13979

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

T100497

เรื่อง

การขยายพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Propagation of Seedless Watermelon by Tissue Culture

โดย

นางสาวอาภรณ์ ชูสง

อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

(นายสมภพ ฐิตะวัฒน์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 25 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2527

เลขหมู่ 1000497
เลขทะเบียน
วัน เดือน ปี 18 มิ.ย. 2000
17 พ.ย. 2543
ปพ.
ต683ก
2528

การขยายพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Propagation of Seedless Watermelon by Tissue Culture

บทคัดย่อ

การศึกษาการขยายพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ด 3n โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเริ่มจากการศึกษาเบื้องต้นในแตงโมธรรมดาพบว่าการเพาะเมล็ดและตัดส่วนยอดเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ มีการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปโดยที่ในอาหารสูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l มีการเจริญเติบโตและให้ยอดได้ดีที่สุด และเมื่อศึกษาในแตงโมไม่มีเมล็ด 3n พบว่าจะต้องเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้น 1/4 หรือ 1/2 เท่า ที่เติมน้ำตาลในอัตราปกติจึงจะมีการเจริญเติบโตของยอดดีที่สุดและสามารถเพิ่มจำนวนได้ประมาณ 10 ยอดในอาหารสูตร MS + Kinetin 4 mg/l + IAA 0.5 mg/l ในเวลา 2 เดือน ซึ่งจะได้ยอดที่มีรากพร้อมนำออกปลูกต่อไปหรือสามารถชักนำให้เกิดรากในอาหารสูตร MS + IAA 5 mg/l ได้ในเวลา 5 วัน สำหรับส่วนยอดของต้นก็สามารถนำไปเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสเพื่อที่จะทำให้เกิดเป็นต้นได้อีกทางหนึ่งด้วย

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ ประธานกรรมการ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ อาจารย์กำรง สินไชย ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อเมล็ดพันธุ์แคงโมไม่มีเมล็ดที่นำมาใช้ในการศึกษา และขอขอบคุณน้องๆที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษเรื่องนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี โดยเฉพาะน้องบัญชา ฤกษ์ชำนาญ

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ซึ่งให้กำลังใจและทุนทรัพย์ในการศึกษาเป็นอย่างดียิ่งมาตลอด

อาภรณ์ ชูสง

กุมภาพันธ์ 2528

สารบาญ

หน้า

สารบาญตาราง..... (2)

สารบาญภาพ..... (3)

คำนำ..... 1

การตรวจเอกสาร..... 3

อุปกรณ์และวิธีการ..... 6

ผลและวิจารณ์..... 10

สรุป..... 30

เอกสารอ้างอิง..... 32

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงผลการเพาะเมล็ดแตงโม ในอาหารสูตรต่างๆ.....	10
2	แสดงระดับคะแนนของการเจริญเติบโต ของเมล็ดที่เพาะในอาหารสูตรต่างๆ.....	15
3	แสดงผลจากการตัดส่วนยอดไปเลี้ยง ในอาหารสูตรต่างๆ(อายุ1 เดือน เมื่อ ตัดย้ายครั้งที่ 2).....	24

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เปรียบเทียบลักษณะเมล็ดที่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกของแตงโมธรรมดา 2n (ซ้าย) และแตงโมไม่มีเมล็ด (ขวา)	11
2	ในอาหารสูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l ที่ตัดใบเลี้ยงจะให้ยอดมากกว่าที่ไม่ตัดใบเลี้ยง	12
3	แสดงผลการเพาะเมล็ดแตงโม 2n ในอาหารสูตรต่างๆ	13
4	แสดงระดับคะแนนของการเจริญเติบโต	16
5	แสดงการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเมื่อไม่มีน้ำตาล	17
6	แสดงการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเมื่อเติมน้ำตาล	18
7	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ที่ระดับความเข้มข้น 0 เท่า เมื่อมีน้ำตาลและไม่มีน้ำตาล	19

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
8	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ที่ระดับความเข้มข้น 1/4 เท่า เมื่อมีน้ำตาล และไม่มีน้ำตาล	20
9	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ที่ระดับความเข้มข้น 1/2 เท่า เมื่อมีน้ำตาล และไม่มีน้ำตาล	21
10	แสดงต้นที่ตายจากการแตกหรือหักของลำต้น เนื่องจากอวบน้ำมากเกินไป	22
11	แสดงต้นที่งอกโดยมีส่วนปลายรากชี้ขึ้นข้างบนโดยไม่สัมผัสกับอาหารซึ่งจะตายในที่สุด (ซ้าย) ขวาแสดงต้นปกติ	23
12	แสดงการเจริญเติบโตในอาหารสูตรต่างๆ หลังจากตัดส่วนยอดไปเลี้ยงครั้งที่ 2	27
13	แสดงผลการเลี้ยงส่วนของลำต้นในอาหารสูตรต่างๆ	28
14	แสดงต้นที่มีรากพร้อมย้ายออกปลูก	29

การขยายพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Propagation of Seedless Watermelon by Tissue Culture

คำนำ

แตงโมเป็นผักชนิดหนึ่งซึ่งรับประทานเป็นผลไม้ ในแต่ละผลนั้นมีเมล็ดเป็นจำนวนมาก ทำให้ไม่สะดวกในการรับประทาน ต่างประเทศมีการผลิตแตงโมไม่มีเมล็ดออกจำหน่ายหลายประเทศแล้วเช่น ญี่ปุ่น ไต้หวัน และสหรัฐอเมริกา ในประเทศไทยเคยมีผู้สั่งเมล็ดพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดจากต่างประเทศเข้ามาปลูก แต่เนื่องจากราคาเมล็ดพันธุ์แพงมากและต้องสั่งซื้อเมล็ดพันธุ์เข้ามาปลูกใหม่ทุกครั้ง ประกอบกับพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดที่สั่งเข้ามาปลูกอาจปรับตัวได้ไม่ดีในสภาพของประเทศไทย การสั่งเมล็ดพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ด เข้ามาปลูกในประเทศไทยจึงไม่เป็นที่แพร่หลาย จนกระทั่งปี 2521 อาจารย์คำรง สินไชย ได้ศึกษาค้นการผลิตแตงโมไม่มีเมล็ดและสามารถผลิตแตงโมไม่มีเมล็ดได้สำเร็จ (ขณะศึกษาอยู่ที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ในระดับปริญญาโท) และได้ทำโครงการผลิตเมล็ดพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดออกจำหน่ายที่วิทยาลัยเกษตรกรรมตรัง โดยการผสมพันธุ์ระหว่างต้นแตงโม 4n ให้เป็นต้นแม่ผสมกับต้นแตงโมธรรมดา 2n ที่เป็นต้นพ่อ กสิกรบริเวณใกล้เคียงได้นำเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้ไปปลูกซึ่งได้ผลจนมีการส่งผลแตงโมไม่มีเมล็ดออกไปจำหน่ายที่สิงคโปร์บ้างแล้ว แต่เมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้ไม่เพียงพอกับความต้องการของกสิกร เพราะวิธีการผลิตเมล็ดพันธุ์ยุ่งยากทำได้จำนวนจำกัด

การขยายพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำได้สำเร็จในพืชหลายชนิดและสามารถขยายพันธุ์พืชเหล่านั้นได้จำนวนมากในเวลาอันสั้น มีการนำไปขยายพันธุ์พืชพวกไม้ดอกไม้ประดับในระดับการค้ากันอย่างแพร่หลาย ดังนั้นการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ขยายพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดจะทำให้ได้ต้นจำนวนมาก เมื่อนำสายพันธุ์ที่ทดสอบว่าให้ผลผลิตและคุณภาพดี ทนต่อสภาพแวดล้อมและศัตรูได้ดีมาขยายพันธุ์ จะทำให้การปลูกแตงโมไม่มีเมล็ดแพร่หลายสู่กสิกรได้อย่างทั่วถึง อาจมีการปลูกส่งขายต่างประเทศได้มากขึ้นด้วย

วัตถุประสงค์

ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดให้ได้ต้นจำนวนมาก

การตรวจเอกสาร

แตงโมเป็นพืชที่อยู่ใน Family Cucurbitaceae ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Citrullus vulgaris Schrad ผลแตงโมที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์จะไม่มี pathenocarpy เกิดขึ้นเลย (Rosa,1927) ซึ่งแสดงว่าโดยธรรมชาติแล้วจะไม่มีแตงโมที่ไม่มีเมล็ดเกิดขึ้น จึงได้มีผู้พยายามที่จะสร้างแตงโมไม่มีเมล็ดขึ้นมา

Wong (1939,1941) ใช้สารละลาย NAA (∝- napthalene acetic acid) ที่มีความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซนต์สามารถชักนำให้เกิดแตงโมที่ไม่มีเมล็ดได้ แต่วิธีการนี้ไม่สามารถที่จะนำมาใช้ในทางปฏิบัติได้ เนื่องจากโอกาสติดผลนั้นมีน้อย

Kihara (1951) สามารถชักนำให้แตงโมที่เป็นดิพลอย (diploid, 2n)ให้เป็นเตตราพลอย (tetraploid, 4n) โดยใช้สารคอลชิซีน (colchicine) ในรูปของสารละลายที่มีความเข้มข้น 0.2-0.4 เปอร์เซนต์ หยดที่ยอดของต้นกล้าแตงโมที่เป็นดิพลอย (2n) ในตอนเช้าวันละ 1 หยดเป็นเวลาติดต่อกัน 4 วัน

Torres (1956) อ้างถึงวิธีการชักนำแตงโมที่เป็นดิพลอย (2n) ให้เป็นเตตราพลอย (4n) ที่ใช้กันในประเทศญี่ปุ่น โดยใช้สารคอลชิซีนที่มีความเข้มข้น 2 เปอร์เซนต์ หยดในตอนเช้าและเย็นครั้งละ 1 หยดติดต่อกัน 3 วันที่ยอดของต้นกล้าแตงโมดิพลอยเมื่อมีใบจริง 4 ใบ ส่วนวิธีการที่ใช้กันในสหรัฐอเมริกานั้น ใช้สารคอลชิซีนเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์เป็นเวลา 10 วันติดต่อกัน

Barnes (1979) ได้ทดลองขยายพันธุ์แตงโม 2n พันธุ์ Charleston Gray เพื่อไปประยุกต์ใช้ในการผลิตแตงโมไม่มีเมล็ดเป็นการค้า โดยมีวิธีการทำ 3 ระยะคือ

ระยะที่ 1 กระตุ้นให้เกิดตาข้าง (axillary bud) จากปลายยอด

(1-3mm.) โดยใช้ไซโตไคนินในอัตราสูงต่อออกซินอัตราต่ำ (4.6 μmol/1K, 0.28 μmol/1 IAA) ในอาหารสูตร Linsmaier and skoog (1965) ดัดแปลง จะได้ยอดที่เกิดจากตาข้างเฉลี่ย 4.5 ยอด และจะมีขนาดที่สามารถย้ายไปเลี้ยงในอาหารใหม่ได้ (มากกว่า 15 mm.) เมื่อเลี้ยงไปได้ 5 สัปดาห์ ยอดเหล่านี้จะเกิดรากเมื่อย้ายไปในระยะที่ 2

ระยะที่ 2 เลี้ยงในอาหารที่มี IAA 11.5 μmol ในเวลา 3 สัปดาห์ ย้ายต้นที่เกิดรากดีแล้วไปเพาะในเครื่องปลูกที่มี พีทมอสต่อทราย อัตรา 1:1 โดยปริมาตร

ระยะที่ 3 ย้ายให้มีการปรับตัวได้ในเรือนเพาะชำ ใช้เวลา 3 สัปดาห์ หลังจากนี้สามารถนำไปปลูกในแปลงได้

อย่างไรก็ตามยอดที่ได้จากตาข้างในระยะที่ 1 สามารถนำกลับไปเลี้ยงในอาหารที่มี Kinetin 9.3 μmol และ IAA 0.28 μmol โดยจะได้ยอดใหม่ประมาณ 10.3 ยอดในเวลา 5 สัปดาห์ ค่าใช้จ่ายในการผลิตต้นกล้าในระดับ 10,000 ต้นต่อสัปดาห์ คิดเป็นเงินประมาณต้นละ 0.16 เหรียญสหรัฐ

Andrus และ คณะ (1971) ได้กล่าวถึงปัญหาในการผลิตเมล็ดพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดเพื่อเป็นการค้าว่าวิธีการผลิตยุ่งยาก ลงทุนในการผลิตสูง และได้เมล็ดจำนวนน้อย ในการผสมพันธุ์เพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดต่อผลจะได้เมล็ดเพียง 150-200 เมล็ดเท่านั้น

Yinyi และ คณะ (1984) ได้ทดลองขยายพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ดด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำต้นกล้าที่ปลอดเชื้อซึ่งเลี้ยงอยู่ในอาหารวิทยาศาสตร์ตัดเอาส่วนของยอดไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ พบว่าสามารถเกิดต้นได้จำนวนมาก ซึ่งกสิกรชาวจีนสามารถนำไปปลูกได้สำเร็จ จากการทดลองปี 1980-1981 พบว่าต้นอ่อนที่ปลูกในแปลงมีการเจริญเติบโตดี มีความต้านทานโรคสูงกว่าต้นที่ปลูกด้วยเมล็ด

ซึ่งแนวทางการขยายพันธุ์แคงโมไม่มีเมล็ดโดยวิธีนี้จะเป็นลู่ทางนำไปสู่การพัฒนา
แคงโมไม่มีเมล็ดต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พืชทดลองคือ เมล็ดพันธุ์แตงโมไม่มีเมล็ด สายพันธุ์ Hybrid 4 จากวิทยาลัยเกษตรกรรมครัง

2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

2.1 สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่

Kinetin (6 - furfurylamino purine)

BA (6 - benzylamino purine)

2,4 - D (2,4 - dichlorophenoryacetic acid)

NAA (α - naphthalene acetic acid)

IAA (indole acetic acid)

2.3 น้ำตาลทราย

2.4 น้ำกลั่น

3. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหารได้แก่ เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติงาน ขวดแก้วสำหรับใส่อาหารพร้อมฝาปิด เครื่องชั่งหยาบ เครื่องชั่งละเอียด เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง หม้อนึ่งความดัน

4. สารเคมีที่ใช้ฟอกเยื่อได้แก่ เอทธิลแอลกอฮอล์ คลอรอกซ์ และสารเปียกใบ (Teepol)

5. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนพืชได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ(bioclean) มีดผ่าตัด ปากคีบ ตะเกียงแอลกอฮอล์ จานแก้ว

6. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25-28 °ซ ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 8 ชั่วโมง

7. กล้องถ่ายรูปและอุปกรณ์

<u>วิธีการ</u>

1. ศึกษาเบื้องต้นในแตงโมธรรมดา 2n พันธุ์ Sugar Baby

1.1 เพาะเมล็ด (ที่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก) ในอาหารสูตรต่างๆคือ

สูตร MS

สูตร MS + BA 5 mg/l

สูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l

1.2 ตัดส่วนต่างๆของต้นคือ ยอด ลำต้น ราก และแคลลัสที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l ที่มีอายุ 5 สัปดาห์ ลงเลี้ยงในอาหารสูตร MS , MS + BA 5 mg/l และ MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l

2. ศึกษาในแตงโมไม่มีเมล็ด 3 n พันธุ์ Sugar Baby (สายพันธุ์ Hybrid 4)

2.1 เพาะเมล็ด (ที่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก) ในอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นระดับต่างๆกันในสภาพที่ไม่มีน้ำตาลและมีน้ำตาล 30 gm/l คือ

สูตร 0 MS

สูตร $\frac{1}{4}$ MS

สูตร $\frac{1}{2}$ MS

สูตร 1 MS

2.2 ตัดส่วนต่างๆของต้น คือ ยอด ลำต้น ขนาด 1.5 ซม. และโคนต้นขนาด 0.5 ซม. ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร 1/4 MS + น้ำตาล เมื่ออายุ 1 เดือนไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆคือ

2.2.1 ส่วนยอด

สูตร MS

สูตร MS + BA 1 mg/l

สูตร MS + Kinetin 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l

สูตร MS + Kinetin 4 mg/l + IAA 0.5 mg/l

เมื่อเลี้ยงไปได้ 1 เดือนก็ตัดแบ่งส่วนยอดที่เกิดขึ้นมีขนาด 1.5 ซม. (ตัดครั้งที่ 2) ลงเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม

2.2.2 ส่วนลำต้น

สูตร MS + 2,4 - D 1 mg/l

สูตร MS + 2,4 - D 2 mg/l + Yeast extract

สูตร MS + NAA 2 mg/l

สูตร MS + IAA 2 mg/l

สูตร MS + IAA 5 mg/l

2.2.3 ส่วนโคนต้น

สูตร MS + BA 1 mg/l

สูตร MS + Kinetin 4 mg/l + IAA 0.5 mg/l

3. การชักนำให้เกิดราก

ตัดยอดขนาด 1.5 ซม. ลงเลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 5 mg/l

<u>เวลาและสถานที่ทำการทดลอง</u>

1. เวลา

เริ่มทำการทดลอง เดือนกรกฎาคม 2527

สิ้นสุดการทดลอง เดือนมกราคม 2528

2. สถานที่

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขตเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กทม.

ผลและวิจารณ์ผล

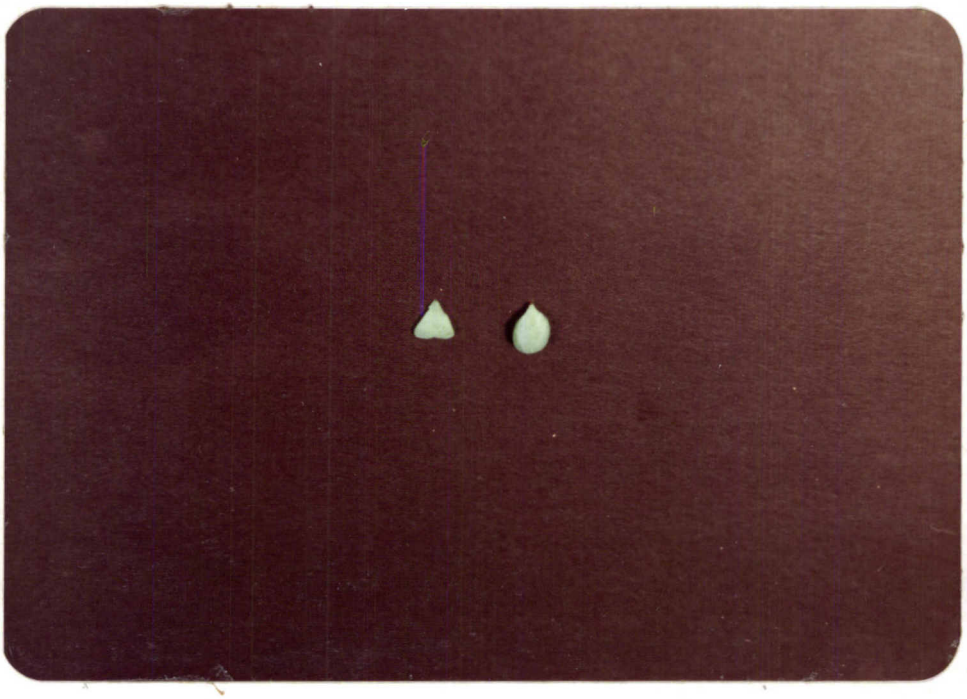
1. จากการศึกษาเบื้องต้นในแคงโมธรรมดา 2 n พันธุ์ Sugar Baby พบว่า

1.1 เมล็ดที่เพาะในอาหารสูตร MS และสูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l มีการเจริญเติบโตเป็นต้นได้ ซึ่งในอาหารสูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l จะให้ยอดได้มากกว่า โดยเฉพาะเมื่อตัดใบเลี้ยง (ภาพที่ 2) สำหรับในอาหารสูตร MS + BA 5 mg/l จะมีการพัฒนาเป็นแคลลัสเท่านั้น ดังแสดงในตารางที่ 1 และ ภาพที่ 3 แม้ว่า BA จะเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของ Cytokinin ที่กระตุ้นให้เกิดยอด แต่อัตราความเข้มข้น 5 mg/l เป็นอัตราส่วนที่มากเกินไปสำหรับการกระตุ้นให้เกิดยอดในแคงโม อัตราส่วนนี้จะมีผลในการเพิ่มการแบ่งเซลล์ให้เป็นแคลลัส

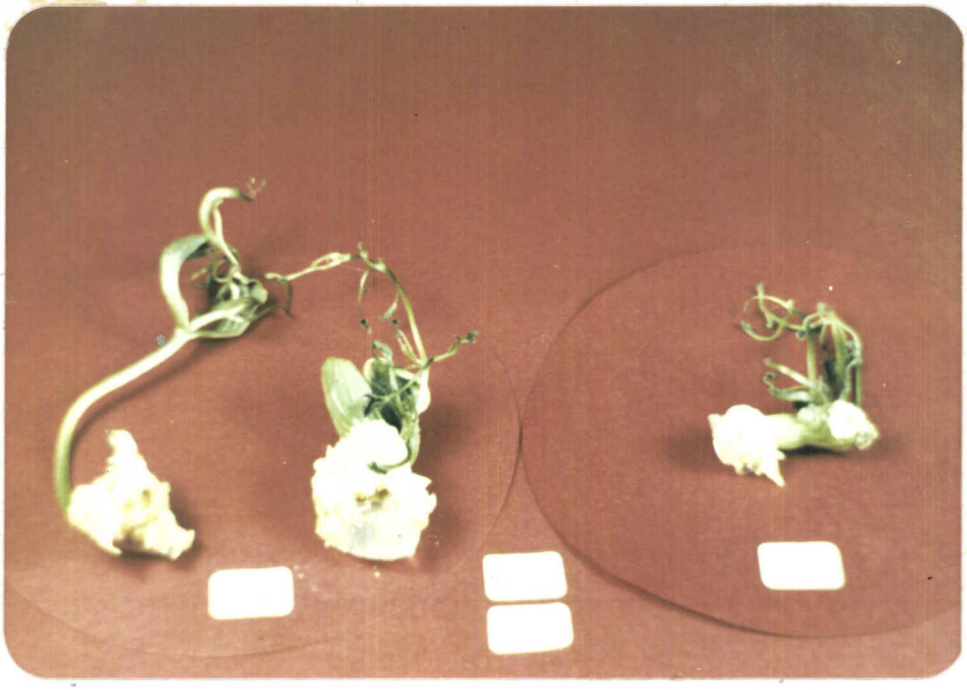
ตารางที่ 1 แสดงผลการเพาะเมล็ดแคงโม 2 ในอาหารสูตรต่างๆ

สูตรอาหารที่ใช้	ผลที่ได้รับเมื่ออายุ 6 สัปดาห์
MS	ให้ยอดที่สมบูรณ์เพียง 1-2 ยอด
MS + BA 5 mg/l	พัฒนาเป็นแคลลัสจำนวนมาก
MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l	ให้ยอดมากที่สุด และพบว่าในพวกที่ตัดใบเลี้ยง ยอดจะมากกว่า

1.2 ผลจากการเลี้ยงส่วนต่างๆของต้นที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุได้ 6 สัปดาห์ ผลปรากฏดังนี้



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบลักษณะเมล็ดที่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกของแตงโมธรรมดา 2n (ซ้าย) และแตงโมไม่มีเมล็ด (ขวา)



ภาพที่ 2 ในอาหารสูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l ที่ตัดใบเลี้ยงจะให้ยอดมากกว่าที่ไม่ตัดใบเลี้ยง

ภาพที่ 3 แสดงผลการเพาะเมล็ดแตงโม 2n ในอาหารสูตรต่าง ๆ

ในอาหารสูตรMS

ส่วนของยอดจะเจริญเป็นยอดและแคลลัส ส่วนของลำต้น และราก จะพัฒนาเป็นแคลลัส ส่วนแคลลัสก็ยังคงเจริญเป็นแคลลัสเช่นเดิมเพียงแต่เพิ่มปริมาณขึ้นเท่านั้น

ในอาหารสูตร MS + BA 5 mg/l

พบว่าทุกๆส่วนของลำต้นที่นำมาเลี้ยงในอาหารสูตรนี้จะเจริญเป็นแคลลัสทั้งหมด

ในอาหารสูตรMS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l

ให้ผลเช่นเดียวกับในอาหารสูตร MS เพียงแต่ว่าจำนวนยอดที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงส่วนของยอดมีมากกว่าในอาหารสูตร MS

ผลจากการศึกษาเบื้องต้นในแคลโม 2 ฉบับนี้จะเป็นแนวทางที่จะนำไปใช้ทดลองกับแคลโมไม่มีเมล็ด 3n คือ Kinetin เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ให้ผลดีในการเพิ่มจำนวนยอด ส่วน BA ที่ความเข้มข้น 5 mg/l เป็นอัตราที่มากเกินไปสำหรับการเพิ่มจำนวนยอด

2. ผลการศึกษาในแคลโมไม่มีเมล็ด 3n พันธุ์ Sugar Baby (สายพันธุ์ Hybrid 4)

2.1 ผลของการเพาะเมล็ดในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุ 10 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตดังนี้ (ภาพที่ 4)

0 คะแนนหมายถึง เมล็ดไม่งอก

1 คะแนนหมายถึง เมล็ดเริ่มงอก - 2 ซม.

2 คะแนนหมายถึง มากกว่า 2 ซม. - 3 ซม.

3 คะแนนหมายถึง มากกว่า 3 ซม. – 4 ซม.

4 คะแนนหมายถึง มากกว่า 4 ซม. – 5 ซม.

5 คะแนนหมายถึง มากกว่า 5 ซม.

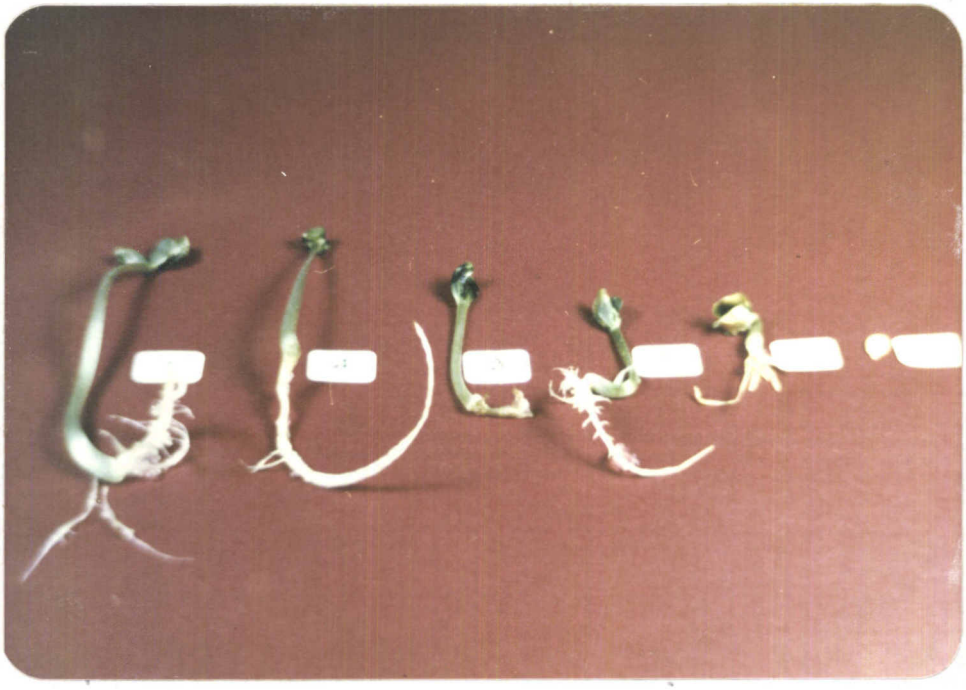
ซึ่งผลของการทดลองปรากฏในตารางที่ 2 กับภาพที่ 5 และ 6

ตารางที่ 2 แสดงระดับคะแนนของการเจริญเติบโตของเมล็ดที่เพาะในอาหารสูตรต่างๆ

ความเข้มข้นเป็นเท่าในอาหารสูตร MS	ระดับคะแนนการเจริญเติบโต	
	ไม่มีน้ำตาล	มีน้ำตาล
0 MS (ภาพที่ 7)	1.6	1.4
1/4 MS (ภาพที่ 8)	2.0	3.7
1/2 MS (ภาพที่ 9)	2.1	3.7
1 MS	ไม่มีการทดลอง	เมล็ดที่งอกส่วนใหญ่จะพัฒนาเป็นแคลลัส

และเมื่อเลี้ยงต่อไปจนถึง 1 เดือน พบว่าการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ทุกระดับความเข้มข้นที่เติมน้ำตาลจะดีกว่า ส่วนอาหารที่ไม่เติมน้ำตาล ต้นจะเริ่มเป็นสีคล้ำและตายในที่สุด คาดว่าในอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลนี้จะทำให้พืชไม่มีแหล่งพลังงานเพียงพอสำหรับการดำรงชีวิต

ในการเลี้ยงนี้จะพบต้นที่ตายจากการแตกหรือหักงองลำต้นเนื่องจากการอวบน้ำมากเกินไป ดังแสดงในภาพที่ 10 และต้นที่งอกโดยมีส่วนปลายรากชี้ขึ้นข้างบนโดยไม่สัมผัสกับอาหาร ต้นเหล่านี้จะตายในที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 11



ภาพที่ 4 แสดงระดับคะแนนของการเจริญเติบโต

0 คะแนน หมายถึง เมล็ดไม่งอก

1 คะแนน หมายถึง เมล็ดเริ่มงอก – 2 ซ.ม.

2 คะแนน หมายถึง มากกว่า 2 ซ.ม. – 3 ซ.ม.

3 คะแนน หมายถึง มากกว่า 3 ซ.ม. – 4 ซ.ม.

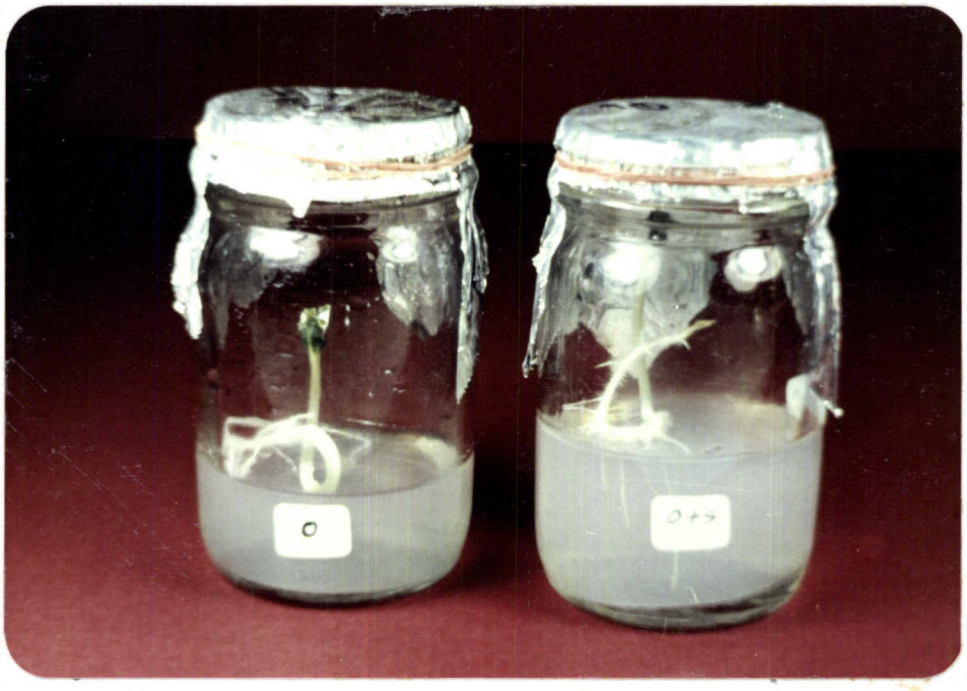
4 คะแนน หมายถึง มากกว่า 4 ซ.ม. – 5 ซ.ม.

5 คะแนน หมายถึง มากกว่า 5 ซ.ม.

ภาพที่ 5 แสดงการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อไม่มีน้ำตาล

100497

ภาพที่ 6 แสดงการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเติมน้ำตาล



ภาพที่ 7 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS
ที่ระดับความเข้มข้น 0 เท่า เมื่อมีน้ำตาลและไม่มีน้ำตาล

ภาพที่ 8 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS
ที่ระดับความเข้มข้น 1/4 เท่า เมื่อมีน้ำตาลและไม่มีน้ำตาล

13373

ภาพที่ 1 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS
ที่ระดับความเข้มข้น 1/2 เท่า เมื่อมีน้ำตาลและไม่มีน้ำตาล

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

ภาพที่ 10 แสดงต้นที่ตายจากการแตกหรือหักของลำต้นเนื่องจากการอวบน้ำมากเกินไป

ภาพที่ 11 แสดงต้นที่งอกโดยมีส่วนปลายรากชี้ขึ้นข้างบนโดยไม่สัมผัสกับอาหาร ซึ่งจะตายในที่สุด (ซ้าย) ขวาแสดงต้นปกติ

2.2 สำหรับส่วนต่างๆของต้นที่คัดไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆนั้น ผลมีดังนี้คือ

2.2.1 ส่วนยอด

ผลจากการคัดครั้งแรกเมื่ออายุ 1 เดือน สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ แต่ไม่ได้บันทึกผลการทดลองไว้

เมื่อคัดครั้งที่ 2 อายุ 1 เดือน ผลแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 12

ตารางที่ 3 แสดงผลจากการคัดส่วนยอดไปเลี้ยงในสูตรต่างๆ (อายุ 1 เดือน เมื่อคัดอายครั้งที่ 2)

สูตรอาหาร	จำนวนยอดเฉลี่ย
MS	2.2
MS + BA 1 mg/l	เกิดยอดฝอยๆจำนวนมาก
MS + Kinetin 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l	2.8
MS + Kinetin 4 mg/l + IAA 0.5 mg/l	4.1

2.2.2 ส่วนลำต้น

ผลจากการเลี้ยงส่วนของลำต้นในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุได้ 5 สัปดาห์ มีดังนี้ (ภาพที่ 13)

อาหารสูตร MS + 2,4 - D 1mg/l พบว่าส่วนของลำต้นมีการพัฒนาเป็นแคลลัสสีน้ำตาลอ่อนไปจนถึงสีน้ำตาลเข้มและส่วนมากจะเกิด

รากที่บริเวณรอยตัดของลำต้น (ซึ่งเป็นอิทธิพลของ auxin) พบตั้งแต่เกิดแคลลัสอย่างเดียวจนถึงเกิดแคลลัสรวมกับรากอย่างมากมาย

อาหารสูตร MS + 2,4 - D 2 mg/l + Yeast extract พบว่าลำต้นฟองเล็กน้อยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทุกชวดที่เลี้ยงในอาหารสูตรนี้

อาหารสูตร MS + NAA 2 mg/l พบว่าส่วนของลำต้นพองขึ้นเล็กน้อยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มม. จนถึงขนาดพองให้แคลลัสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม.

อาหารสูตร MS + IAA 2 mg/l พบว่าลำต้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนเท่านั้นไม่มีการพัฒนาต่อไป

อาหารสูตร MS + IAA 5 mg/l พบว่าส่วนของลำต้นจะพองขยายตัวออกมีสีเขียว โดยลำต้นที่พองออกนั้นอาจเจริญเป็นกลุ่มของแคลลัสสีเขียว หรือเป็นส่วนลำต้นที่พองตัวออกอย่างหลวมๆและพบที่แผ่ออกตามยาว โดยจะเกิดรากในทุกชวดที่เลี้ยงด้วย

2.2.3 ส่วนโคนต้น

สำหรับส่วนของโคนต้นที่ตัดมาเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆเมื่ออายุได้ 5 สัปดาห์พบว่า

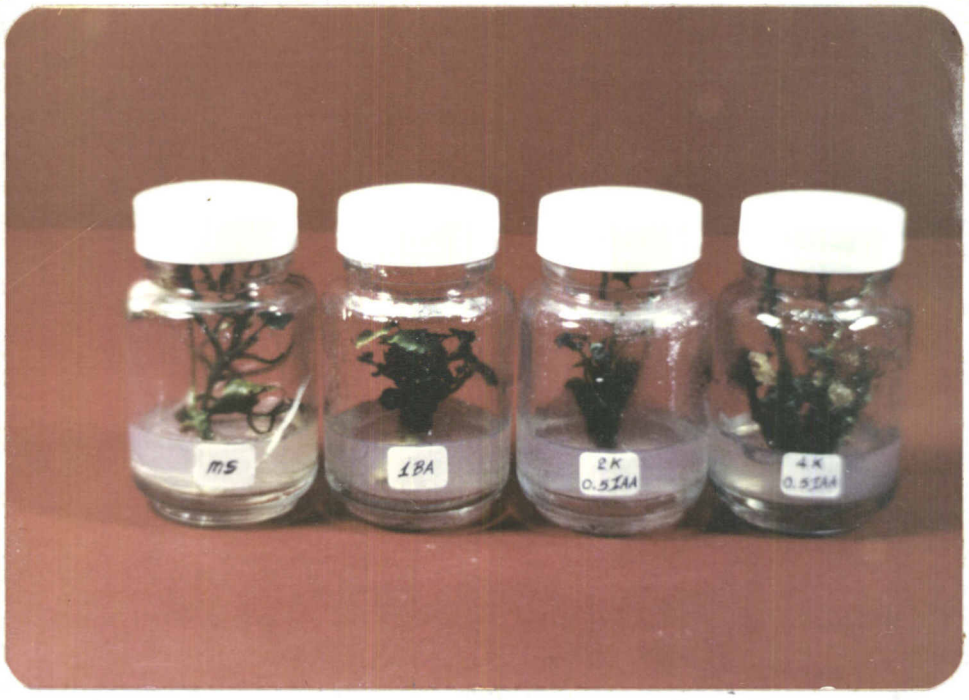
ในอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l ลำต้นจะพองโตขึ้นมีสีเขียว ส่วนรากที่สัมผัสอยู่บนผิวอาหารจะพัฒนาเป็นแคลลัสที่มีสีเขียว ที่ปลายราก

ในอาหารสูตร MS + Kinetin 4 mg/l + IAA 0.5 mg/l ลำต้นจะพองโตขึ้นมีสีเขียวและเกิดก้อนแคลลัสสีเขียวขึ้นมาจากส่วน

โหนดันที่สัมผัสกับอาหาร ส่วนรากก็มีการเจริญเติบขนาดขึ้นตามปกติ

จากการตัดส่วนของลำต้นและโหนดันไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ พบว่าการตัดส่วนของลำต้นไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 5 mg/l กับในอาหารสูตร MS + 2,4-D 1mg/l จะเกิดแคลลัสได้ดีตามลำดับ ซึ่งเป็นแนวทางที่จะนำไปเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นต่อไป โดยเฉพาะในอาหารสูตร MS + IAA 5 mg/l น่าจะเหมาะสมที่สุดเพราะแคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีเขียว การพัฒนาให้เป็นต้นจะง่ายกว่าแคลลัสที่มีสีน้ำตาลอ่อนที่เกิดในอาหารสูตร MS + 2,4-D 1 mg/l สำหรับส่วนโหนดันก็สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสแต่จากการทดลองนี้จำนวนสูตรอาหารที่ใช้ทดลองยังไม่มากพอเพราะแคลลัสที่เกิดจากอาหารที่ใช้ทดลองทั้ง 2 สูตรมีจำนวนเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

การชักนำให้เกิดรากพบว่าเมื่อเลี้ยงส่วนของยอดในอาหารสูตร MS, MS + Kinetin 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l และ MS + Kinetin 4 mg/l + IAA 0.5 mg/l จะเกิดรากเมื่อเลี้ยงไปได้ตั้งแต่ 2 อาทิตย์ขึ้นไปโดยพบว่าในอาหารสูตร MS การเกิดรากจะเร็วกว่าและมากกว่าในอาหารสูตรอื่นๆ แต่การเกิดรากโดยวิธีนี้จะเกิดเพียงบางยอดเท่านั้นสำหรับยอดที่ไม่เกิดรากเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 5 mg/l จะเกิดรากได้ภายใน 5 วัน และเมื่อได้รากที่สมบูรณ์ดีแล้วก็สามารถนำออกเพื่อย้ายปลูกต่อไปดังแสดงในภาพที่ 14



ภาพที่ 12 แสดงการเจริญเติบโตในอาหารสูตรต่าง ๆ หลังจากตัดส่วนยอดไปเลี้ยงครั้งที่ 2

ภาพที่ 13 แสดงผลการเลี้ยงส่วนของลำต้นในอาหารสูตรต่าง ๆ

ภาพที่ 14 แสดงต้นที่มีรากพร้อมย้ายออกปลูก

สรุป

จากการศึกษาเบื้องต้นในแตงโมธรรมดา 2n พันธุ์ Sugar Baby ปรากฏว่าการเพาะเมล็ดในอาหารสูตรต่าง ๆ คือ สูตร MS สูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l และสูตร MS + BA 5 mg/l ปรากฏว่าเมล็ดมีการเจริญเติบโตต่างกันโดยสามารถเจริญให้ยอดที่สมบูรณ์ในขนาดที่จะตัดไปเลี้ยงต่อไปได้ทั้งในอาหารสูตร MS และสูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5mg/l แต่ในอาหารสูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5 mg/l จะให้ยอดได้มากกว่า ส่วนในอาหารสูตร MS + BA 5 mg/l เมล็ดจะมีการพัฒนาเป็นแคลลัสเป็นอย่างเดียว และเมื่อตัดส่วนต่าง ๆ ของต้นไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมส่วนของยอดที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + Kinetin 1 mg/l + IAA 0.5mg/l จะเจริญให้ยอดได้มากกว่าในอาหารสูตร MS สำหรับส่วนอื่น ๆ คือส่วนของลำต้นและรากจะมีการพัฒนาเป็นแคลลัสในอาหารทุกสูตร

ส่วนผลการศึกษาในแตงโมไม่มีเมล็ด 3n พบว่าควรเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้น 1/4 เท่าหรือ 1/2 เท่าที่เติมน้ำตาลในอัตราปกติ (30 gm/l) ซึ่งจะมีการเจริญเติบโตดีกว่าและให้ยอดได้มากกว่า สำหรับการเพิ่มจำนวนยอดพบว่าสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ในอาหารทุกสูตรที่ใช้ทดลองโดยในอาหารสูตร MS + Kinetin 4 mg/l + IAA 0.5 mg/l จะเกิดยอดได้มากที่สุด และสามารถเพิ่มจำนวนได้ประมาณ 10 ยอดในเวลา 2 เดือน ซึ่งบางยอดมีการเพิ่มจำนวนยอดและเกิดรากพร้อมที่จะนำออกปลูกต่อไป ส่วนยอดที่ไม่เกิดรากก็สามารถชักนำให้เกิดรากได้โดยย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 5 mg/l ซึ่งจะเริ่มเกิดรากในระยะเวลา 5 วัน สำหรับส่วนอื่น ๆ ของลำต้นที่ตัดไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ปรากฏว่ามีการพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีต่าง ๆ กัน คือส่วนของลำต้นที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 2 mg/l และ MS + 2,4-D 2 mg/l + Yeast extract 1 mg/l พบว่ามีการพัฒนาน้อยมาก ส่วนในอาหารสูตร MS + IAA 2 mg/l จะมีการ

พัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีปานกลาง สำหรับในอาหารสูตร MS + 2,4-D 1 mg/l และ MS + IAA 5 mg/l จะมีการพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีมากขึ้นตามลำดับ ซึ่งเหมาะสำหรับนำไปเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นต่อไป ในส่วนของโคนต้นก็สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เช่นกัน ทั้งในอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l และสูตร MS + Kinetin 4 mg/l + IAA 0.5 mg/l

เอกสารอ้างอิง

1. Andrus, C.F., V.S. Seshandri and P.C. Grimball. 1971. Production of Seedless watermelons. U.S.D.A. Tech. Bull. 1425. (Cited by Barnes, 1979)

2. Barnes, L.R., 1979. In vitro propagation of watermelon. Scienti. Hortic. 11 : 223-227.

3. Kihara, H. 1951. Triploid watermelon. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 58 : 217-230.

4. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15 : 473-497.

5. Rosa, J.T. 1927. Results of inbreeding melon. Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 24 : 79-84.

6. Torres, J.P. 1956. The seedless watermelon has come to stay in the Phillippines. Araneta J. Agric. 3 : 48-50.

7. Wong, C.Y. 1939. Induced parthenocarpy of watermelon, cucumber and pepper. Sci. 89 : 417-418.

8. _____.1941. Chemically induced parthenocarpy in certain horticultural plants with special reference to the watermelon. Bot. Gaz. 103 : 64-86.

9. Yinyi, G., L. Xiangyeng and Y. Chunyun. 1984.
Study on the clonal propagation of seedless watermelon. Abstr. International Symposium on Genetic Manipulation in Crops. 3 rd International Symposium on Haploidy. 1 st International Symposium on Somatic Cell Genetics in Crops. Beijing, Chaina. p. 107.