สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาของเซลล์มะเขือเทศพันธุ์สีดาห้วยทรายในหลอดทดลอง

นายธนวุฒิ ครุฑศิริ

รหัสประจำตัว 35504318

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2538

ปพ
ว156.9
ค539
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 25407
วัน, เดือน, ปี 9 ก.ค. 2539

ข้อความนี้เป็นข้อความที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า แม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

T15407

Effect of Phytohormones on Differentiation of Tomato(*Lycopersicon esculentum* var.pyriforme) Cell Cultures

Mr. Dhanawut Khruitsiri

A Special Project Submitted in Partial Fufillment of

the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

1995

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้าอนุมัติ

หัวข้อปัญหาพิเศษ อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาของเซลล์มะเขือเทศพันธุ์สีดาห้วยทรายในหลอดทดลอง

นักศึกษา นายธนวุฒิ ครุฑศิริ

อาจารย์ที่ปรึกษา นายพนา โลหะทรัพย์ทวี

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา 2538

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

หัวหน้าภาควิชา

(อาจารย์อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล)

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

ประธานกรรมการ

(ผศ.เนาวรัตน์ ปานแย้ม)

กรรมการ

(อาจารย์พนา โลหะทรัพย์ทวี)

กรรมการ

(อาจารย์อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม)

กรรมการ

(อาจารย์กนกพร สมพรไพลิน)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาของเซลล์มะเขือเทศพันธุ์สีดาห้วยทรายในหลอดทดลอง

นักศึกษา นายธนวุฒิ ครุฑศิริ

อาจารย์ที่ปรึกษา นายพนา โลหะทรัพย์ทวี

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา 2538

บทคัดย่อ

เมื่อเพาะเลี้ยงส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศในอาหารสูตร Murashige และ Skoog พบว่าอัตราส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงไปเป็น Friable callus และอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ลำต้นใต้ใบเลี้ยงพัฒนาไปเป็นยอดจำนวนมากได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Speial Project Title Effect of Phytohormones on Differentiation of Tomato (*Lycopersicon esculentum* var.pyriforme) Cell Cultures

Student Mr.Dhanawut Khruitsiri

Speial Project Adviser Mr.Pana Lohasupthawee

Department Applied Biology

Academic year 1995

Abstract

Explants were obtained from hypocotyls of tomato and grown on a modified Murashige and Skoog's medium with verious combination of plant growth regulators. The results showed that the suitable hormone combination for friable callus formation was at 3 mg/l 2,4-D and 1 mg/l kinetin and the suitable hormone combination for shoot formation was at 3 mg/l BA.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษสามารถสำเร็จลุล่วงได้ผลดี โดยความช่วยเหลือของบุคคล หลายท่าน หลายฝ่าย ซึ่งให้การอนุเคราะห์ด้านต่างๆ ทางคณะผู้จัดทำโครงงานพิเศษขอกราบขอบพระคุณทุกท่าน ดังรายนามต่อไปนี้

1. ผศ. เนาวรัตน์ ปานแย้ม ที่ได้กรุณาให้เกียรติเป็นประธานกรรมการ อีกทั้งให้ความเอื้อเฟื้ออำนวยความสะดวกทั้งในด้านสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์คอมพิวเตอร์ที่ใช้ในการพิมพ์งานของโครงงาน

2. อาจารย์ พนา โลหะทรัพย์ทวี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมควบคุมโครงงานพิเศษ ซึ่งได้รับความกรุณาช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ เป็นอย่างดี

3. อาจารย์ อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่กรุณาช่วยเหลือในด้านการปรึกษาด้านเทคนิคต่างๆ ค้นคว้าหาข้อมูล และชี้แนะแนวทางในการดำเนินงาน

4. อาจารย์ กนกพร สมพรไพลินให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์

5. อาจารย์ทุกท่านที่ให้การสนับสนุนให้โครงการนี้สัมฤทธิ์ผล

6. กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ ให้นักศึกษาโครงงานที่เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้เข้าฟังคำบรรยายเพื่อรับรู้เทคนิคพิเศษในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ รวมทั้งการนำชมแปลงทดลองสาธิต ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี

7. เจ้าหน้าห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือทั้งในด้านการจัดหาอุปกรณ์และให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือ

8. นักศึกษาทุกท่านและผู้มีอุปการะคุณที่ไม่อาจเอ่ยนามได้

คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

ผู้จัดทำโครงงานพิเศษ

เมษายน 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

บทคัดย่อโครงงานพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อโครงงานพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	จ
สารบัญตาราง	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	2
บทที่ 3 การดำเนินการวิจัย	21
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	26
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	32
ภาคผนวก	33
เอกสารอ้างอิง	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ 1	แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยฮอร์โมน 2,4-D และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ	27
รูปที่ 2	แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ที่เสริมด้วยฮอร์โมน NAA และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ	28
รูปที่ 3	แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ที่เสริมด้วยฮอร์โมน 2,4-D และ Kinetin ในอัตราส่วนต่างๆ	28
รูปที่ 4	แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ที่เสริมด้วยฮอร์โมน NAA และ Kinetin ในอัตราส่วนต่างๆ	29
รูปที่ 5	แสดงสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิด Friable callus และการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก จากชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศ	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ 1	แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยฮอร์โมน 2,4-D และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ	27
รูปที่ 2	แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ที่เสริมด้วยฮอร์โมน NAA และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ	28
รูปที่ 3	แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ที่เสริมด้วยฮอร์โมน 2,4-D และ Kinetin ในอัตราส่วนต่างๆ	28
รูปที่ 4	แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ที่เสริมด้วยฮอร์โมน NAA และ Kinetin ในอัตราส่วนต่างๆ	29
รูปที่ 5	แสดงสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิด Friable callus และการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก จากชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศ	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	แสดงคุณค่าทางโภชนาการในน้ำหนัก 100 กรัมของมะเขือเทศ	4
ตารางที่ 2	แสดงผลการทดลองหาความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของคลอรอกซ์กับเวลาที่ใช้ในการฟอกเมล็ดมะเขือเทศ	26
ตารางที่ 3	แสดงการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร MS ต่อปริมาตร 1 ลิตร	33
ตารางที่ 4	แสดงสูตรความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์กับเวลาที่ใช้ในการฟอกเมล็ด	35
ตารางที่ 5	แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ	36
ตารางที่ 6	แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ	36
ตารางที่ 7	แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ Kinetin ในอัตราส่วนต่างๆ	37
ตารางที่ 8	แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ Kinetin ในอัตราส่วนต่างๆ	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	แสดงคุณค่าทางโภชนาการในน้ำหนัก 100 กรัมของมะเขือเทศ	4
ตารางที่ 2	แสดงผลการทดลองหาความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของคลอรอกซ์กับเวลาที่ใช้ในการฟอกเมล็ดมะเขือเทศ	26
ตารางที่ 3	แสดงการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร MS ต่อปริมาตร 1 ลิตร	33
ตารางที่ 4	แสดงสูตรความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์กับเวลาที่ใช้ในการฟอกเมล็ด	35
ตารางที่ 5	แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ	36
ตารางที่ 6	แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ	36
ตารางที่ 7	แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ Kinetin ในอัตราส่วนต่างๆ	37
ตารางที่ 8	แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ Kinetin ในอัตราส่วนต่างๆ	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

มะเขือเทศเป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกกันในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ผลผลิตที่ได้ใช้บริโภคสดและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ พันธุ์ที่ใช้ปลูกทั่วๆ ไปมักเป็นพันธุ์ที่เจ้าหน้าที่ของรัฐแนะนำ ส่วนบริษัทเอกชนต่างๆ ที่ลงทุนแบบครบวงจรเพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มักจะใช้พันธุ์ที่ให้ผลผลิตดี ต้านทานต่อโรคและแมลงบางชนิด เพื่อลดต้นทุนการผลิตซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นพันธุ์ลูกผสม ดังนั้นการผลิตพันธุ์ลูกผสมจึงไม่เพียงพอต่อปริมาณความต้องการของเกษตรกร แนวทางหนึ่งที่จะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ คือ การนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยในการขยายพันธุ์ ให้ได้พืชจำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังมีประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เวลาและแรงงานน้อย สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อย สะดวกต่อการติดตามดูผลการทดลอง

วัตถุประสงค์ของปัญหาพิเศษ

เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญไปเป็นลักษณะต่างๆ ของเซลล์มะเขือเทศเพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ และเพื่อการขยายพันธุ์มะเขือเทศ

ของเขตของปัญหาพิเศษ

ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการพัฒนาไปเป็นลักษณะต่างๆ ของเซลล์มะเขือเทศพันธุ์สีดาห้วยทราย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการพัฒนาไปเป็นลักษณะต่างๆ ของเซลล์มะเขือเทศพันธุ์สีดาห้วยทราย
2. สามารถขยายพันธุ์มะเขือเทศได้เป็นจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 มะเขือเทศ

มะเขือเทศมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Lycopersicon esculentum*.Mill และชื่อสามัญว่า Tomato อยู่ในตระกูลโซลานาซิอี้(Solanaceae) พืชที่อยู่ในตระกูลนี้นอกจากมะเขือเทศแล้ว ยังมีพืชอีกหลายชนิดที่มนุษย์เรานำมาใช้ประโยชน์ เช่นมันฝรั่ง ยาสูบ พริก มะเขือ เป็นต้น

มะเขือเทศเป็นพืชฤดูเดียว ลักษณะลำต้นเป็นไม้พุ่ม อวบน้ำ การเจริญของลำต้นมี 2 แบบ คือ แบบทอดยอด(Indeterminate type) เช่น พันธุ์สีดา เป็นต้น และแบบไม่ทอดยอด (determinate type) เช่น พันธุ์โรมาเรดเพียร์(Roma Red Peer) และพันธุ์ชิโก(Chico) เป็นต้น

รูปร่างลักษณะโดยทั่วไป คือ

- เมล็ด มีรูปร่างกลมแบน เปลือกที่หุ้มเมล็ดมีขนละเอียดสั้นๆ สีน้ำตาลอ่อนปกคลุมอยู่ทั่วไป ส่วนความยาวของเมล็ดมีตั้งแต่ 3-5 มิลลิเมตร และในแต่ละผลนั้นจะมีเมล็ดมากน้อยเพียงใดย่อมขึ้นอยู่กับขนาดของผล

- ราก เมล็ดที่เริ่มงอกจะปรากฏส่วนของราก เป็นเส้นเล็กๆ สีขาวโผล่ออกมาจากส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ด หลังจากนั้นก็หยั่งแทงลึกลงไปในดิน และในขณะเดียวกันส่วนที่เป็นลำต้นใต้ใบเลี้ยง ที่โค้งงอจะดันขึ้นมาบนดินเป็นลำต้นต่อไป รากของมะเขือเทศเป็นระบบรากแก้ว ที่มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็วและแข็งแรง ในบางกรณีหากรากแก้วถูกทำลายมะเขือเทศก็สร้างรากแขนงและรากขนอ่อนขึ้นทดแทนเป็นจำนวนมาก แต่อย่างไรก็ตามระบบรากของมะเขือเทศจะเปลี่ยนแปลงได้ตามแบบวิธีการปลูก เช่น การปลูกโดยการย้ายกล้ารากแก้วก็จะถูกทำลายไป แต่หากปลูกโดยการหยอดเมล็ดในแปลงปลูกโดยตรงรากแก้วก็เจริญเติบโตได้ตามปกติ นอกจากนี้มะเขือเทศยังสามารถสร้างรากพิเศษบนลำต้นได้ ไม่ว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รากเดิมจะถูกทำลายด้วยสาเหตุใดก็ตาม ซึ่งผู้ปลูกสามารถทำให้ต้นมะเขือเทศสร้างรากใหม่ขึ้นได้ โดยการพูนดินบริเวณโคนต้น รากก็จะเกิดขึ้นและหยั่งลึกลงไปในดินได้อีก

- **ลำต้นและกิ่งก้าน** หลังจากที่ลำต้นงอกโผล่พ้นดินแล้ว ในระยะแรกๆ ของการเจริญเติบโต ลำต้นจะกลม อ่อนเปราะ แต่เมื่อมีการเจริญเติบโตมากขึ้นก็จะแข็งแรงและเป็นเหลี่ยม ส่วนกิ่งก้านสาขาก็จะมีการแตกออกจากลำต้นเรื่อยๆ และอาจมีขนาดเท่ากับลำต้นเดิมได้ถ้าปล่อยให้ตาข้างที่อยู่ต่ำกว่าช่อดอกแรกมีการเจริญเติบโต ดังนั้นถ้าผู้ปลูกมะเขือเทศต้องการให้มะเขือเทศมีลำต้นเดี่ยว ต้องเด็ดยอดของกิ่งข้างที่เกิดขึ้นทุกกิ่งทิ้ง โดยเหลือใบของกิ่งข้างไว้ 2 ใบ เพื่อเป็นการป้องกันไม่ให้แสงแดดส่องถูกผลโดยตรง ทั้งนี้เนื่องจากดอกจะเกิดตามข้อของลำต้น

- **ดอก** มีขนาดเล็กสีเหลืองสดใส ประกอบด้วยกลีบดอกชั้นใน 5 กลีบ และกลีบเลี้ยง 5 กลีบ ลักษณะการเกิดจะเกิดตามข้อของลำต้นเป็นช่อๆ โดยที่ช่อดอกหนึ่งๆ จะมีจำนวนดอกประมาณ 4-5 ดอก แต่ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับพันธุ์หรือสภาพแวดล้อมอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

- **ผล** รูปร่างขนาดและสีของผลไม่แน่นอนสุดแล้วแต่พันธุ์ รูปร่างของทรงผลมีตั้งแต่ผลกลมไปจนถึงผลรี สีของผลก็มีตั้งแต่เหลืองจนถึงเหลืองเข้ม ขนาดก็มีตั้งแต่เล็กไปจนถึงใหญ่

คุณค่าทางโภชนาการ

มะเขือเทศมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเป็นแหล่งโปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุ ที่จำเป็นสำหรับมนุษย์ นอกจากนี้ยังให้ผลผลิตตลอดปี และมีราคาถูกกว่าเนื้อสัตว์มาก คุณค่าทางโภชนาการของมะเขือเทศโดยเทียบจากน้ำหนักของมะเขือเทศส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัมดังตารางที่ 1

อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของบีตาคาโรทีน(β-carotene) ที่ใช้สร้างวิตามินเอในมะเขือเทศ สามารถทำให้เพิ่มขึ้นได้ไม่น้อยกว่าสิบเท่าโดยอาศัยการผสมพันธุ์ แต่ข้อเสียของมะเขือเทศที่มีสารบีตาคาโรทีนมากเกินไปก็คือ สีของผลมะเขือเทศจะออกสีแดงอมส้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งเป็นลักษณะที่ตลาดต่างประเทศไม่ต้องการ นอกจากนี้ ปริมาณวิตามินซีในผลมะเขือเทศสามารถทำให้เพิ่มขึ้นได้ไม่น้อยกว่า 5 เท่า แต่ถ้าผลมีปริมาณวิตามินซีสูง จะทำให้ผลผลิตต่ำ ผลมีขนาดเล็ก และรูปร่างของผลไม่สวย ดังนั้น นักผสมพันธุ์พืชจึงควรพิจารณาในการสร้างพันธุ์มะเขือเทศเขตร้อนให้มีวิตามินเอและซีในผลเพิ่มมากขึ้น โดยยังคงผลผลิตสูงและคุณภาพเป็นที่ยอมรับของตลาดด้วย

ตารางที่ 1 แสดงคุณค่าทางโภชนาการในน้ำหนัก 100 กรัมของมะเขือเทศ

ธาตุอาหาร	ดิบ	บรรจุกระป๋อง	ซ้อส	น้ำมะเขือเทศ
ความชื้น(ร้อยละ)	94.0	94.0	69.0	94.0
พลังงาน(แคลอรี่)	19.0	21.0	106.0	19.0
โปรตีน(กรัม)	0.7	0.8	1.8	0.8
ไขมัน(กรัม)	น้อยมาก	น้อยมาก	0.4	น้อยมาก
คาร์โบไฮเดรท(กรัม)	4.0	4.0	25.0	4.0
แคลเซียม(มิลลิกรัม)	12.0	6.0	22.0	7.0
ฟอสฟอรัส(มิลลิกรัม)	24.0	19.0	50.0	18.0
เหล็ก(มิลลิกรัม)	0.4	05	0.8	0.9
โพแทสเซียม(มิลลิกรัม)	222.0	217.0	363.0	227.0
วิตามินเอ(ไอ.ยู.)	822.0	900.0	1,999.0	798.0
ไทอามีน(มิลลิกรัม)	0.05	0.05	0.09	0.05
ไรโบฟลาวิน(มิลลิกรัม)	0.04	0.03	0.07	0.03
ไนอาซีน(มิลลิกรัม)	0.7	0.7	1.8	0.8
กรดแอสคอบิค(มิลลิกรัม)	21.0	17.0	15.0	16.0

ที่มา : Anon, "Nutritive Value of Foods" **USDA Home and Garden Bulletin** No 12, 1971.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสำคัญทางเศรษฐกิจ

มะเขือเทศเป็นพืชที่นิยมปลูกในประเทศไทยโดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งจะปลูกมะเขือเทศชนิดรับประทานสดมาก มะเขือเทศที่ใช้บริโภคสดจะใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารและอาหารพื้นเมือง ส่วนมะเขือเทศที่ส่งโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อนำไปแปรรูปเป็นซ้อสมะเขือเทศ ปลากระป๋องในซ้อสมะเขือเทศ น้ำมะเขือเทศเข้มข้น น้ำมะเขือเทศเพื่อดื่ม มะเขือเทศกระป๋องเป็นต้น

นอกจากนี้มะเขือเทศยังเป็นพืชผักที่รัฐบาลกำหนดไว้ให้เป็นผักที่มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นธุรกิจครบวงจร และขยายความสำคัญมากขึ้น โดยเฉพาะอุตสาหกรรมปลากระป๋อง นอกจากนี้ประเทศไทยยังมีศักยภาพที่จะขยายการผลิตมะเขือเทศทั้งในรูปผลผลิตสด และผลิตภัณฑ์ยังขยายตัวได้อีกมากพร้อมที่จะก้าวขึ้นเป็นประเทศส่งออกมะเขือเทศรายสำคัญประเทศหนึ่ง

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พืชเริ่มแรกจากการที่ Gotieb Haberlandt นักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมัน ได้ทำการแยกเซลล์พืชมาเลี้ยง เพื่อจะทำการศึกษาคุณสมบัติของเซลล์ เมื่อปี ค.ศ. 1902 แต่เขาก็พบความสำเร็จเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ในปีค.ศ. 1930 ได้มีการพัฒนาการเลี้ยงเซลล์ที่แยกมาจากรากของพืชหลายชนิดโดยเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ต่อมาในปีค.ศ. 1938 สามารถเพาะเลี้ยงอวัยวะ(organ) และแคลลัส(callus) ของพืชได้หลายชนิด และนับตั้งแต่บัดนั้นเป็นต้นมา เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีการพัฒนาไปอย่างกว้างขวาง มีการค้นพบเทคนิคใหม่ ๆ อีกมากมาย จนกระทั่งจวบจนปัจจุบันนี้ สามารถทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เดี่ยวๆ และโปรโตพลาสต์ของพืชได้หลายชนิด รวมทั้งการใช้เทคนิคทางเทคโนโลยี-ชีวภาพ เช่น การตัดต่อยีน การถ่ายยีน เข้ามาร่วมด้วยเพื่อสร้างสายพันธุ์ใหม่ ๆ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช(plant tissue culture) หมายถึง การนำเอาอวัยวะส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชซึ่งเป็นส่วนเนื้อเยื่อเจริญ เช่น ใบ ดอก ราก ตา ข้อ ปล้อง เมล็ดที่กำลังงอก ปลายยอด ส่วนของผลหรือเนื้อเยื่อ เซลล์ หรือเซลล์ที่ไม่มีผนังเซลล์ที่เรียกว่าโปรโตพลาสต์ (protoplast) มาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์(synthetic media) ในสภาพปลอดเชื้อ(aseptic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

condition) จากเชื้อรา แบคทีเรียและสาหร่าย และในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง

ประเภทของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

แบ่งออกเป็นวิธีการใหญ่ๆ ได้ 5 วิธีคือ

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ (Meristem culture)

ได้แก่การนำเอาเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดที่ประกอบด้วย ตายอด(Apical bud) และตาข้าง(Axillary bud) เนื้อเยื่อเจริญมีลักษณะเป็นรูปโดม(Dome) ถูกห่อหุ้มไว้ด้วยใบอ่อน (Leaf primordium) หรือเกร็ดหุ้มตา(Scale) เมื่อตัดแยกออกมาเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งหรืออาหารเหลว ประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเพิ่มจำนวนตายอดและการเกิดราก โดยปกติใช้ไซโตไคนินในปริมาณค่อนข้างสูง(10-30 มิลลิกรัม/ลิตร) กระตุ้นให้เกิดการแตกตาและมีการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ต่อไป

2. การเพาะเลี้ยงส่วนของพืช (Organ culture)

ได้แก่ การนำเอาส่วนของพืช เช่น ราก ยอด แกนคัพภะ(embryo axis) อับละอองเรณู(anther) ไมโครสปอร์ รังไข่ ไข่(ovules) ฯลฯ มาเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว หรืออาหารเหลว ภายในสภาวะที่เหมาะสมมีการพัฒนาต่อไปได้ เช่น การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูและไมโครสปอร์ โดยการนำอับละอองเรณูในระยะที่มียูนินิวคลิเอตไมโครสปอร์ หรือแยกเฉพาะไมโครสปอร์(Isolated microspore) มาเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสม ทำให้มีการพัฒนาโดยกระบวนการเอมบริโอเจเนซิสหรือออร์แกโนเจเนซิสได้ต้นพืชที่สมบูรณ์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแฮปพลอยด์ ต้นพืชที่ได้อาจเป็น ดิพลอยด์ หรือ โพลิพลอยด์ หรือมิกโซพลอยด์ ก็ได้

3. การเพาะเลี้ยงแคลลัส (Callus culture)

นำชิ้นส่วนของพืช เช่น ลำต้น ราก ใบ ใบเลี้ยง เนื้อเยื่อสืบพันธุ์และอื่นๆ นำมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ทำให้เซลล์แบ่งตัวเพิ่มจำนวนเป็นกลุ่มเรียกว่า **"แคลลัส"** สามารถเลี้ยงแคลลัสให้อยู่ในสภาพนี้ไปได้เป็นเวลานาน โดยการตัดแยกลงเลี้ยงในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใหม่ เซลล์แคลลัสจัดเป็นเซลล์ที่เป็น non-differentlated และเป็น non-organized เมื่อมีการปรับเปลี่ยนสมดุลย์และสัดส่วนของฮอร์โมนในอาหารให้เหมาะสม ทำให้แคลลัสกลับสภาพไปเป็นโครงสร้างหรือส่วนต่างๆ ของพืชได้ เช่น เปลี่ยนไปเป็น ยอด ราก ตายอด หรือเอมบริออยด์ได้ โดยการพัฒนาผ่านกระบวนการออร์แกโนเจเนซิส และเอมบริโอ-เจเนซิส

4. การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย (Cell suspension culture)

การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยทำได้โดยการย้ายส่วนของพืช หรือก้อนแคลลัสลงเลี้ยงในอาหารเหลวที่อยู่ในขวดเลี้ยง หรือในหลอดทดลอง ซึ่งวางบนเครื่องเขย่า(Shaker) หรือล้อหมุนเพื่อให้เซลล์กระจายตัว มีการแลกเปลี่ยนแก๊ส เซลล์แขวนลอยประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดต่างๆ กัน และรวมทั้งเป็นเซลล์เดี่ยวๆ ด้วย โดยปกติการเลี้ยงเซลล์ในสภาพแขวนลอยจะมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าการเลี้ยงในสภาพกึ่งแข็ง เนื่องจากทุกๆ เซลล์สัมผัสกับอาหารโดยทั่วถึงกัน เซลล์ในสภาพแขวนลอยเป็นแหล่งสำคัญในการใช้ต้นพืช โดยผ่านกระบวนการออร์แกโนเจเนซิสหรือเอมบริโอเจเนซิส การเลี้ยงแคลลัสหรือเซลล์แขวนลอยเป็นเวลานานๆ จะทำให้คุณสมบัติในการพัฒนาเป็นต้นพืชลดน้อยลง

5. การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ (Protoplast culture)

โปรโตพลาสต์ คือ เซลล์เปลือย(neked) ที่ไม่มีผนังเซลล์ห่อหุ้ม มีคุณสมบัติในการสร้างผนังเซลล์ และมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ โปรโตพลาสต์แยกออกมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจากเซลล์เพาะเลี้ยง หรือจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง เมื่อแยกโปรโตพลาสต์มาแล้ว ก็นำมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการแบ่งเซลล์ เพิ่มจำนวนเป็นโคโลนีเล็กๆ และสามารถพัฒนาเป็นต้นพืชได้

การแยกโปรโตพลาสต์ทำได้โดยการย่อยสลายผนังเซลล์ด้วยเอนไซม์ที่เหมาะสม เช่น เซลลูเลส(Cellulase) เฮมิเซลลูเลส(Hemicellulase) และเปคติเนส(pectinase) ความสำเร็จในการแยกเลี้ยงโปรโตพลาสต์ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่นสภาพทางสรีระของส่วนของพืชที่นำมาแยกโปรโตพลาสต์ แหล่งหรือที่มาของเอนไซม์และออสโมติกสแตบิไลเซอร์(Osmotic stabilizer) โปรโตพลาสต์สามารถเลี้ยงได้ในอาหารกึ่งแข็งหรืออาหารเหลวเช่นเดียวกับการเลี้ยงเซลล์ โปรโตพลาสต์มีการสร้างผนังเซลล์ได้รวดเร็วการตรวจสอบการสร้างผนังเซลล์ของโปรโตพลาสต์ด้วย calcaflior ซึ่งจะย้อมติดเฉพาะผนังเซลล์ แต่ไม่ติด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนอื่นๆ ของเซลล์ เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้แสงอุลตราไวโอเลต หากมีผนังเซลล์เกิดขึ้นก็จะทำให้ผนังเซลล์เรืองแสง และจำไม่เห็นการเรืองแสงถ้าไม่มีผนังเซลล์ การแบ่งเซลล์ไม่จำเป็นต้องมีการสร้างผนังเซลล์ขึ้นก่อน โปรโตพลาสต์แบ่งเซลล์ได้ใน 1-3 สัปดาห์ มีการเกิดโคโลนีของเซลล์ ต่อมากลายเป็นแคลลัส เมื่อย้ายลงสู่อาหารเหลวก็จะเกิดเป็นเซลล์แขวนลอย ความสำเร็จในการทำให้เกิดเป็นต้นพืช(Regeneration) จากโปรโตพลาสต์มีน้อยมาก จำกัดอยู่เพียงไม่กี่ชนิด ซึ่งได้แก่พืชชนิด *Solanaceae* ต่อมาเป็น *Leguminosae* และ *Gramineae* ตามลำดับ

โปรโตพลาสต์สามารถนำมารวมกันเพื่อให้เกิดเซลล์ที่มีหลายนิวเคลียส (Multinucleated cells) หรือเพื่อใช้ในการสร้างเซลล์ลูกผสม(Hybrid) ระหว่างโปรโตพลาสต์จากแหล่งต่างๆ กัน การเชื่อมโปรโตพลาสต์เข้าด้วยกัน อาจเกิดขึ้นเองได้ตามธรรมชาติ หรืออาจเหนี่ยวนำโดยใช้สารต่างๆ เช่น โพลิเอทิลินไกลคอล(Polyethylene glycol หรือ PEG)โดยที่ PEG ช่วยให้โปรโตพลาสต์เข้ามารวมกันเป็นกลุ่มเล็กๆ การเชื่อมต่อของโปรโตพลาสต์เกิดขึ้นระหว่างที่เจือจาง(Dilution) ของ PEG ด้วยด่างที่มี Ca^{++} ในความเข้มข้นสูง เซลล์ลูกผสมที่เกิดขึ้นจากการเชื่อมโปรโตพลาสต์เข้าด้วยกัน สามารถสร้างผนังเซลล์และแบ่งตัวได้

การเจริญของเซลล์และเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงมีได้ 2 แบบ คือ

1. การเจริญของออร์แกไนซ์เซลล์ (Organized cells)

ได้แก่เซลล์เริ่มต้น(Initial cells) ที่มีอยู่แล้วในเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย(Meristem tip) เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงมีการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นส่วนที่สมบูรณ์ เช่น เป็นยอด ใบ หรือเป็นราก ในการแยกไซโกติกเอมบริโอ(Zygotic embryo) มาเลี้ยงและได้เป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ จัดว่าเป็นการเพาะเลี้ยงของพวกออร์แกไนซ์เซลล์

2. การเจริญของอันออร์แกไนซ์เซลล์ (Unorganized cells)

ได้แก่การนำส่วนต่างๆ ของพืชมาเพาะเลี้ยง เซลล์เนื้อเยื่อร่างกายมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเป็นก้อนแคลลัสที่มีรูปร่างไม่แน่นอน แคลลัสเกิดได้จากทุกส่วนของพืช เมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงในอาหารที่เหมาะสม แคลลัสจัดเป็นพวกอันออร์แกไนซ์เซลล์ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวกลายเป็นเซลล์แขวนลอย เมื่อนำเอาผนังเซลล์ออกกลายเป็นโปรโตพลาสต์

การพัฒนาของเซลล์ในเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงเพื่อเกิดเป็นต้นพืชมี 2 กระบวนการ คือ

1. ออร์แกโนเจเนซิส (organogenesis)

เป็นการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อในทางเดียว(Unipolar) ได้แก่ การเจริญเติบโดของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ปลายราก หรือการพัฒนาของเซลล์เป็นส่วนของต้นพืช(Shoot) หรือเป็นส่วนของราก(Root) เป็นการพัฒนาที่แยกจากกัน อาจเกิดเฉพาะส่วนของต้นพืช หรืออาจเกิดเฉพาะราก เมื่อได้ส่วนของต้นพืช ต้องนำมาชักนำให้เกิดรากจึงจะได้ต้นพืชที่สมบูรณ์

2. โซมาติกเอมบริโอเจเนซิส (Somatic embryogenesis)

เป็นกระบวนการพัฒนาของเซลล์ไปในสองทิศทาง(Bipolar) พร้อมๆกัน ของโครงสร้างที่คล้ายคลึงเอมบริโอ ที่เรียกว่า โซมาติกเอมบริโอ (Somatic embryo) เนื่องจากเกิดจากโซมาติกเซลล์ (Somatic cell) การเกิดต้นและรากเป็นการพัฒนาพร้อมๆ กัน เมื่อได้ต้นก็จะมีรากเกิดขึ้นด้วย

ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. เพื่อการผลิตต้นพันธุ์พืชปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว

โดยอาศัยอาหารสูตรที่สามารถเพิ่มจำนวนต้นเป็นทวีคูณ ซึ่งจะทำการเพิ่มจำนวนของยอดให้ได้มากๆ ก่อน ก่อนที่จะนำยอดที่ได้ไปเพาะเลี้ยงลงในอาหารสูตรที่ชักนำให้เกิดเป็นราก แล้วจึงนำไปขยายพันธุ์ต่อไป

2. เพื่อการผลิตพืชที่ปราศจากโรค

ปัญหาสำคัญประการหนึ่งของการผลิตพืชก็คือ“โรค” ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากเชื้อรา แบคทีเรีย หรือไวรัส ต้นพืชที่ผลิตได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะปราศจากเชื้อแบคทีเรียและราเป็นอันดับแรก เพราะถ้าหากว่ามีอนุภาคของ เชื้อเหล่านั้นตกลงไปในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อก็จะแสดงอาการปนเปื้อนของเชื้อ(contamination) เพราะทั้งอนุภาคของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และสปอร์ของรา สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วบนอาหารและจะปรากฏกลุ่ม(colony) ของจุลินทรีย์เหล่านั้น ที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า เราจึงสามารถเก็บออกมาขจัดทิ้งได้ ส่วนในกรณีการปนเปื้อนของเชื้อไวรัส

ซึ่งเป็นอนุภาคที่มีขนาดเล็กมากและจะสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ก็ต่อเมื่ออาศัยอยู่ในเซลล์ชนิดอื่น ฉะนั้น ต้นพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสจึงไม่แสดงอาการ contamination ให้เห็น เราจะทราบได้ก็ต่อเมื่อเกิดอาการ(symptom) บนต้นพืช ซึ่งเมื่อถึงเวลานั้นมันก็สายเกินไปเสียแล้วที่จะแก้ไข เพราะโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสไม่มียาชนิดใดที่จะแก้ไขได้ นอกจากการกำจัดหรือทำลายพืชทิ้งไป ฉะนั้นก่อนทำการเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อ จะต้องคัดเลือกและตรวจสอบเนื้อเยื่อ จนแน่ใจว่าปลอดจากเชื้อไวรัส ชิ้นส่วนของพืชที่นับว่ามีความปลอดจากเชื้อไวรัสมากที่สุด คือ apical meristem ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเจริญที่อยู่บริเวณปลายยอดของลำต้นและเนื้อเยื่อของคัพภะ(embryo) ที่อยู่ในเมล็ด อันเนื่องมาจากอนุภาคของไวรัสสามารถเคลื่อนย้ายได้ทางท่ออาหาร(phloem) และท่อน้ำ(xylem) แต่เนื้อเยื่อดังกล่าวไม่มีท่อน้ำและท่ออาหารที่จะติดต่อกับส่วนอื่นๆ ของต้นพืช จึงเป็นเหตุผลประการหนึ่งที่ทำให้เนื้อเยื่อทั้งสองดังกล่าวปลอดจากโรคไวรัส

3. เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช

โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ แล้วคัดเลือกเอาสายพันธุ์ดีไว้ ซึ่งอาจทำได้โดยการใช้สารเคมีการฉายรังสี การตัดต่อยีน(DNA recombi-nation) และการย้ายยีน (gene transformation)

4. เพื่อการผลิตพืชพันธุ์ต้านทาน (resistant plant)

เราสามารถที่จะชักนำให้เกิดความต้านทานขึ้นในต้นพืช โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเงื่อนไขต่าง ๆ เช่น การสร้างพันธุ์ต้านทานต่อสารพิษของโรค ต้านทานต่อแมลง ต้านทานต่อยากำจัดวัชพืช เป็นต้น

5. เพื่อการผลิตพืชพันธุ์ทนทาน (tolerance plant)

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เราสามารถที่จะคัดสายพันธุ์ทนทานได้จากการจัดเงื่อนไขของอาหารและสภาวะแวดล้อม เช่น การคัดเลือกสายพันธุ์พืชทนเค็มจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในอาหารที่มีส่วนผสมของเกลือ การคัดสายพันธุ์ที่ทนต่อดินเปรี้ยวจากการเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อในอาหารที่มีสภาพเป็นกรด การคัดสายพันธุ์ที่ทนร้อนโดยการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิสูง เป็นต้น

6. เพื่อการผลิตยาหรือสารเคมีจากพืช

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า พืชบางชนิดสามารถให้สารที่มีคุณสมบัติทางยาหรือมีประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรม แต่ในบางครั้งปริมาณเนื้อสารที่ต้องการมีอยู่ในปริมาณน้อยมาก จะต้องใช้ชิ้นส่วนพืชจำนวนมากนำมาสกัดเหมาะสมก็อาจชักนำให้เกิดการสังเคราะห์สารที่เราต้องการได้มากขึ้นแยก การเพาะเลี้ยงเซลล์หรือเนื้อเยื่อของพืชเหล่านั้น ในสภาพแวดล้อมและอาหารที่เหมาะสม

7. เพื่อการศึกษาทางชีวเคมีและสรีรวิทยาของพืช

ต้นพืชที่เลี้ยงในหลอดทดลอง เราสามารถที่จะติดตามการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงได้ง่ายและอย่างใกล้ชิด เช่น การศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อพืชต่อยาฆ่าแมลง ยาปราบศัตรูพืช หรือต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และการควบคุมตัวแปรต่าง ๆ ในหลอดทดลองกระทำได้ง่ายกว่าในแปลงทดลอง

8. เพื่อการเก็บรักษาพันธุ์พืช

ทุกวันนี้พืชพรรณหลายชนิดได้สูญพันธุ์ไป หรือกำลังจะสูญพันธุ์ไปอย่างน่าเป็นห่วง ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมหรือเกิดจากการทำลายของมนุษย์เอง ด้วยเหตุนี้นักเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงได้พยายามคิดหาส่วนผสมของสารชะลอการเติบโตบางชนิด หรือมีสารที่ทำให้เกิดความเครียดของน้ำ(water stress) ขึ้นในหลอดทดลอง ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตในอัตราที่ช้ามาก เพื่อเป็นการประหยัดแรงงาน เวลาและอาหารในการที่จะต้องทำการย้ายเนื้อเยื่อบ่อยๆ จนกว่าเมื่อใดที่ต้องการจะเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อ เราก็ย้ายลงไปเลี้ยงในอาหารสูตรปกติของพืชชนิดนั้นๆ อีกวิธีหนึ่งก็คือ การเก็บรักษาเนื้อเยื่อไว้ในไนโตรเจนเหลวที่มีอุณหภูมิต่ำถึง -196 องศาเซลเซียส ในสภาพเช่นนี้เซลล์และเนื้อเยื่อจะคงสภาพและมีชีวิตอยู่ได้ยาวนาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยที่ควรคำนึงในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ทั้งภายในและภายนอกของพืช ซึ่งพอสรุปได้ดังนี้

1. ชนิดและชิ้นส่วนของพืช
2. ธาตุอาหาร
3. สารควบคุมการเจริญเติบโต (Plant Growth Regulators)
4. ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (Environment Factors)

ชนิดและชิ้นส่วนของพืช

พืชแต่ละชนิดมีความยากง่ายในการเพาะเลี้ยงต่างกันและในพืชชนิดเดียวกันแต่ต่างอวัยวะกัน การเพาะเลี้ยงก็แตกต่างกัน จริงอยู่แม้ว่าเซลล์พืชที่มีชีวิตอยู่ทุกเซลล์มีโอกาสที่จะเจริญเป็นต้นได้(totipotency) แต่โอกาสไม่เท่าเทียมกัน

ธาตุอาหาร

1. ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์

1.1 ธาตุอาหารหลัก (essential macroelement)

เป็นธาตุที่พืชต้องการในปริมาณมากสำหรับการเจริญเติบโต ได้แก่ ไนโตรเจน โปตัสเซียม ฟอสฟอรัส กำมะถัน แคลเซียมและมักนีเซียม

1.2 ธาตุอาหารรอง (essential microelement) เป็นธาตุที่พืชต้องการในปริมาณต่ำแต่จะขาดไม่ได้ ได้แก่ เหล็ก มังกานีส สังกะสี โบรอน ทองแดง โมลิบดินัม และโคบอลต์

2. น้ำตาล

น้ำตาลเป็นสารประกอบอินทรีย์ เพื่อใช้เป็นแหล่งให้คาร์บอนแก่เนื้อเยื่อ โดยทั่วไปใช้น้ำตาลซูโครส แต่ในบางกรณีอาจใช้น้ำตาลกลูโคส โดยความเข้มข้นของน้ำตาลปกติประมาณ 20-40 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร หรือ 2-4 เปอร์เซนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วิตามิน (Vitamin)

เนื้อเยื่อพืชต้องการวิตามินสำหรับการเจริญเติบโต ถ้าขาดวิตามินเนื้อเยื่อจะเจริญได้น้อยหรือไม่เจริญเติบโตเลย วิตามินที่ใช้ต้องละลายน้ำได้วิตามินที่สำคัญมากที่สุด ได้แก่ ไทอามีน(thiamine) ส่วนวิตามินอื่นๆ เป็นตัวช่วยเสริมการเจริญเติบโต เช่น nicotinic acid, pyridoxine, biotin, myo-inositol เป็นต้น

4. กรดอะมิโน (Amino acid)

กรดอะมิโนจะมีผลในช่วงแรก ๆ เนื่องจากช่วงแรก ๆ ของการเจริญเติบโต เซลล์อยู่ในสภาพอ่อนแอมาก จึงต้องการสารอาหารที่ใช้ได้ทันทีมากกว่าที่จะสังเคราะห์ขึ้นมาเอง

5. สารประกอบเชิงซ้อนที่ได้มาจากธรรมชาติ ได้แก่

ซึ่งเราไม่สามารถที่จะบอกส่วนประกอบของธาตุต่างๆ ได้อย่างแน่นอน เช่น

- น้ำมะพร้าว
- น้ำคั้นมะเขือเทศ
- น้ำสกัดหัวมันฝรั่ง
- กล้วยบด
- สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)
- สารสกัดจากมอลต์ (malt extract)

6. วุ้น (Agar)

วุ้นเป็นตัวทำให้เนื้อเยื่อตั้งอยู่บนอาหารได้ ความเข้มข้นที่ใช้อยู่ระหว่าง 0.5-1.3 เปอร์เซนต์

พืชแต่ละชนิดหรือแต่ละอวัยวะต้องการอาหารที่แตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ ฉะนั้น จึงมีความจำเป็นในการเลือกสูตรอาหารให้เหมาะสมกับพืชที่จะทำการเพาะเลี้ยงซึ่งมีผู้คิดค้นไว้มากมายหลายสูตร ธาตุอาหารที่มีบทบาทอย่างสำคัญในการชักนำให้เกิดเอมบริโอจีนีซีส เพื่อเป็นแนวทางในการปรับใช้ควบคู่ไปกันการเลือกสูตรอาหาร

- ธาตุโพแทสเซียม(K) ช่วยส่งเสริมให้เกิดเอมบริโอจีนีซีสการลดปริมาณของธาตุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนโตรเจน (N) ให้ต่ำกว่าระดับปกติในสูตรอาหารช่วยส่งเสริมให้เกิดเอมบริโอจีนีซีสดีขึ้น

- น้ำมะพร้าวส่งเสริมการเกิดเอมบริโอจีนีซีส

- น้ำตาลแซกคาโรส(Saccharose) ที่ระดับความเข้มข้น 2-3 % ช่วย ส่งเสริมให้เกิดเอมบริโอจีนีซีส

สารควบคุมการเจริญเติบโต (Plant Growth Regulators)

สารควบคุมการเจริญเติบโต หมายถึง สารเคมีที่พืชสร้างขึ้นเองหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้นมา ทำหน้าที่ควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งมีทั้งส่งเสริมและยับยั้ง ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สารควบคุมการเจริญเติบโตมีความสำคัญอย่างยิ่ง

นักวิทยาศาสตร์ได้ให้คำจำกัดความของสารควบคุมการเจริญเติบโตดังนี้

1. จะต้องเป็นสารอินทรีย์
2. จะต้องเป็นสารที่สร้างขึ้นภายในต้นพืช
3. ตำแหน่ง (Tissue) ที่สารทำงานต่างกับตำแหน่งที่เกิด
4. พืชต้องการชนิดนั้นในปริมาณน้อยมาก
5. สารนั้นจะต้องเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืชได้

ในปัจจุบันได้มีการจำแนกสารควบคุมการเจริญเติบโตได้เป็น 5 ประเภท คือ auxins, gibberellins, cytokinins, ethylene และ inhibitors

การทำงานของสารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละประเภทอาจเสริมหรือขัดกันได้ สารควบคุมการเจริญเติบโตที่สำคัญได้แก่ ออกซินและไซโตไคนิน

ออกซิน

ออกซินมีอยู่ในพืชที่มีท่อลำเลียงทุกชนิด(เฉพาะพืชที่นำมาสกัด) ในต้นพืชทั่วๆ ไป บริเวณที่มีการสร้างสารออกซินอยู่ที่ Meristematic cell โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณยอดของต้นพืชและตาที่กำลังเจริญ นอกจากนั้นใบอ่อนและดัพภะที่กำลังเจริญจะสร้างสารออกซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้มาก ใบจะสร้างสารออกซินได้น้อยลง เมื่อใบมีอายุได้มากขึ้น ละอองเกสรตัวผู้ก็มีการสร้างสารออกซินได้เช่นเดียวกัน และจะสร้างได้ในปริมาณที่สูงมาก ขณะที่ pollen tube กำลังเจริญเติบโต

ออกซินที่พบในต้นพืช ได้แก่ สาร IAA เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเกิดจาก ทริปโตเฟน สารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นหลายชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิน อาทิเช่น phenoxyacetic acid, naphthaleneacetic acid, benzoic acid, picolinic acid บางตัว มีสารบางตัวที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับสาร IAA แต่ไม่แสดงคุณสมบัติของ auxin

หน้าที่ของสาร auxin สรุปได้ดังนี้

1. เร่งการขยายตัวของเซล

ออกซินช่วยเร่งการขยายตัวของเซลที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ เช่น เซลล์ของพืช

2. ส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์

พบว่า ออกซิน(IAA) สามารถเร่งการแบ่งตัวของเซลล์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารออกซินส่งเสริมการสร้างสารโปรตีน รวมทั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก Silberger and Skoog พบว่า มีการสร้างสาร RNA ขึ้นอย่างมากมายหลังจากใส่สาร IAA ให้กับเนื้อเยื่อของต้นยาสูบ และหลังจากที่ใส่ inhibitors ลงไป พบว่า inhibitors นั้นจะขัดขวางการสร้างสารโปรตีน

3. เร่งการออกรากของลำต้นและใบ

สารออกซินช่วยให้ลำต้นและใบออกรากได้ง่ายขึ้น การออกรากของส่วนต่าง ๆ ของพืชจะต้องมีปัจจัยต่าง ๆ หลายอย่างดังนี้คือ จะต้องมีอาหารสะสมอยู่ภายในอย่างพอเพียง จะต้องมีสารออกซินอยู่ในบริเวณที่จะเกิดรากและจะต้องมี cofactor ซึ่งเป็นสารประเภทฟีนอล อยู่ในบริเวณที่จะเกิดราก สารทั้งสามประเภททำปฏิกิริยาต่อเนื่องกันดังนี้ คือ

cofactor + auxin

↓

auxin-phenol complex

↓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

↓

enzyme + storage foods

↓

cell division

↓

adventitious root initiation

4. ส่งเสริมหรือยับยั้งการเติบโตของราก

ถ้ารากมีออกซินในความเข้มข้นเล็กน้อย (10^{-11} ถึง 10^{-9} โมล่าร์) ออกซินจะเร่งการเจริญเติบโตของราก แต่ถ้าความเข้มข้นของออกซินในรากตั้งแต่ 10^{-8} ขึ้นไป ออกซินจะยับยั้งการเจริญเติบโตของราก

5. ยับยั้งการเจริญของ auxillary buds

สารออกซินที่สร้างที่ปลายยอดของลำต้นจะเคลื่อนที่ลงสู่เบื้องล่าง เมื่อถึงตาข้าง (auxillary bud) ก็จะยับยั้งตาข้างมิให้ เจริญเป็นกิ่ง ดังนั้นตาข้างของพืชต้นเล็กจึงไม่งอกออกมาเป็นกิ่งและใบ ทั้งที่มันก็แก่ และมีอาหารสะสมพอเพียงแล้วก็ตาม

6. ป้องกันการร่วงของใบ กิ่ง และผล

ออกซินที่เคลื่อนที่ไปถึงส่วนต่อของใบ กิ่ง และผลกับลำต้น จะยับยั้งการสร้าง abscission layer ขึ้นที่ส่วนต่อดังกล่าว ทำให้ใบ กิ่งไม้และผลไม้ไม่ร่วงจากต้น เมื่อต้นไม้เจริญเติบโตใหญ่ขึ้น ต้นไม้มีความสูงมากขึ้น ออกซินที่สร้างขึ้นที่ปลายยอดและปลายกิ่งเคลื่อนที่ลงมาไม่ถึงส่วนต่อระหว่างใบ กิ่ง และผลกับลำต้น abscission layer จึงเกิดขึ้น ผลทำให้ใบไม้ กิ่งไม้ และผล ร่วงจากต้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ใบไม้และกิ่งไม้บริเวณโคนต้นร่วงก่อนพวกที่อยู่ข้างบน

7. ช่วยให้รังไข่เจริญเติบโตเป็นผล

ดอกไม้ทั่วไปจะเจริญไปเป็นผลไม้ได้นั้นจะต้องมีการผสมเกสรและการปฏิสนธิเกิดขึ้น แต่มีพืชบางชนิดมีออกซินในดอกมาก ออกซินในดอกไม้จะทำให้รังไข่เจริญเติบโตไปเป็นผล โดยมิต้องมีการผสมเกสรและการปฏิสนธิเกิดขึ้น ด้วยเหตุนี้ถ้าใช้ IAA ฉีดพ่นให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

กับดอกและรังไข่โดยตรง รังไข่ของดอกไม้นั้นก็จะถูกกระตุ้นให้เจริญเติบโตไปเป็นผลไม้ ผลไม้ที่เกิดขึ้นโดยไม่มีการปฏิสนธินี้ เราเรียกว่า parthenocarpic fruits

8. ส่งเสริมการเกิดพลังงานขึ้นภายในเซลล์

พบว่า IAA ช่วยในการแตกพันธะของสารบางชนิดได้ การที่พันธะของสารชนิดต่างๆ แตกออกนี้ จะทำให้มีพลังงานเกิดขึ้น พลังงานภายในเซลล์จึงเกิดมากขึ้น นอกเหนือจากพลังงานที่ได้จากขบวนการหายใจ

9. ส่งเสริมการสร้างโปรตีน

ผลการทดลองพบว่า สาร IAA สามารถช่วยการสร้าง massenger RNA และ ribosomal RNA สารทั้งสองตัวนี้ทำหน้าที่ในการสร้างสารโปรตีนชนิดต่าง ๆ

10. ส่งเสริมการเคลื่อนที่ของสารภายในเซลล์

สารออกซินสามารถเร่งการเคลื่อนที่ของสารภายในเซลล์โดยการเร่ง cytoplasmic stream ให้เร็วขึ้น

ตามปกติสารออกซินจะทำงานตามคุณสมบัติได้ดีในเมื่อมีความเข้มข้นต่ำ และสารออกซินจะหยุดทำงานขณะที่มีความเข้มข้นสูง

ไซโตไคนิน (Cytokinins)

เป็นสารที่มีอิทธิพลต่อการแบ่งตัวของเซลล์ ซึ่งมีชื่อว่า kinin (มาจากศัพท์คำว่า kinesis ซึ่งหมายถึง การแบ่งตัว) ก่อนที่จะมีการตั้งชื่อฮอร์โมนจำพวกนี้ว่า kinin ได้มีการพบฮอร์โมนอีกชนิดหนึ่ง เป็นฮอร์โมนที่พบในสัตว์ และมีคุณสมบัติต่างกับ kinin ของพืช แต่ฮอร์โมนที่พบในสัตว์ก็มีชื่อ kinin เช่นเดียวกัน ดังนั้น เพื่อมิให้เกิดการสับสนในการเรียกชื่อสารจึงเรียก kinin ของพืชว่า phytokinin หรือ cytokinin นักวิทยาศาสตร์ในปัจจุบันนิยมเรียก kinin ของพืชว่า cytokinin มากกว่า phytokinin

สารไซโตไคนินตัวแรกที่พบมิได้สกัดจากต้นพืชแต่เป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นในห้องปฏิบัติการ สารตัวนี้คือ adenine sulphate ต่อมาได้มีการค้นพบ สารจำพวกไซโตไคนิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25407

อีกชนิดหนึ่งซึ่งมีชื่อว่า kinetin (6-furfuryl-aminopurine) สารชนิดนี้มีฤทธิ์แรงกว่าสารไซโตไคนินชนิดอื่นๆ และถูกนำมาใช้ในการทดลองต่างๆ ที่เกี่ยวกับสารไซโตไคนินมากที่สุด สารฮอร์โมนที่จัดอยู่ในประเภทไซโตไคนินอีกชนิดหนึ่งคือ zeatin ซึ่งเป็นสารที่สกัดได้จากเมล็ดข้าวโพด ปัจจุบันพบว่า zeatin มีอยู่ในพืชอื่นๆ อีกหลายชนิด zeatin จัดเป็นสารจำพวก hydroxy dimethylalyl adenine ดังรูป ซึ่งแสดงโครงสร้างของสารไซโตไคนินชนิดต่างๆ ที่เกิดขึ้นในต้นพืชตามธรรมชาติและที่สังเคราะห์ขึ้นมา

ไซโตไคนินมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชดังนี้

1. ส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์

ไซโตไคนินเร่งการแบ่งตัวของเซลล์ในลำต้นและรากได้เป็นอย่างดี

2. เร่งการขยายตัวของเซลล์

พบว่าสารไคเนติน สามารถทำให้ แวคิวโอล ภายในเซลล์ใหญ่ขึ้น จึงทำให้ขนาดของเซลล์ขยายใหญ่ขึ้น

3. ส่งเสริมการสร้างและการเจริญของตา

ไซโตไคนินส่งเสริมการสร้าง adventitious bud ในลำต้น เช่น เมื่อนำลำต้นพืชชนิดหนึ่งไปปลูกลงบน media ที่มีไคเนตินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันจะทำให้ลำต้นสร้าง adventitious bud ได้ไม่เท่ากัน อีกรายงานหนึ่งกล่าวว่า ไซโตไคนินเร่งการเจริญเติบโตของตาข้างและไซโตไคนินสามารถลบล้างอำนาจของออกซินได้ ตามปกติออกซินจะยับยั้งตาข้างมิให้เติบโต แต่ถ้าบริเวณตาข้างมีปริมาณไซโตไคนินมากพอทำให้ตาข้างเจริญเติบโตได้

4. เร่งให้เมล็ดงอกเร็วขึ้น

เมล็ดที่กำลังงอกจะมีไซโตไคนินบริมาณสูงทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าไซโตไคนินเป็นสารที่ช่วยในการแบ่งตัวของเซลล์ ผลที่เกิดขึ้นคือเมล็ดสามารถงอกได้เร็วขึ้น

5. เร่งการเจริญเติบโตของเมล็ดและตาข้างที่พักตัว

มีสารบางชนิดทำให้เมล็ดและตาข้างพักตัว ไซโตไคนินเป็นสารจำพวกหนึ่งที่สามารถทำให้เมล็ดหรือตาข้างที่พักตัวพ้นจากการพักตัวได้ และทำให้เมล็ดหรือตาข้างงอกเป็นต้นกล้าหรือกิ่งและใบ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ยับยั้งการแก่ของใบ

ไคเนตินช่วยให้ใบมีอายุยืนนานขึ้นเพราะไคเนตินป้องกันการแตกตัวของสารคลอโรฟิลล์ ถึงแม้ว่าใบที่มีสีเหลืองแล้วก็ตาม ไคเนตินก็สามารถยืดอายุของใบชนิดนี้ได้เช่นเดี่ยวกัน

7. ส่งเสริมการสร้างสารโปรตีน

ไคเนตินสามารถดึงกรดอะมิโนชนิดต่างๆ เข้าใกล้ตัวเอง นอกจากนั้นไซโตไคนินยังสามารถสร้าง DNA และ RNA จะเห็นได้ว่ากรดอะมิโน,DNA และ RNA ต่างก็เกี่ยวข้องกับการสร้างสารโปรตีน

8. ไซโตไคนินควบคุมการปิดเปิดของรูใบ

ตามปกติ stomata ของใบจะเปิดในที่ที่มีแสงและจะปิดในที่มืด แต่จากการทดลองพบว่าสารไคเนตินมีผลทำให้ stomata เปิดในที่มืดได้

นอกจากนี้สารเคมีบางตัวยังมีผลต่อการชักนำให้เกิดเอมบริโอจีนีซิส

- 2,4-D มีความสำคัญในการชักนำให้เกิดเอมบริโอจีนีซิส
- จิบเบอเรลลิค แอซิค ยับยั้งการเกิดเอมบริโอจีนีซิส
- 7 aza-indole เป็นสารยับยั้งการสังเคราะห์ออกซิน จึงมีผลในด้านยับยั้งการเกิดของเอมบริโอจีนีซิส
- เอทธิลีน ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเซลล์ในระยะแรก
- BAP, IAA, IBA และ kinetin ยับยั้งเอมบริโอจีนีซีส
- Zeatin และ ALAR(succinic acid 2,7-methyl-hydrazide) ส่งเสริมการเกิดเอมบริโอจีนีซิส

ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (Environment Factors)

ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีบทบาทต่อกระบวนการเอมบริโอจีนิซิส มีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. แสง

เอมบริโอจีนีซิสต้องการแสงที่ความเข้มค่อนข้างต่ำ ยกเว้นพืชบางชนิดที่ไม่ต้องการแสงในการเพาะเลี้ยง

2. อุณหภูมิ

โดยทั่วไปแล้วต้องการอุณหภูมิที่สูงกว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั่วๆ ไป (25องศาเซลเซียส) เล็กน้อย

3. ก๊าซออกซิเจน

เซลล์ที่มีกิจกรรมสูงย่อมต้องการออกซิเจนเพื่อการหายใจในปริมาณที่มากด้วย

4. รังสี (Irradiation)

เป็นตัวการทำให้ออกซิเจนสลายตัว มีผลไปยับยั้งการเกิดเอมบริโอจีนีซีส

5. ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

มีความแปรผันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การดำเนินการวิจัย

3.1 พืชทดลอง

เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาห้วยทราย (*Lycopersicon esculentum* var. periforme)

3.2 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า (Balance)
    1.1 แบบละเอียด ; ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
    1.2 แบบหยาบ ; ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
2. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
3. เตาอบความร้อน (Hot air oven)
4. เตาไมโครเวฟ (Microwave oven)
5. เตาความร้อนและเครื่องคน (Hot plate and Magnetic stirrer)
6. เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Metre)
7. ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Larminar air-flow carbinet)
8. ตู้เย็น (Refrigerator)
9. กล้องถ่ายภาพ (Camera)
10. เครื่องมือวัดความเข้มแสง (Lux miter)

3.2.2 อุปกรณ์

1. ภาชนะเครื่องแก้ว
    1.1 บีกเกอร์ (Beaker)
    1.2 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
    1.3 ปิเปต (Pipette)
    1.4 แท่งแก้วคน (Stirrer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 จานแก้ว (Petri diskh)

1.6 กระบอกตวง (Cylinder

1.7 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)

1.8 ขวดแก้วสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชพร้อมฝาพลาสติกทนความร้อน

1.9 ขวดสีชา

1.10 พลาสเตอร์ปิเปต (Pasteur pipettes)

1.11 กรวยแก้ว (Glass cone)

2. มีดผ่าตัด (Knives and scalpel)

3. ปากคีบ (Forcep) ขนาดและแบบต่างๆ

4. ลูกยาง (Pipette bulbs)

5. ช้อนตักสารเคมี (Spetula)

6. อลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium foil)

7. ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol lamp)

8. พาราฟิล์ม (Parafilm)

9. กระดาษกรอง (Filter paper)

3.2.3 สารเคมี

1. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) (ภาคผนวก ก)

2. สารเคมีสำหรับฟอกฆ่าเชื้อ

2.1 น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ

2.2 ทีโพล (Teepol)

2.3 สารเปียกใบ (Tween-20 (Polyoxye lthylene sorbitan monolaurate))

2.4 สารละลายคลอรอกซ์ (Chlorox) ที่ความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซนต์

2.5 แอลกอฮอร์ 95 เปอร์เซนต์ (Alcohol 95 %)

3. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1 ออกซิน (Auxin)

- Napthaleneacetic acid (NAA)
- 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)

3.2 ไซโตไคนิน (Cytokinin)

- Benzyladenine (BA)
- Kinetin (K)

4. สารเคมีสำหรับฆ่าเชื้อโรคและเป็นเชื้อเพลิง

- แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์
- แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์

3.3 สภาวะต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

1. สภาวะของการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (Sterile condition)

- ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
- อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส
- เวลา 15 นาที

2. สภาวะของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue culture room condition)

- อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส
- ความเข้มแสง 700 ลักซ์ จากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ Toshiba 40 T9W/38W cool white
- ระยะเวลาการให้แสง ช่วงสว่าง 16 ชั่วโมงและช่วงมืด 8 ชั่วโมงต่อวัน

3.4 วิธีทดลอง

3.4.1 หาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกเมล็ดมะเขือเทศ

1. เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS(ภาคผนวก ก)
2. ทำการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะเขือเทศโดยใช้น้ำผสมทีโพล(Teepol) เพื่อล้างเมือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เมล็ดออก แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจากนั้นแช่เมล็ดในสารละลายคลอรอกซ์ที่ผสมสารเปียกใบ(Tween-20) 2-3 หยด ตามความเข้มข้นและเวลาในการแช่ดังตารางที่2 (ภาคผนวก ข) จำนวนสูตรละ 20 เมล็ด เขย่าเป็นระยะๆ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 3 ครั้ง แล้วจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซนต์ 30 วินาที ล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 1 ครั้ง

3. นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงลงในอาหารสูตร MS ที่เตรียมไว้นำไปเพาะเลี้ยงที่ห้องเพาะเลี้ยง ในช่วงแรกเพาะเลี้ยงในตู้มืด หลังจากที่รากงอกได้ประมาณ 1 เซนติเมตรจึงนำออกมาไว้ในที่มีแสง

4. ทำการบันทึกผลการทดลองดังนี้

- จำนวนวันในการงอกราก
- จำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์
- จำนวนเมล็ดที่เกิดการงอกหลังจากผ่านไป 15 วัน

5. เปรียบเทียบผลการทดลองข้างต้นแล้วเลือกสภาวะที่ดีที่สุด

6. ทำการฟอกเมล็ดเพื่อให้ได้ต้นมะเขือเทศมากพอต่อการทดลองในขั้นต่อไป และหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดมะเขือเทศ

3.4.2 หาสูตรที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาไปเป็นลักษณะต่างๆ ของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงของมะเขือเทศ

1. เตรียมอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (ภาคผนวก ก) ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 4 ชนิดที่มีความเข้มข้นต่างๆ กันดังตารางในภาคผนวก ค

2. ใช้ชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงของมะเขือเทศที่มีอายุประมาณ 30 วัน มาตัดเป็นท่อนๆ แต่ละท่อนยาว 0.5 เซนติเมตร ถ่ายลงในอาหารที่เตรียมไว้สูตรละ 5 ขวด

3. นำชิ้นส่วนมะเขือเทศไปเพาะเลี้ยงที่ห้องเพาะเลี้ยงที่สภาวะมาตรฐาน เป็นเวลา 40 วัน

4. บันทึกผลการทดลองโดยสังเกตลักษณะการเปลี่ยนไปเป็น

- Friable callus (F)
- Compact callus (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ราก (R)
- ยอด (S)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 หาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกเมล็ดมะเขือเทศ

พืชที่ใช้ในการทดลอง คือ เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาห้วยทราย ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นำมาทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะเขือเทศ เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์ต่อระยะเวลาที่ใช้ในการฟอก(ตารางที่ 4 ภาคผนวก ข) หลังจากฟอกฆ่าเชื้อแล้วนำเมล็ดที่ได้ไปเพาะลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต แล้วสังเกตผลการทดลองทั้งอัตราการงอกและอัตราการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายในระยะเวลา 6 วัน ซึ่งได้ผลการทดลองดังในแสดงดังตารางที่ 2

สูตร	เปอร์เซ็นต์ (%)		ระยะเวลาการงอกเฉลี่ย (วัน)
	การปนเปื้อน	ความอยู่รอด	
A	50	30	6
B	20	70	7
C	10	65	6
D	10	65	6
E	0	75	5
F	5	65	6
G	5	65	5
H	0	60	6
I	0	65	5

ตารางที่ 2 ผลการทดลองการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์กับเวลาที่ใช้ในการฟอกเมล็ดมะเขือเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษาพบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ และเวลาที่ใช้ในการฟอกเมล็ด 15 นาที สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ และมีอัตราการงอกสูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์

4.2 หาสูตรที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาไปเป็นลักษณะต่างๆ ของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศ

เมื่อเพาะต้นอ่อนของต้นมะเขือเทศได้ 30 วัน จึงนำมาตัดส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง เพื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ ดังนี้

2,4-D : BA (ตารางที่ 5 ภาคผนวก ค)

NAA : BA (ตารางที่ 6 ภาคผนวก ค)

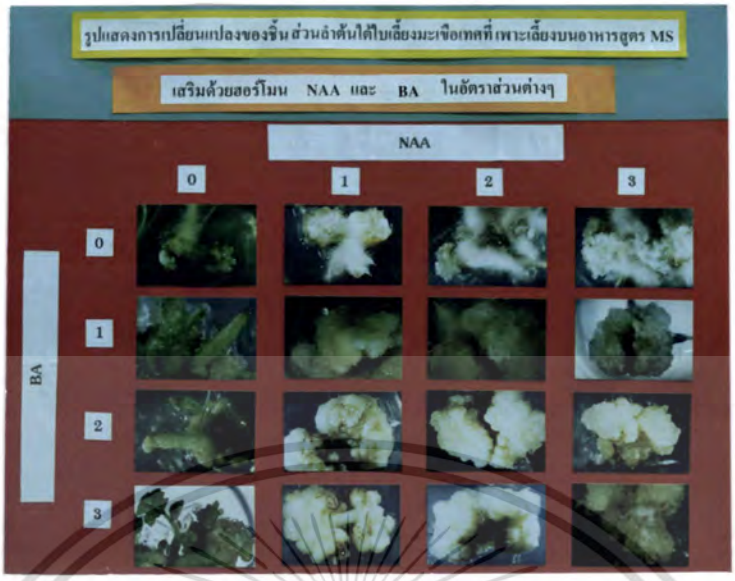
2,4-D : Kinetin (ตารางที่ 7 ภาคผนวก ค)

NAA : Kinetin (ตารางที่ 8 ภาคผนวก ค)

เพื่อศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตดังกล่าว ในการชักนำให้เกิด ยอด ราก และแคลลัสแบบต่างๆ ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 1, 2, 3, 4 ตามลำดับ

รูปที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เสริมด้วยฮอร์โมน 2,4-D และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เสริมด้วยฮอร์โมน NAA และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ

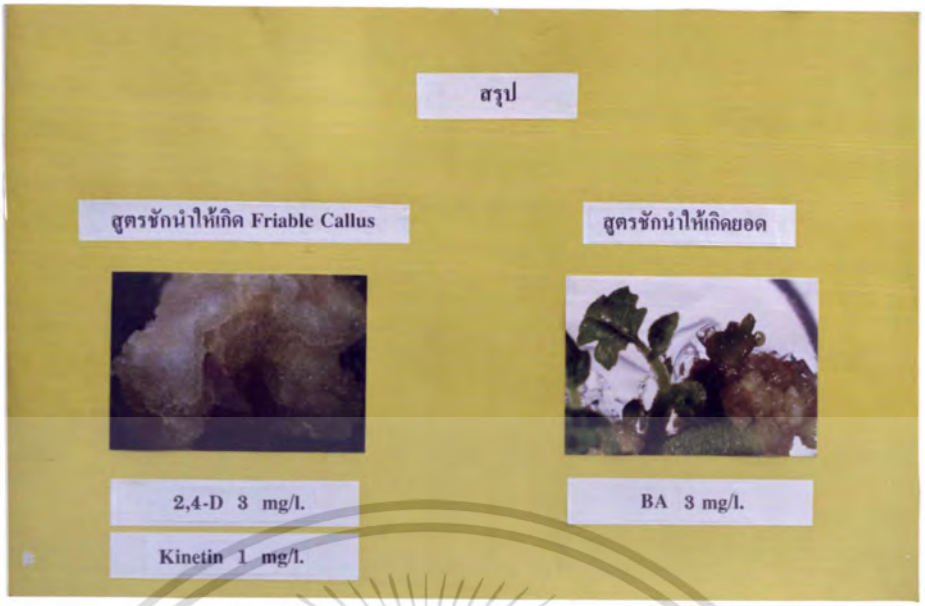
รูปที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เสริมด้วยฮอร์โมน 2,4-D และ Kinetin ในอัตราส่วนต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เสริมด้วยฮอร์โมน NAA และ Kinetin ในอัตราส่วนต่างๆ

จากผลการทดลองพบว่า อาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงไปเป็น Friable callus ได้ และอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมาก ดังแสดงในรูปที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5 แสดงสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิด Friable callus และ การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงมะเขือเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลทดลอง

สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อมะเขือเทศโดยทั่วไปใช้สูตรของ Murashige และ Skoog(1962) ซึ่ง Kurtz(1982) ได้ดัดแปลงโดยใช้วิตามินจากสูตรของ Gamborg's B-5 แทนการใช้วิตามินของสูตร MS เพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนของมะเขือเทศ ส่วน De Langhe และ De Bruijne(1976) ได้เลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนลำต้นอ่อนและใบอ่อนของมะเขือเทศ บนอาหารสูตรของ Linsmier และ Skoog(1965) สำหรับสูตรอาหารที่เหมาะต่อการเลี้ยงรากคือสูตรของ White(1943) (Norton และ Boll, 1954)

การเลี้ยงเนื้อเยื่อให้พัฒนาไปเป็นแคลลัส ยอด และรากได้นั้น ที่สำคัญคือการใช้ชนิดและอัตราส่วนของไซโตไคนินและออกซิน ที่เหมาะสมสำหรับเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิด เช่นการเติม IPA ร่วมกับ IAA ในอัตราส่วนประมาณ 10-20 เท่า (IPA 1.5 x 10^{-5} โมลาร์ และ IAA 10^{-6} โมลาร์) ลงในสูตรอาหารเพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนมะเขือเทศ ทำให้มีการเกิดยอดได้เป็นจำนวนมาก(Ohki และคณะ, 1978) และการเติม IAA ร่วมกับ Kinetin ในอัตราส่วน 1 : 1 (IAA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร, Kinetin 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) ลงในสูตรอาหารเพื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบของมะเขือเทศพบว่าทำให้มีการเกิดยอดได้(Padmanabhan และคณะ,1974) เช่นเดียวกับ Hangater และคณะ(1980) ได้รายงานว่า การใช้ IAA ร่วมด้วยในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อจะกระตุ้นการเกิดแคลลัสและยอดได้ดี และยังมีรายงานว่า จะไม่เกิดการสร้างแคลลัสจากส่วนของใบมะเขือเทศ ถ้าไม่มีการเติม NAA ลงในอาหาร ไม่ว่า BA จะมีความเข้มข้นเท่าใดก็ตาม(Behki และ Lesley, 1976) กล่าวโดยสรุปแล้ว เมื่อเนื้อเยื่อพืชได้รับสารทั้ง 2 กลุ่มนี้ในอัตราส่วนที่สมดุลย์สำหรับชิ้นส่วนแต่ละชนิดแล้วก็จะพัฒนาไปเป็นส่วนต่างๆ ที่ต้องการได้ดี ถ้าความเข้มข้นของออกซินสูง เนื้อเยื่อก็จะเจริญเป็นแคลลัสหรือรากและไปยับยั้งการเกิดยอด แต่ถ้ามีความเข้มข้นของไซโตไคนินสูง เนื้อเยื่อจะถูกชักนำให้เกิดเป็นยอด และการสร้างรากก็จะถูกยับยั้ง (De langhe และ De Bruijne, 1976; Ohki และคณะ,1978)

จากการศึกษาพบว่าสัมพันธ์กับผลการทดลองที่ได้คือสูตรอาหารที่สามารถพัฒนาชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงไปเป็น Friable callus คือสูตรที่เสริม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสูตรที่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมากคือสูตรที่เสริมด้วย BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. ความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ และเวลาที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ 15 นาที สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ และมีอัตราการงอกของเมล็ดมะเขือเทศสูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์

2. สูตรอาหารกึ่งแข็งที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง ไปเป็นยอด คือสูตร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. สูตรอาหารกึ่งแข็งที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง ไปเป็น Friable callus คือสูตร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเซลล์มะเขือเทศที่ได้ทำการทดลองข้างต้นนั้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายประการ แต่ควรที่จะทำการทดลองแปรค่าความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตให้มีความละเอียดกว่าค่าที่ได้ข้างต้น เพื่อจะได้ผลการทดลองที่ดีกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารสูตร MS

stock	สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัม)	ความเข้มข้น (เท่า)	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิลิตร/ลิตร)
1	NH_4NO_3	82,500	50	20
2	KNO_3	95,000	50	20
3	H_3BO_3	1,240	200	5
	KM_2PO_4	34,000	200	
	KI	166	200	
	$Na_2MoO_4.2H_2O$	50	200	
	$CoCl_2.6H_2O$	5	200	
4	$CaCl_2.6H_2O$	88,000	200	5
5	$MgSO_4.7H_2O$	74,000	200	5
	$MnSO_4.4H_2O$	4,460	200	
	$ZnSO_4.7H_2O$	1,720	200	
	$CuSO_4.5H_2O$	5	200	
6	Na_2EDTA	7,450	200	5
	$FeSO_4.7H_2O$	5,570	200	
7	glycine	400	200	5
	nicotinic acid	100	200	
	pyridoxine-HCl	100	200	
	thiamine-HCl	20	200	

ตารางที่ 2 แสดงการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร MS ต่อปริมาตร 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการเตรียมอาหารสูตร MS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

เวลาที่ใช้ฟอกเมล็ด (นาที)	ความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์ (ร้อยละต่อปริมาตร)		
	10	15	20
10	A	B	C
15	D	E	F
20	G	H	I

ตารางที่ 3 แสดงสูตรความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายคลอรอกซ์กับเวลาที่ใช้ในการฟอกเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

แสดงตารางความสัมพันธ์ระหว่างสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซินและไซโตไคนินที่ความเข้มข้นต่างๆ

BA (mg/l)	2,4-D (mg/l)			
	0	1	2	3
0	1	2	3	4
1	5	6	7	8
2	9	10	11	12
3	13	14	15	16

ตารางที่ 4 แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ

BA (mg/l)	NAA (mg/l)			
	0	1	2	3
0	1	17	18	19
1	5	20	21	22
2	9	23	24	25
3	13	26	27	28

ตารางที่ 5 แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ในอัตราส่วนต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

KINETIN (mg/l)	2,4-D (mg/l)			
	0	1	2	3
0	1	2	3	4
1	29	30	31	32
2	33	34	35	36
3	37	38	39	40

ตารางที่ 6 แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ KINETIN ในอัตราส่วนต่างๆ

KINETIN (mg/l)	NAA (mg/l)			
	0	1	2	3
0	1	2	3	4
1	5	41	42	43
2	9	44	45	46
3	13	47	48	49

ตารางที่ 7 แสดงสูตรอาหาร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ KINETIN ในอัตราส่วนต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ธวัช ลวะปรยะ และ คณะ. **มะเขือเทศสีดาห้วยทราย(สีดาพระราชทาน)**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ ฯ

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. **หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. กรุงเทพ ฯ

สิรนุช ลามศรีจันทร์. 2536. **การกลายพันธุ์ของพืช**. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพ ฯ.

Behki R.M. and Lesley S.M. (1976). **In vitro plant regeneration from leaf explants of Lycopersicon esculentum (tomato).** Can. J. Bot. 54, 2409-2414.

De Lenghe E. and De Bruijne E. (1976). **Continueous propagation at tomato plant by means of callus culture**. Tokyo, 471-474.

Hangarter R.P. , Peterson M.D. and Good N.E. (1980). **Biological activities of indolacetylamino acid and their use as auxins in tissue culture**. Plant Physiol. 65, 761-767.

Kurtz S. M. (1982). **In vitro response of *Lycopersicon esculentum* to sodium chloride**. in proc. 5th. Intl. Plant Tissue and Cell culture. Tokyo, 479-480.

Linsmair E. M. and Skoog F. (1965). **Oranganic growth factor requirements of tobacco tissue culture**. Physiol. Plant 18, 100-127.

Murashige T. and Skoog F. (1962). **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture**. Physiol. Plant 15, 473-492.

Norton J.P. and Boll W.G. (1954). **Callus and shoot formation from tomato roots in vitro**. Science 27, 358-367.

Ohki S. , Bigot C. and Mousseau J. (1978). **Analysis of shoot-formation capicity in vitro in two lines of tomato(*Lycopersicon esculentum Mill.*) and their brids**. Plant & Cell Physiol. 19(1), 27-42.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Padmanabhan V., Paddock E .P. and Sharp W.R. (1974). **Plantlet for mation from *Lycopersicon esculentum* left callus**. Can. J. Bot. 52, 1429-1432.

White P. R. (1943). **Further evidence on the significance of glycine, pyridoxine and nicotinic acid in the nutrition of excised tomato root**. Amer. J. Bot. 30, 33-36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้