่มีทรงพุ่มเตี้ย ใบกลมเล็ก สีเขียวเข้ม

-ที่ 2 เดือน การใช้ CCC ทรงสูงโปร่ง ใบค่อนข้างสูงใหญ่คล้ายกับ control แต่ใบจะใหญ่กว่าและดูแข็งแรงกว่า control เล็กน้อย

-ในเดือนที่ 3 ต้น control ใบล่างจะเริ่มเหลือง ในขณะที่การใช้ Ancymidol และ CCC ไม่ปรากฏอาการ

เป็นที่น่าสังเกต คือ

1. เมื่อนำต้นออกจากขวดที่ใช้ทำการทดลองเพื่อถ่ายรูปโดยตั้งทิ้งไว้ในสภาพบรรยากาศปกติ ต้นที่ได้จากการใช้ Ancymidol จะแข็งแรงที่สุดและเหี่ยวช้าที่สุด ส่วนต้นที่ได้จากวิธีการที่ใช้ CCC จะเหี่ยวเร็วกว่า control แม้ว่าต้นที่ใช้ CCC จะดูเหมือนว่าแข็งแรงกว่าก็ตาม
2. ทั้งวิธีการที่ใช้ Ancymidol และ CCC จะมีรากเกิดขึ้นเร็วมาก เมื่อเปรียบเทียบกับ control พบว่าในช่วงสัปดาห์ที่ 2 จากที่เริ่มทำการทดลองก็มีรากเกิดขึ้น ในขณะที่ control ยังไม่มี รากจากวิธีการที่ใช้ CCC จะยาว และมีขนาดเล็ก ส่วนรากที่เกิดจากวิธีการที่ใช้ Ancymidol จะมีลักษณะอวบ แข็งแรง แต่จะสั้นเป็นกระจุก

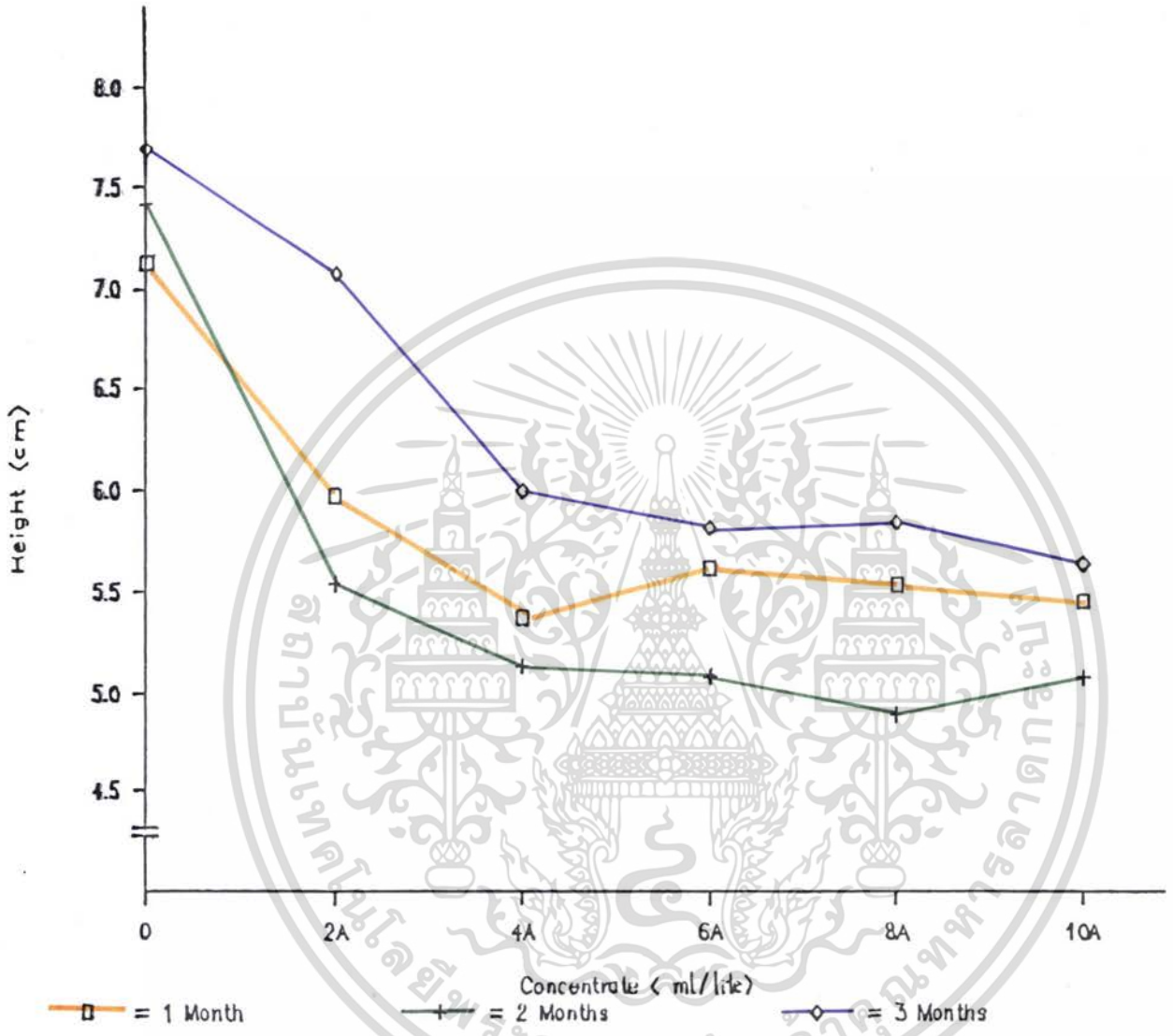
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 4 แสดงความสูงเฉลี่ยของต้นเยอบีราที่อายุการเก็บรักษาต่างๆกันในอาหารสูตร MS+สารชะลอการเจริญเติบโต

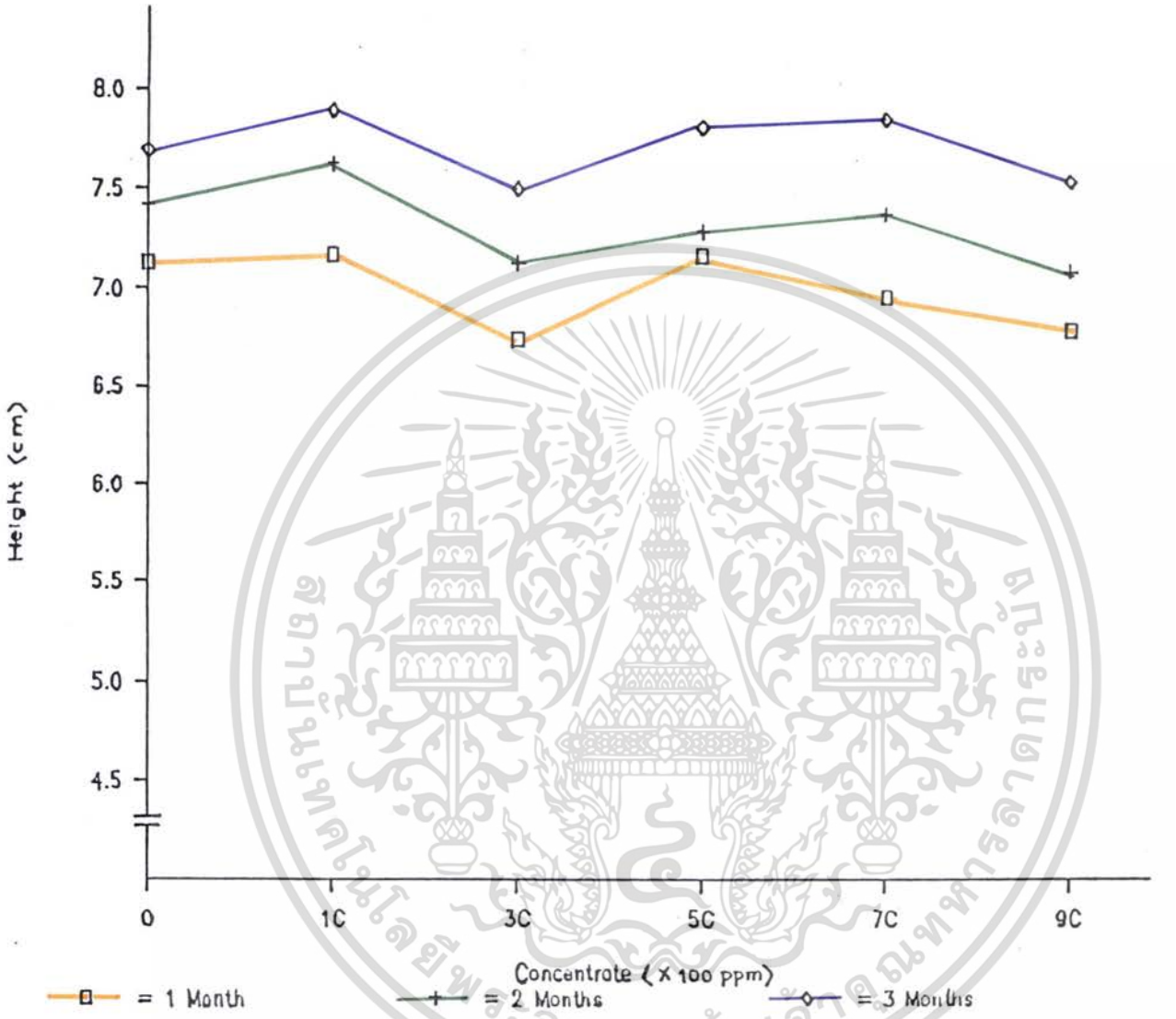
ความเข้มข้นของสาร		ความสูงที่อายุการเก็บรักษา(cm.)		
		1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน
Ancymidol	2 ml/l	5.79	5.54	7.08
	4 ml/l	5.38	5.13	6.00
	6 ml/l	5.62	5.08	5.82
	8 ml/l	5.54	4.90	5.85
	10 ml/l	5.46	5.08	5.64
Control	-0-	7.13	7.42	7.70
CCC	100 ppm	7.17	7.63	7.90
	300 ppm	6.75	7.13	7.50
	500 ppm	7.17	7.29	7.82
	700 ppm	6.96	7.38	7.86
	900 ppm	6.79	7.08	7.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



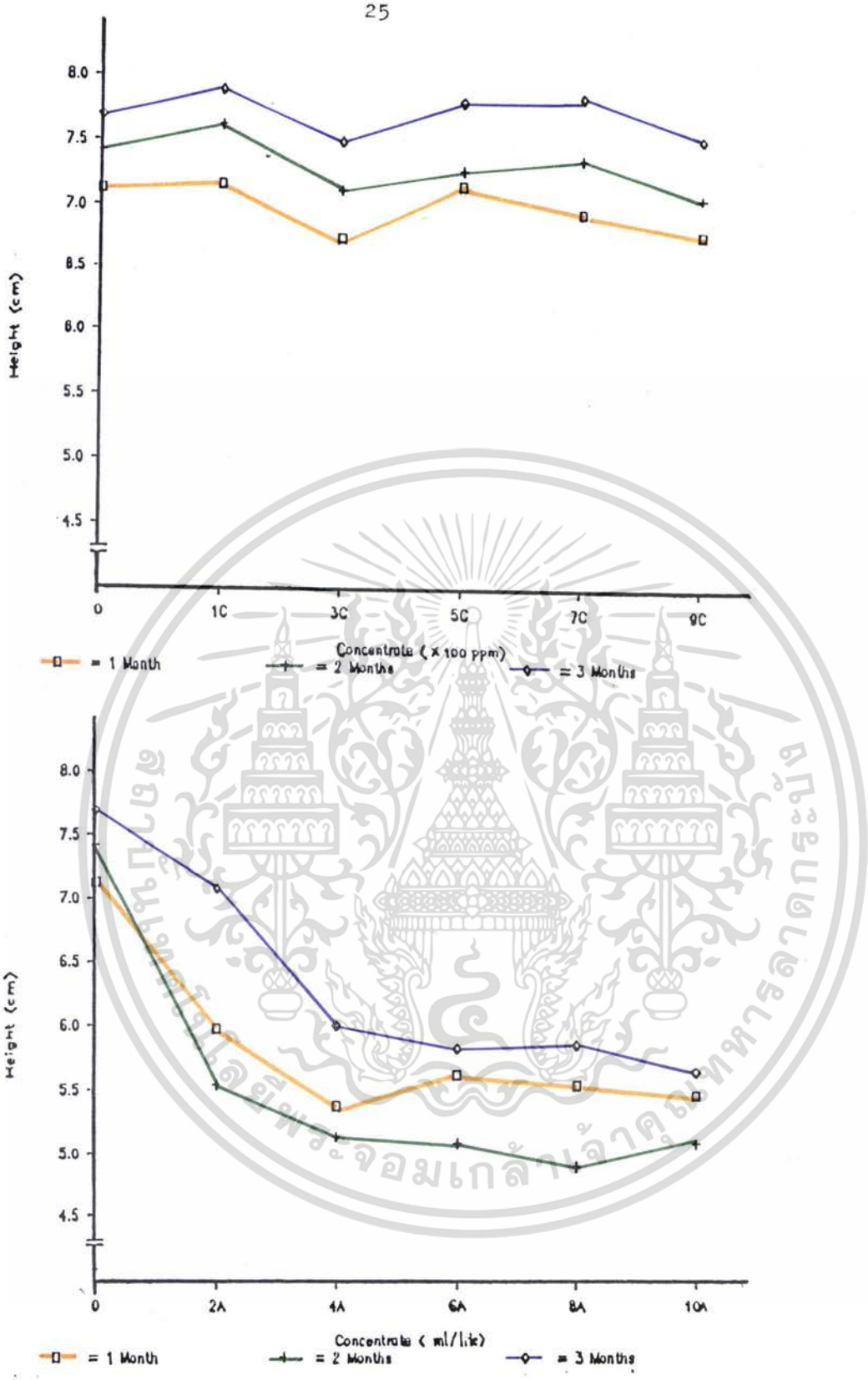
ภาพที่ 1 อัตราความสูงของต้นเยอบีราบนอาหาร MS ที่เติม Amoymidol 0,2,4,6,8,10 ml/l ที่อายุการเก็บรักษา 1,2,3 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



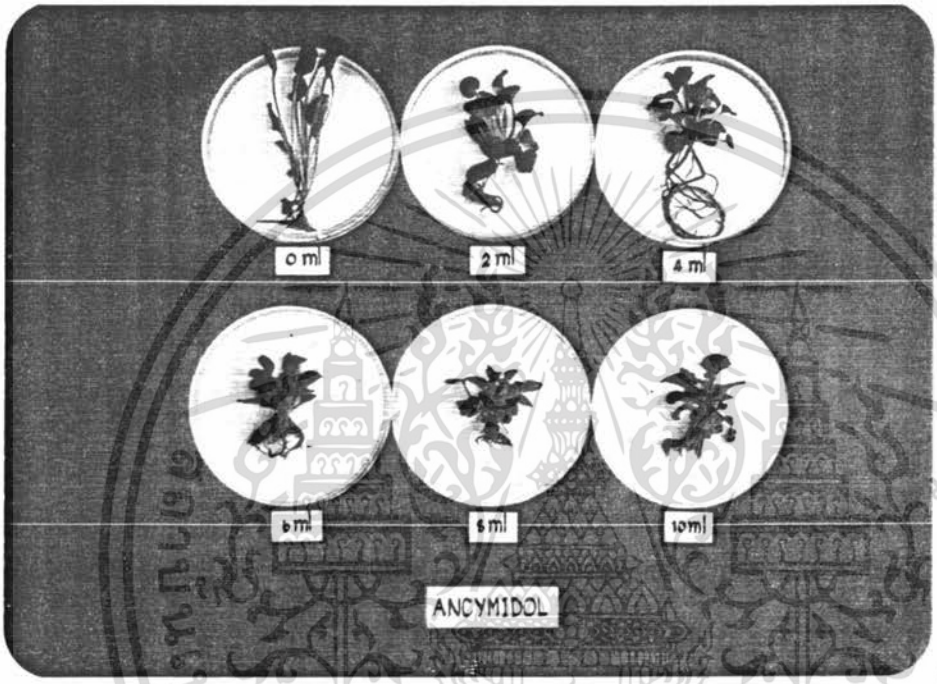
ภาพที่ 2 อัตราความสูงของต้นเยอบีราบนอาหาร MS ที่เติม CCC 0,100,300, 500,700,900 ppm ที่อายุการเก็บรักษา 1,2,3 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



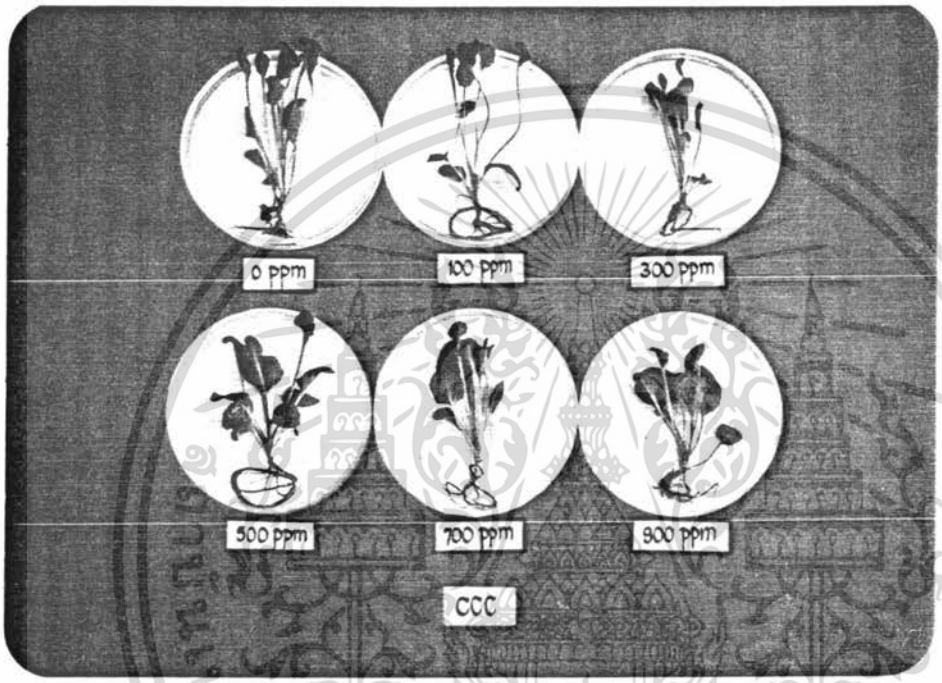
ภาพที่ 3 เปรียบเทียบอัตราความสูงของต้นเยอบีราบนอาหาร MS ที่เติม CCCและ
ที่เติม Ancymidol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



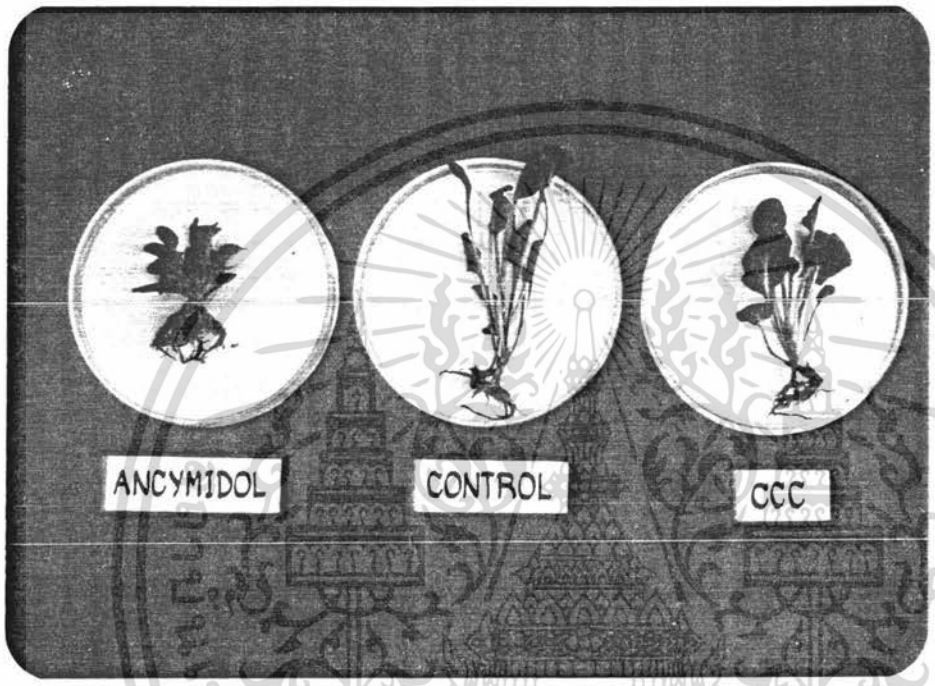
ภาพที่ 4 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นเยอบีราที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม Ancymidol 0,2,4,6,8,10 ml/l ที่อายุการเก็บรักษา 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นเยอบีราที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม CCC 0,100,300,500,700,900 ppm ที่อายุการเก็บรักษา 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นเยอบีราที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม Ancymidol,CCC เปรียบเทียบกับ Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์

การทดลองที่ I ผลของฮอร์โมน Kinetin ต่อการเจริญเติบโตในการขยายพันธุ์กล็อกซิเนีย

การที่กล็อกซิเนีย clone ต่างๆให้ผลในการเกิดยอดต่างกัน อาจเป็นเพราะในแต่ละ clone มีความสามารถในการตอบสนองต่อฮอร์โมนแตกต่างกัน และอาจเนื่องจากการได้ clean culture ที่ทำการทดลองมาจากที่ต่างๆซึ่งมีระยะเวลาที่เลี้ยงในอาหารที่แตกต่างกันออกไป ทำให้จำนวนยอดที่เกิดขึ้นในแต่ละ clone ไม่เท่ากัน

การเกิดต้น ราก หรือแคลลัสของพืชแต่ละชนิดนั้น Miller และ Skoog (1957) ได้เสนอไว้ว่าจะขึ้นกับความสมดุลย์ของปริมาณ auxin และ cytokinin หากมีปริมาณ auxin มาก เนื้อเยื่อจะเจริญเป็นต้นแคลลัสและราก แต่ถ้ามีปริมาณ auxin น้อย แต่มี cytokinin มากก็จะทำให้เนื้อเยื่อเจริญเป็นยอดมาก

จากผลการทดลองในแต่ละ clone ถ้าใช้ชิ้นส่วนยอดเป็นชิ้นส่วนเริ่มแรก จะทำให้จำนวนยอดน้อยกว่าการใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นจากส่วนที่อยู่ถัดลงมาจากยอดเนื่องจากบริเวณส่วนข้อโดยปกติจะมีส่วนของตาอยู่ ซึ่งตา 1 ตาจะเจริญไปเป็นยอด 1 ยอด บริเวณยอดจะมีการสร้างฮอร์โมน auxin ซึ่งจะมีผลยับยั้งไม่ให้มีการเกิดตาข้าง โดยทั่วไปฮอร์โมน cytokinin จะมีผลให้พืชแตกตาข้างได้ ฉะนั้นเมื่อส่วนข้อที่อยู่ถัดลงมาจากยอดได้รับฮอร์โมน cytokinin มากขึ้น ก็จะสามารถเกิดยอดได้มากกว่า 1 ยอด นอกจากนี้เมื่อมีการตัดลำต้นออกเป็นส่วนยอดและส่วนข้อ ส่วนข้อซึ่งต่ำลงมาจากยอดจะมีขนาดใหญ่กว่าถ้ามีขนาดเท่ากัน มีการสะสมอาหารมากกว่าทำให้สามารถเกิดยอดได้มากกว่า

จากผลการเลี้ยงต้นกล็อกซิเนียเดือนที่ 2 ทำให้ปริมาณยอดลดลงในบางวิธีการ และเกิดความแปรปรวนของผลการทดลองที่ได้ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากความแปรปรวนของระดับและชนิดของฮอร์โมนในเนื้อเยื่อที่นำมาเลี้ยง มีผลให้ยอดที่เกิดขึ้นในเดือนที่ 1 เหี่ยวเฉาและตายไปในที่สุด หรืออาจจะเป็นกลไกการมีชีวิตรอดของกล็อกซิเนียเอง คือเมื่อมีจำนวนยอดมากในที่มีอาหารจำกัด ยอดที่อ่อนแอก็จะเหี่ยวเฉาตายไป จะคงเหลือแต่ยอดที่แข็งแรงเท่านั้น จึงทำให้จำนวนยอดในเดือนที่ 2 ลดจำนวน

เป็นที่น่าสังเกตว่า ยอดที่เกิดมาในช่วงเดือนที่ 2 จะผอมค่อนข้างอ่อนแอ ไม่เหมาะสมในการย้ายอาหาร หรือย้ายปลูก และในเดือนที่ 2 มีการตายของยอดทำให้จำนวนยอดลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นถ้าต้องการย้ายยอดไปเพาะเลี้ยงต่อ (subculture) ควรจะทำการย้ายก่อนอายุ 2 เดือน จากการที่ยอดกล็อกซิเนียที่ได้ในเดือนที่ 2 มีขนาดเล็กเผอม แต่ลำต้นสูง การขยายพันธุ์ต่อไปจึงน่าจะใช้ส่วนของลำต้นแทน เนื่องจากกล็อกซิเนียเป็นพืชที่สามารถขยายพันธุ์โดยใช้ชิ้นส่วนของข้อได้ ต้นที่มีความสูงมากจำนวนข้อก็จะมากด้วย

การทดลองที่ 2 การเก็บเยอบีราโดยใช้สารชะลอการเจริญเติบโต

สารชะลอการเจริญเติบโตโดยทั่วไป มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้าง GA ของพืช สารที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ก็เช่นเดียวกัน จากการที่Ancymidolสามารถที่จะทำให้เยอบีรามีความสูงน้อยลง และกลับมาสูงมากขึ้นอีกในอายุการเก็บรักษาต่อๆไป ก็เพราะคุณสมบัติดังกล่าวคือ ในระยะเวลาช่วงแรกๆ Ancymidol มีคุณสมบัติในการยับยั้ง GA ได้ ทำให้ต้นพืชไม่สามารถสร้าง GA ซึ่งมีความสำคัญในการเจริญยืดตัวของลำต้น เมื่อเวลาเก็บรักษามากขึ้น คุณสมบัติของ Ancymidol ลดน้อยลง ผลในการยับยั้ง GA ก็น้อยลงไป ทำให้พืชสามารถสร้าง GA ได้ใหม่พืชก็จะเจริญเติบโตสูงขึ้น ส่วนการใช้ CCC ในการชะลอการเจริญเติบโตนั้น พบว่า CCC ที่ใช้ไม่มีความเข้มข้นมากพอที่จะมีคุณสมบัติยับยั้ง GA พืชจึงสร้าง GA และเจริญเติบโตสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่ออายุการเก็บรักษามากขึ้น

ในการศึกษาเรื่องการเก็บรักษานี้ ได้ศึกษาเฉพาะต้นเยอบีราที่อยู่ในขวดไม่ได้นำมาปลูกดูว่าต้นที่ได้ปกติหรือไม่ และควรจะเก็บรักษาให้มากกว่า 5 เดือนขึ้นไป เพราะฉะนั้นแม้ว่า Ancymidol จะสามารถทำให้ต้นเยอบีรามีการเจริญน้อยลง ความสูงลดลง ก็ไม่ได้หมายความว่าการใช้ Ancymidol ในการเก็บรักษาจะเหมาะสม จนกว่าจะมีการศึกษาต่อไป เก็บไว้ได้นานกว่า และเมื่อนำไปเพิ่มจำนวน (subculture) หรือย้ายปลูก แล้วทำให้ได้ต้นที่มีการเจริญปกติ ลักษณะดอกปกติ ต้นที่ใช้ Ancymidol ความเข้มข้น 2,4 ml/l จะได้ลักษณะทรงต้นที่ใกล้เคียงกับต้นปกติ แต่ถ้าความเข้มข้นมากขึ้น ต้นที่ได้จะเตี้ยมากๆจนผิดปกติไป

แต่อย่างไรก็ตาม ก็ไม่สามารถสรุปได้ว่าสารชะลอการเจริญเติบโตชนิดใด ความเข้มข้นเท่าไร จึงจะเหมาะสมในการเก็บรักษาเยอบีรา ซึ่งจะต้องทำการศึกษาในระยะเวลาที่นานมากขึ้น และจะต้องศึกษาผลของการเพิ่มจำนวนต้น (โดยการ subculture) และลักษณะอาการผิดปกติในการปลูกเพื่อเก็บผลผลิตอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ I ผลของฮอร์โมน Kinetin ต่อการเจริญเติบโตในการขยายพันธุ์กล็อกซิเนีย

จากการศึกษาพบว่ากล็อกซิเนียแต่ละ clone จะมีผลตอบสนองต่อฮอร์โมนต่างกัน และพบว่าแนวโน้มจำนวนยอดในอาหารสูตร MS + Kinetin 2 ppm + IAA 0.5 ppm จะให้ผลค่อนข้างดีในช่วงเวลาที่เลี้ยง 1 เดือน แต่ในช่วงเดือนที่ 2 ในบาง clone และบางสูตรอาหารจะมีจำนวนยอดลดลง เนื่องจากมีการตายเกิดขึ้น โดยเฉพาะส่วนที่เกิดจากการใช้ชิ้นส่วนยอดของ clone Ga ฉะนั้นถ้าต้องการใช้ยอดในการขยายพันธุ์ต่อไปควรใช้ต้นในช่วงก่อน 2 เดือน ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าต้นจะผอม ค่อนข้างอ่อนแอ เนื่องจากพืชชนิดนี้เราสามารถใช้ส่วนของข้อขยายพันธุ์ได้ เพราะฉะนั้นต้นที่มีการเจริญเติบโตทางด้านความสูงมากก็จะมีผลทำให้จำนวนข้อเพิ่มมากด้วย ซึ่งจะพบลักษณะที่มีการเจริญเติบโตทางด้านความสูงมากที่สุดในอาหารสูตร MS + Kinetin 0 ppm + IAA 0.5 ppm ส่วนในสูตรที่ใช้ความเข้มข้นของฮอร์โมน Kinetin สูงขึ้นไปตามลำดับนั้น การเจริญเติบโตทางด้านความสูงมีแนวโน้มลดลง

การทดลองที่ II การเก็บรักษาเยอบีราโดยใช้สารชะลอการเจริญเติบโต

การศึกษาผลของสารชะลอการเจริญเติบโต 2 ชนิด คือ CCC และ Ancymidol ต่อการเก็บรักษาเยอบีรา ปรากฏว่า Ancymidol จะทำให้ได้ต้นเยอบีราที่มีความสูงน้อยที่สุด ส่วนการใช้ CCC และ control จะได้ต้นเยอบีราที่มีความสูงใกล้เคียงกัน

ในอายุการเก็บรักษาต่างๆกันในวิธีการที่ใช้ CCC ความสูงของต้นเยอบีราจะเพิ่มมากขึ้นถ้าอายุมากขึ้น โดยที่อายุ 1 เดือนจะมีความสูงน้อยที่สุด ที่อายุ 2 เดือนความสูงเพิ่มขึ้น และที่อายุ 3 เดือนต้นจะมีความสูงเพิ่มขึ้นอีก และอาจเพิ่มขึ้นต่อไปอีกเรื่อยๆ

การใช้ Ancymidol ในการเก็บรักษาเยอบีรา ปรากฏว่าจะมีผลในการลดการเจริญเติบโตของเยอบีราได้ในทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้ โดยจะมีผลต่อการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่ออายุการเก็บรักษาประมาณ 2 เดือน หลังจากนั้นความสูงจะเพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นิ่มนวล วาศนา. 2528. การขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุ์ไผ่ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พีรเดช ทองอำไพ. 2524. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตร-ศาสตร์.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไพบูลย์ กวินเสิศวัฒนา. 2524. หลักและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตร-ศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รงรอง วิเศษสุวรรณ. 2528. การชักนำให้เยอบีรากลายพันธุ์ในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รงรอง วิเศษสุวรรณ. 2528. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณกล็อกซิเนีย เฟิร์น และลิเซียนทัส ในสภาพปลอดเชื้อ. บัณฑิตพิเศษปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สงเพียร เกษมทรัพย์. 2524. เยอบีรา. วารสารพืชสวน. 12(5):1-16.

Bajaj, Y.P.S. 1977. Clonal multiplication and cryobiology of cassava though tissue culture. Crop Improv. 4:196-204.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bajaj, Y.P.S. and J. Reinert. 1977. Cryobiology of plant cell culture and establishment of gene banks, pp.757-777. In J. Reinert and V.P.S. Bajaj (eds.). Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Springer, Berlin.

Broertjes, C. and A.M. Ban Herten. 1978. Application of Mutation Breeding Methods in the Improvement of Vegetatively Propagated Crops. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing.

Flores en Nazario. 1977. In Vitro organogenesis of gloxinia leaf tissue. Plant Physiol. 59(6):3.

Grout, B.W.W., R.J. Westcott and G.G. Henshaw. 1978. Survival of shoot meristems of tomato seedlings frozen in liquid nitrogen. Cryobiology. 15:478-483.

Henshaw, G.G., J.F. O'Hara and R.J. Westcott. 1980. Tissue culture methods for the storage and utilization of potato germplasm. pp. 37-40. In L.A. Withers (ed.). Tissue Culture Storage for Genetic Conservation. IBPGR, Italy.

Lauric, A., D.C. Kiplinger and K.S. Nelson. 1979. Commercial Flower Forcing. U.S.A.:Mc Graw-Hill Book Company.

Monette, P.L. 1986. Cold storage of Kiwifruit shoot tips in Vitro. 21(5):1203-1205.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant Physiol. 25:135-166.

Murashige, T., M. Serpa and J.B. Jones. 1974. Clonal multiplication of gerbera through tissue culture. HortScience. 9(3)175-180.

Pierik, R.L.M., H.H.M. Stugmans and J.J. Marelis. 1973. Gerbera plantlets from in Vitro cultivated capitulum explants. Scientia Hortic. 1:117-119.

Roca, W.M. 1979. Tissue culture methods for the international exchange and conservation of cassava germplasm. Casava Newsl. CIAT. CALT. Colombia. 6:3-5.

Skoog, F and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ fromation in plant tissue cultured in Vitro. Sym. Soc. Exp. Biol. 11:118-131.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

MURASHIGE & SKOOG MEDIA (1962)

Macronutrients	mg/l	Iron	mg/l
NH_4NO_3	1,650	Sodium EDTA	37.25
KNO_3	1,900	$FeSO_4.7H_2O$	27.85
$CaCl_2.2H_2O$	400		
$MgSO_4.7H_2O$	370	Organic components	mg/l
KH_2PO_4	170		
		Glycine	2
Micronutrients	mg/l	Nicotinic acid	0.5
		Pyridoxine	0.5
H_3BO_3	6.2	Thiamin	0.1
$MnSO_4.H_2O$	6.9		
$ZnSO_4.H_2O$	6.14	Sucros	30 g/l
KI	0.83		
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25	pH	5.6
$CuSO_4.5H_2O$	0.025		
$CoCl_2.6H_2O$	0.025		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้