การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในพืชสกุลส้ม

IN VITRO PROPAGATION OF *Citrus* spp.

วรรณสอน อัญชัญภาติ
สุกัญญา เขตเมืองปัก
อรจิตรา ปรางงาม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในพืชสกุลส้ม

IN VITRO PROPAGATION OF *Citrus* spp.

วรรณสอน อัญชัญภาติ
สุกัญญา เขตเมืองปัก
อรจิตรา ปรางงาม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

IN VITRO PROPAGATION OF *Citrus* spp.

WANNASORN ANCHANPATI
SUKANYA KETMUANGPAK
ONCHITRA PRANG-NGAM

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIRMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCINECE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในพืชสกุลส้ม *IN VITRO* PROPAGATION OF *Citrus* spp.		
นักศึกษา	นางสาววรรณสอน	อัญชัญภาติ	รหัสนักศึกษา 56050902
	นางสาวสุกัญญา	เขตเมืองปัก	รหัสนักศึกษา 56050931
	นางสาวอรจิตรา	ปรางงาม	รหัสนักศึกษา 56050947
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม		
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.วิมลมาศ บุญมี		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ดร.วิมลมาศ บุญมี กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	
ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในพืชสกุลส้ม *IN VITRO* PROPAGATION OF *Citrus* spp.			
นักศึกษา	นางสาววรรณสอน	อัญชัญภาติ	รหัสนักศึกษา	56050902
	นางสาวสุกัญญา	เขตเมืองปัก	รหัสนักศึกษา	56050931
	นางสาวอรจิตรา	ปรางงาม	รหัสนักศึกษา	56050947
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)			
ภาควิชา	ชีววิทยา			
คณะ	วิทยาศาสตร์			
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)			
ปีการศึกษา	2559			
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม			
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.วิมลมาศ บุญมี			

บทคัดย่อ

ศึกษาเวลาที่เหมาะสมต่อการฟอกฆ่าเชื้อ และอิทธิพลของสารควบคุมเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเกิดแคลลัสและยอดของมะนาวนิ้วมือ พันธุ์ crimson tide มะนาวแป้นแม่ลูกดก มะนาวแป้นสุขประเสริฐ และมะนาวตาฮิติ โดยการนำชิ้นส่วนใบและข้อมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อที่เติม mercuric (II) chloride ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นเวลา 30 นาที ก่อนจะนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมเจริญเติบโต 2,4-D BA TDZ และ *m*T ที่ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำใบให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุดในมะนาวนิ้วมือ พันธุ์ crimson tide และมะนาวแป้นสุขประเสริฐ ส่วนมะนาวแป้นแม่ลูกดก ที่ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสสูงที่สุด ส่วนมะนาวตาฮิติ มีการเกิดแคลลัสสูงสุดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการชักนำข้อให้เกิดยอด พบว่า อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มะนาวแม่ลูกดก มะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide มะนาวตาฮิติ เกิดยอดได้สูงสุด ตามลำดับ เมื่อเทียบกับ *m*T และ TDZ ส่วนมะนาวแป้นสุขประเสริฐที่เพาะเลี้ยงโดยใช้ *m*T ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำข้อให้เกิดยอดได้สูงที่สุด ที่ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

คำสำคัญ : มะนาวนิ้วมือ มะนาวแป้น มะนาวตาฮิติ การชักนำให้เกิดแคลลัส การชักนำให้เกิดยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	*IN VITRO* PROPAGATION OF *Citrus* spp.
Students	Miss Wannasorn Anchanpati Student ID 56050902
	Miss Sukanya Ketmuangpak Student ID 56050931
	Miss Onchitra Prang-ngam Student ID 56050947
Degree	Bachelor of Science
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2016
Advisor	Asst. Prof. Dr. Anurug Poeaim
Co-advisor	Dr.Wimonmat Boonmee

Abstract

Study the optimum conditions for sterilized and the influence of growth regulator on tissue culture that affect the growth of callus and shoots of Finger Lime (*Citrus australasica*), Maelookdok Key Lime (*Citrus aurantifolia*), Sukprasert Key Lime (*Citrus aurantifolia*) and Tahiti Key Lime (Citrus aurantifolia) , streillization with sterile distilled water containing mercuric (II) chloride 0.1 percent for 30 minutes, then being cultured on Murashige and Skoog (MS) medium containing with 2,4-D, BA, TDZ and *m*T at concentrations of 0, 0.5, 1, 2, 3 and 5 mg/l. For callus introduction was obtain medium containing 0. 5 mg/l 2,4-D Can be induced to form callus on the Finger Lime Sukprasert Key Lime. For maelookdok Key Lime was obtain medium containing 2 and 3 mg/l 2,4-D With the highest callus. The Tahiti Key Lime the highest callus was obtain medium containing 1 mg/l 2,4-D. For shoot induction was obtain medium containing 0.5, 2 and 3 mg/l. BA can induce Maelookdok Key Lime, Finger Lime, Tahiti Key Lime achieve with the highness shoot compared with TDZ and *m*T and Sukprasert Key Lime was obtained medium containing of 1 mg/l. *m*T. All results were obtained after 8 weeks of culture

Keyword: *Citrus australasica, Citrus aurantifolia*, callus induction, shoot induction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความช่วยเหลือจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่ได้แนะนำและให้ความรู้ต่าง ๆ อีกทั้งข้อเสนอแนะในการทำโครงงานวิจัยนี้ ช่วยตรวจสอบและปรับปรุงข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นในขณะทำการทดลอง ตลอดจนให้การสนับสนุนในการทำงานวิจัยด้วย

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานสอบโครงงานพิเศษและ ดร.วิมลมาศ บุญมี กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้เสียสละเวลาในการตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ของโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ และสารเคมีต่าง ๆ ในการทดลองโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา เพื่อน พี่ และน้องของคณะผู้จัดทำที่ได้เป็นกำลังใจในการทำงานวิจัยฉบับนี้ และส่งเสริมการศึกษาของคณะผู้จัดมาโดยตลอด

คณะผู้จัดทำหวังว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจในการศึกษาเกี่ยวกับงานวิจัยทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หากมีข้อผิดพลาดประการใด คณะผู้จัดทำขออภัย ณ ที่นี้ด้วย

วรรณสอน อัญชัญภาติ
สุกัญญา เขตเมืองปัก
อรจิตรา ปรางงาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูป ..... ช
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 2
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 พืชสกุลส้ม 3
2.1.1 กลุ่มออเรนซ์ (orange) 3
2.1.2 กลุ่มแมนดาริน (The Mandarins) 4
2.1.3 กลุ่มส้มโอและเกรฟฟรุต (pumelo and grapefruits) 4
2.1.4 กลุ่มที่ส้มที่มีรสเปรี้ยวจัด (The Common Acid Members) 4
2.2 พืชสกุลส้มที่นำมาใช้ในการศึกษา 5
2.2.1 มะนาวแป้น 5
2.2.2 มะนาวนิ้วมือ 6
2.2.3 มะนาวตาฮิติ 8
2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 9
2.3.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ 9
2.3.2 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 10
2.3.3 การทำความสะอาดชิ้นส่วนพืช 11
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 11
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน 13
3.1 พืชที่ใช้ในการศึกษา 13
3.2 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 13
3.3 สารเคมี 13
3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ 13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

3.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน 14
3.5.1 การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 14
3.5.2 การศึกษาสภาวะการฟอกที่เหมาะสมสำหรับฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบแลข้อ .. 14
3.5.3 การศึกษาสารควบคุมการเจริญที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส 14
3.5.4 การศึกษาสารควบคุมการเจริญที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอด 14
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 15
4.1 ผลของการศึกษาเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสม 15
4.1.1 ผลของการศึกษาเวลาการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบ และข้อ 15
4.2 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิด แคลลัสจากชิ้นส่วนของใบ 16
4.2.1 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวนิ้วมือ พันธุ์crimson tide 16
4.2.2 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวแป้นแม่ลูกดก 18
4.2.3 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ 20
4.2.4 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะต่อการชักนำให้เกิด แคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวตาฮิติ 22
4.3 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิด ยอดจากชิ้นส่วนข้อ 24
4.3.1 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide 24
4.3.2 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ เกิดยอดจากชิ้นส่วนของข้อมะนาวแป้นแม่ลูกดก 28
4.3.3 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ เกิดยอดจากชิ้นส่วนของข้อมะนาวแป้นสุขประเสริฐ 32
4.3.4 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ เกิดยอดจากชิ้นส่วนของข้อมะนาวตาฮิติ 36
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 40
5.1 สรุปผลการวิจัย 40
5.2 ข้อเสนอแนะ 40
เอกสารอ้างอิง 41
ภาคผนวก 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 แสดงร้อยละการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนใบและข้อโดยเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการฟอกด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ระหว่างเวลา 15 และ 30 นาที เป็นเวลา 2 สัปดาห์..... 15

4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวนิ้วมือ พันธุ์ crimson tide ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์..... 16

4.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวแป้นแม่ลูกดกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์..... 18

4.4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวแป้นสุขประเสริฐที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์..... 20

4.5 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวตาฮิติ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 22

4.6 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวนิ้วมือ พันธุ์ crimson tideที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์..... 25

4.7 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวแม่ลูกดก ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์..... 29

4.8 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวแป้นสุขประเสริฐที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์..... 33

4.9 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวตาฮิติ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์..... 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงรูปผล ใบ และดอกของมะนาวแป้นแม่ลูกดก	5
2.2 แสดงรูปลำต้นและใบของต้นมะนาวนิ้วมือ	6
2.3 แสดงรูปผล เมล็ด และดอกของมะนาวนิ้วมือ	7
2.4 แสดงรูปต้น ผล และดอกของมะนาวตาฮิติ	8
4.1 (ก-ฉ) แสดงการเจริญของแคลลัสของมะนาวนิ้วมือ พันธุ์crimson tideบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ตามลำดับ	17
4.2 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดแคลลัสของมะนาวนิ้วมือ พันธุ์ crimson tide ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ตามลำดับ	17
4.3 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดแคลลัสของมะนาวแป้นแม่ลูกดกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ตามลำดับ	19
4.4 (ก-ฉ) แสดงการเจริญของแคลลัสของมะนาวแป้นแม่ลูกดกบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ	19
4.5 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดแคลลัสของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ตามลำดับ	21
4.6 (ก-ฉ) แสดงการเจริญของแคลลัสของมะนาวแป้นสุขประเสริฐบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ตามลำดับ	21
4.7 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดแคลลัสของมะนาวตาฮิติที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ	23
4.8 (ก- ฉ) แสดงการเจริญของแคลลัสของมะนาวตาฮิติบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

4.9 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นมะนาวนิ้วมือ พันธุ์crimson tide ที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA TDZ และ *m*T เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ..... 26

4.10 แสดงลักษณะการเจริญเป็นยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวนิ้วมือ พันธุ์ crimson tide บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MSที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ..... 27

4.11 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวแป้นแม่ลูกดก ที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA TDZ และ *m*T เป็นเวลา 8 สัปดาห์ตามลำดับ..... 30

4.12แสดงลักษณะการเจริญเป็นยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวแป้นแม่ลูกดก บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตรMS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ..... 31

4.13กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ ที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA TDZ และ *m*T เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ..... 34

4.14แสดงลักษณะการเจริญเป็นยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตรMS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ..... 35

4.15กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นมะนาวตาฮิติ ที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตรMS ที่เติม BA และ TDZ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ..... 38

4.16แสดงลักษณะการเจริญเป็นยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวตาฮิติ บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตรMS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ..... 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
MS	Murashige and skoog (1962)
ATCP	4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid
2,4-D	2, 4 dichlorophenoxy acetic acid
2,4,5-T	2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid
4-CPA	4-chlorophenoxyacetic acid
BA	Benzyladenine
Dicamba	4-methoxy-3,6-dichlorobenzoic acid
MCPA	2-methyl-4-chlorophenoxyacetic
*m*T	*Meta*-topolin
NAA	1-naphthaleneacetic acid
TDZ	N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-yl urea

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

พืชตะกูลส้มเป็นพืชที่มีการเติบโตทางการค้าสูง เจริญได้ในเขตร้อนชื้น พืชตระกูลนี้ใช้ในการประกอบอาหาร ทำลูกกวาด และทำเป็นสารให้ความหวาน ซึ่งส่วนมากมักเป็นอาหารหวาน จากสภาวะเครียดในการเพาะปลูกรวมถึงดินที่เป็นกรดหรือเป็นด่าง ดินแล้ง อุณหภูมิสูง และแมลง จะก่อให้เกิดโรคพืชบางชนิด เช่น Hunglongbing (HLB) และ Citrus canker (ซิตรัส แคงเกอร์) ซึ่งจะแพร่ไปยังพื้นที่การเพาะปลูกพืชในตระกูลส้มไปทั่วโลก HLB เป็นปัญหาอย่างมากถึงระดับอุตสาหกรรมในสหรัฐอเมริกา จีน และหลายประเทศ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยใช้เทคนิคพันธุวิศวกรรมเป็นเครื่องมือสำคัญที่ช่วยควบคุมโรค HLB ได้

มะนาว (lime) เป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ซึ่งตลาดมีความต้องการสูงตลอดปี เพราะแทบทุกครัวเรือนหรือร้านอาหารต่างๆ ต้องใช้มะนาวในการปรุงอาหาร หรือใช้เป็นเครื่องดื่ม ซึ่งรสชาติมะนาวนั้นยากหาสิ่งอื่นมาทดแทนได้ (ศุภกิจ, 2540) ปัจจุบันการขยายตัวทางเศรษฐกิจมีแนวโน้มสูงขึ้น อีกทั้งการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรมมีการนำมะนาวมาใช้เป็นวัตถุดิบมากขึ้น ทำให้ความต้องการและความสำคัญทางเศรษฐกิจของมะนาวเพิ่มมากขึ้น แต่เนื่องจากในบางฤดูกาลผลผลิตมะนาวขาดแคลน ไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ทำให้มะนาวมีราคาสูงมาก ดังนั้น จึงได้มีการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเพื่อเพิ่มปริมาณมะนาวให้มีจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น (มานะ, 2557) มะนาวที่พบในประเทศไทยมีอยู่หลายพันธุ์ได้แก่ มะนาวแป้น มะนาวไข่ มะนาวหนัง มะนาวหวาน มะนาวพม่า มะนาวเตี้ย มะนาวปีนัง มะนาวนมยาน และมะนาวพันธุ์ตาฮิติ เป็นต้น (หลวงบุเรศบำรุงการ, 2519, ดีพร้อม, 2535) สำหรับมะนาวที่ปลูกเป็นการค้าในประเทศไทยมี 3 สายพันธุ์ คือ มะนาวแป้น มะนาวหนัง และมะนาวไข่ โดยเฉพาะมะนาวแป้นเป็นมะนาวที่นิยมปลูกมากที่สุดเพราะเป็นมะนาวที่ให้ผลดกและออกผลตลอดปี ผลมีขนาดปานกลาง ไม่ค่อยมีเมล็ด การทำสวนมะนาวมีปัญหาสำคัญที่ทำให้แหล่งปลูกมะนาวหลายๆแห่งต้องล้มเลิกไป สาเหตุเกิดจากโรคระบาดและแมลงเข้าทำลาย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นอีกวิธีการหนึ่งในการผลิตพืชปลอดโรค ดังนั้นการใช้วิธีปลูกแบบปกติร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถทำให้มะนาวปลอดภัยจากเชื้อโรคมากยิ่งขึ้น และเพิ่มปริมาณต้นกล้าที่ปราศจากโรคได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.ศึกษาเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลส้ม

2.ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนของใบ และชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนของข้อ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการขยายพันธุ์มะนาวนิ้วมือ มะนาวแป้นแม่ลูกดก มะนาวแป้นสุขประเสริฐ และมะนาวตาฮิติ ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนที่จะนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกันเพื่อศึกษาสูตรที่เหมาะสม และชักนำให้เกิดการเจริญในรูปแบบต่าง ๆ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ทราบเวลาที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลส้ม

2.ทราบสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส และยอด

3.สามารถขยายพันธุ์มะนาวนิ้วมือ มะนาวแป้นแม่ลูกดก สุขประเสริฐ และมะนาวตาฮิติได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พืชสกุลส้ม

สกุลส้ม (*Citrus*) อยู่ในวงศ์ *Rutaceae* มีต้นกำเนิดในเขตร้อนและเขตร้อนชื้นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนใหญ่อยู่ในประเทศของแอฟริกาตอนใต้และออสเตรเลีย พืชตระกูลนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 7 ตระกูลย่อย โดยมีตระกูลย่อยที่สำคัญที่สุด ได้แก่ ตระกูลย่อยของส้ม (Orange Subfamily: *Aurantioideae*) เช่น ส้มต่างๆ (*Citrus* spp.) รวมทั้งไม้ผลที่มีคุณค่าในการเป็นต้นตอของไม้ผลเศรษฐกิจ เช่น มะตูม มะขวิด ส้มคัมควอท ส้มสามใบ พืชสกุลนี้มีความสำคัญทางการค้า โดยหลายชนิดมีการปลูกเพื่อนำผลไปกินสดๆหรือคั้นเป็นน้ำผลไม้

มีลำดับอนุกรมวิธาน ดังนี้ (ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/มะนาว)

Kingdom: Plantae
Division: Magoliophyta
Class: Magnoliopsida
Order: Sapindales
Family: Rutaceae
Genus: Citrus

แม้ว่าถิ่นเดิมของพืชตระกูลส้มจะอยู่ในเอเชียอาคเนย์ แต่ได้มีการนำไปปลูกแพร่หลายในหลายท้องถิ่นเป็นเวลานาน จนกลายเป็นพืชอสำคัญของท้องถิ่นนั้น ๆ สำหรับในประเทศไทยมีการปลุกพืชตระกูลส้มหลายชนิด ส้มที่ปลูกเป็นการค้า ได้แก่ ส้มเขียวหวาน (mandarin orange) ส้มโอ (pumelo) ส้มเกลี้ยง (sweet orange) มะนาว (common lime) และส้มจุก (neck orange) มีการจัดแบ่งกลุ่มของส้มตามหลักทางพืชสวน โดยอาศัยความสำคัญทางเศรษฐกิจแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ (มงคล, 2535) คือ

2.1.1. **กลุ่มออเรนซ์ (orange)** เป็นกลุ่มใหญ่ที่มีความสำคัญทางเศษฐกิจมากที่สุดในโลก มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย ทางทิศตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดียทางแถบทิเบตไปจนถึงจีนและพม่า ส้มในกลุ่มนี้ที่พบในไทยมีหลายพันธุ์ เช่น ส้มตรา ส้มเกลี้ยง ส้มมือ เป็นต้น ในกลุ่มออเรนซ์แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

2.1.1.1. สวีทออเรนซ์ (sweet orange) ลำต้นมีขนาดปานกลาง สามารถโตได้ถึง 12 เมตร ใบมีขนาดปานกลางมีวิงแคบ ดอกมีสีขาว ผลมีสีส้มไปจนถึงสีแดง แบ่งตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น รูปร่าง ขนาด สีผล จำนวนเมล็ดต่อผล ฤดูการออกดอก สามารถจำแนกได้ 4 กลุ่ม ได้แก่ Common Orange Acidless Blood และ Navel orange

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1.2. ซาวออเรนจ์ (Sour or Bitter Oranges) มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ใบมีขนาดปานกลางและมีวิงกว้าง ดอกมีสีขาวขนาดใหญ่ เปลือกผลหนาและขรุขระ นิยมใช้เป็นต้นตอให้กับสวีทออเรนจ์ เลมอน และเกรฟฟรุต เนื่องจากมีความทนทานต่อโรคยางไหลและไฟทอฟธอรา แต่ในปัจจุบันได้ยุติการใช้ในแหล่งปลูกส้มอุตสาหกรรม เนื่องจากการเข้าคู่ระหว่างต้นพันธุ์ที่เป็น ส้มหวานบนต้นตอส้มเปรี้ยวนั้นมีความอ่อนแอต่อโรคทริสเตซา (Tristeza disease) เป็นอย่างมาก ส้มชนิดนี้มีความสำคัญในแถบเมดิเตอเรเนียน เนื่องจากการใช้ผลิตน้ำอบ (cologne) หัวน้ำหอม (perfume) และเครื่องสำอางอื่น ๆอีก กลุ่มพันธุ์ที่ใช้กันอยู่ได้แก่ Bouquet และ Bergamot นอกจากนี้ ยังได้นำมาใช้ในการผลิตแยมผิวส้ม (marmalade) และใช้เป็นไม้ประดับ

2.1.2. **กลุ่มแมนดาริน (the Mandarins)** ส้มในกลุ่มนี้มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในเขตร้อนมีลักษณะผลใกล้เคียงกับกลุ่มออเรนจ์ มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ ลำต้นมีขนาดเล็กไปจนถึงขนาดกลางมีหนามเล็กน้อย ใบมีขนาดเล็กและก้านใบแคบ ดอกมีสีขาวขนาดเล็ก ผลสุกมีสีส้มแดง เขียว หรือเหลือง เปลือกบาง เมล็ดมีขนาดเล็ก ส้มในกลุ่มนี้ที่พบในไทย ได้แก่ ส้มจุก ส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มแก้ว (มงคล, 2535)

2.1.3. **กลุ่มส้มโอและเกรฟฟรุต (pumelo and grapefruits)** พันธุ์ที่สำคัญและนิยมปลูกกัน ได้แก่ ขาน้ำผึ้ง ขาวแตงกวา ทองดี ขาวหอม ขาวใหญ่ ขาวพวง ขาวแป้น ท่าข่อย ทับทิม หอมหาดใหญ่ เป็นต้น

2.1.3.1. กลุ่มที่มีรสเปรี้ยวปานกลางถึงเปรี้ยวจัด กลุ่มนี้มีปริมาณกรดระหว่าง 1.02-1.9

2.1.3.2. กลุ่มที่หวานหรือมีกรดต่ำ กลุ่มนี้ปริมาณอยู่ระหว่างร้อยละ 0.08-0.10

นอกจากนี้หากแบ่งตามเนื้อสีแล้ว สามารถแยกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

- กลุ่มที่มีเนื้อสีขาวหรือไม่มีสี ได้แก่ พันธุ์ขาวพวง ขาวแป้น ขาวใหญ่ ขาวน้ำผึ้ง ขาวแตงกวา

- กลุ่มที่มีเนื้อสีแดงหรือเนื้อสีชมพู ซึ่งสีเนื้อเกิดจาก carotenoid pigment พวก lycopene พันธุ์ที่ชื่อเสียงที่สุด คือ ทองดี นอกจากนี้ก็พันธุ์อื่นอีก เช่น ท่าข่อย และทับทิม เป็นต้น

2.1.4. **กลุ่มที่ส้มที่มีรสเปรี้ยวจัด (The Common Acid Members)** ส้มกลุ่มนี้พบว่ามีรสเปรี้ยวจัดที่เป็นเอกลักษณ์ที่สำคัญ คือ ส่วนของปลายผล (stylar end) มักพบลักษณะนูนขึ้นซึ่งเรียกว่า areolar mammalian ชนิดที่พบในประเทศไทยเป็นกลุ่มของไลม์หรือมะนาว มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางตะวันเฉียงเหนือของประเทศอินเดีย พม่า และไทย (มงคล, 2535)

2.1.4.1. กลุ่ม Citrons เป็นพันธุ์ที่แตกต่างจากส้มพันธุ์อื่น ๆ ทั้งลักษณะลำต้นและผลมีอายุสั้น ลักษณะที่สำคัญ คือ ตาดอกมีสีม่วงแต้มอยู่ มีเนื้อเยื่อชั้นกลาง (albedo หรือ mesocarp) ที่หนามาก เป็นส้มที่อ่อนแอต่อโรคทริสเตซา (tristeza virus) อย่างมากจึงนิยมใช้เป็นตัวบ่งบอกเพื่อใช้ตรวจสอบโรคไวรัสชนิด พันธุ์ที่สำคัญได้แก่ Dimnta และ Ettrog ในประเทศไทยพบปลูกตามหมู่บ้านชาวเขาทางภาคเหนือซึ่งเรียกว่า ส้มมะละกอ

2.1.4.2. กลุ่ม Lemons เรียกกันในภาษาไทยว่า มะนาวฝรั่ง หรือมะนาวนมยาน มีลักษณะแข็ง ทรงพุ่มขนาดใหญ่ หนาวเรียวสั้น ใบเขียวอ่อนเหลืองก้านใบมีวิง มีลักษณะประจำพันธุ์ที่เด่นชัดคือ ส่วนปลายผลนูนสูง เรียกว่า นิบเปิ้ล หรือ apical mamilla (มงคล, 2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4.3 กลุ่ม Limes ได้แก่ มะนาว เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ลำต้นมีลักษณะเป็นทรงพุ่ม แผ่กิ่งก้านสาขาออกรอบ ๆ ต้นค่อนข้างไม่เป็นระเบียบ มีอายุยืน ความสูงลำต้นขึ้นกับชนิดพันธุ์ที่ปลูก (ศุภกิจ, 2540) พันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทย มีหลายพันธุ์ได้แก่ มะนาวหนัง มะนาวไข่ มะนาวควาย เป็นต้น

2.2 พืชสกุลส้มที่นำมาใช้ในการศึกษา

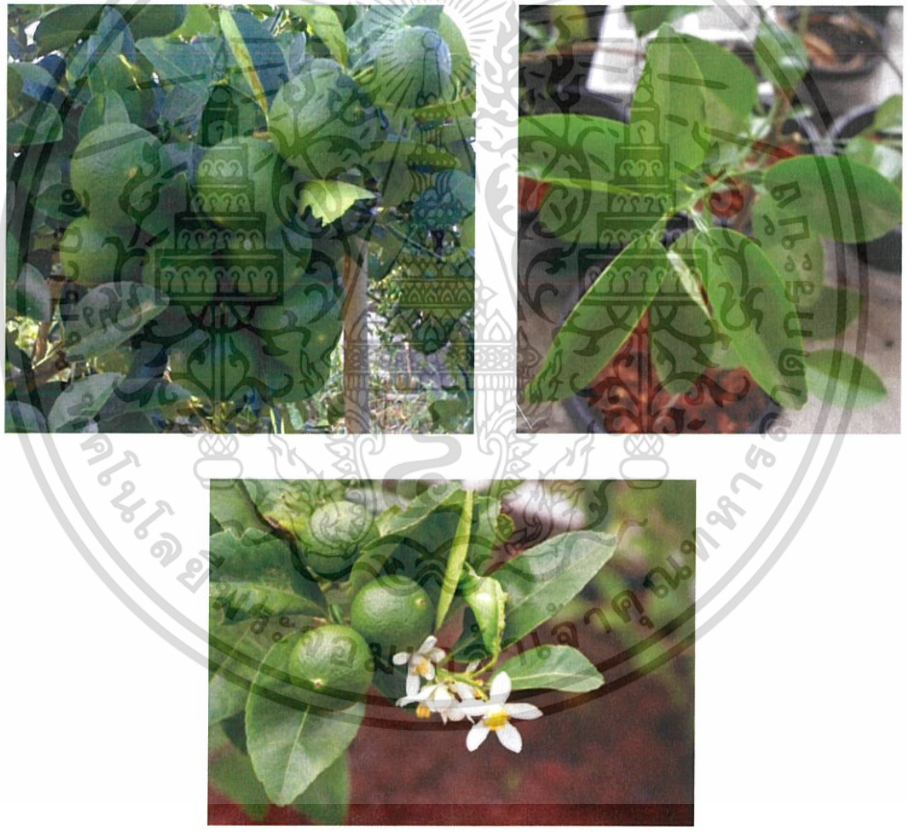
2.2.1 มะนาวแป้น (*Citrus aurantifolia (Christm) Swingle)*

ลำดับอนุกรมวิธานดังนี้ (ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/มะนาว)

Family: Rutaceae

Genus: Citrus

Species: *C. Aurantifolia*



รูปที่ 2.1 แสดง ผล (บนซ้าย) ใบ (บนขวา) และดอกของมะนาวแป้นแม่ลูกดก(ล่าง)
(ที่มา: http://www.bansuanporpeang.com/node/859)

มะนาวแป้น เป็นพืชหรือผลไม้ที่อยู่ในสกุลส้ม ซึ่งมะนาวแป้นเป็นมะนาวพันธุ์พื้นเมืองพันธุ์หนึ่งของชาวไทย ได้จากการเพาะเมล็ดมะนาวพื้นบ้านแล้วมีการกลายพันธุ์ไปจนได้ลักษณะที่ดีเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมากที่สุด เพราะให้ผลดกและออกดอกผลได้ตลอดทั้งปี ผลมีขนาดปานกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะผลกลมแป้นสวย ผลอ่อนมีสีเขียว ผลแก่จัดมีสีเขียวอมเหลือง ผิวผลไม่เรียบ เปลือกบางใส มีน้ำมาก น้ำมีกลิ่นหอม ไม่ค่อยมีเมล็ด ใบมีสีเขียวเข้มรูปไข่ ดอกมีสีเขียวมีกลีบดอก 5 กลีบ เกสรตัวผู้สีเหลือง ออกดอกเป็นกลุ่มๆละ 5-10 ดอกที่บริเวณกิ่งใหม่ที่แยกออกจากกิ่งอายุมาก มะนาวแป้นมีหลายพันธุ์ เช่น

- มะนาวแป้นสุขประเสริฐ เป็นไม้ยืนต้น สูง 3-4 เมตร กิ่งอ่อนมีหนามแหลม ใบเป็นใบประกอบชนิดมีใบย่อยเพียงใบเดียว ออกเรียงสลับเป็นรูปไข่ แผ่นใบมีต่อมน้ำมันระเหยกระจายทั่วดอก ออกเป็นดอกเดี่ยว ๆหรือเป็นช่อตามซอกใบและปลายยอด กลีบดอกเป็นสีขาวอมม่วงและร่วงง่าย ดอกมีกลิ่นหอม ผลกลมแป้น เปลือกผลบาง ภายในไม่มีเมล็ด บีบหรือคั้นได้น้ำเยอะ รสเปรี้ยวจัด มีกลิ่นหอม ผู้ปลูกบอกว่า มะนาวแป้นสุขประเสริฐ เป็นพันธุ์เบา ปลูกแล้วโตเร็ว ติดผลง่ายและดกเต็มต้นตลอดทั้งปี ขยายพันธุ์ด้วยระบบติดตากับตอส้มโอทำให้ทนต่อโรคแมลงดีมาก เหมาะจะปลูกเพื่อเก็บผลรับประทานในครัวเรือนและปลูกเพื่อเก็บผลขายได้คุ้มค่า (เกษตร, 2559)
- มะนาวแป้นแม่ลูกดก เป็นไม้ยืนต้นสูง 3-4 เมตร กิ่งอ่อนมีหนามแหลม ใบเป็นใบประกอบชนิดมีใบย่อยใบเดียว ออกเรียงสลับ ดอก ออกเป็นดอกเดี่ยว ๆ หรือเป็นช่อกระจุกตามซอกใบและปลายใบ กลีบดอกเป็นสีขาว ร่วงง่าย ดอกมีกลิ่นหอมแบบสะอาดๆ ผลรูปกลมแป้นหรือแบนอย่างชัดเจน ผลมีน้ำหนักเฉลี่ยระหว่าง 12 ผล ต่อ 1 กิโลกรัม เปลือกผลบาง สีเขียวสวน ผ่าบีบหรือคั้นน้ำได้เยอะ น้ำเป็นสีขาวใส แตกต่างจากมะนาวทั่วไป รสเปรี้ยวจัด มีกลิ่นหอม ติดผลดกตามฤดูกาล ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ตอนกิ่ง ทาบกิ่ง และเสียบยอด (เกษตร, 2559)

2.2.2 มะนาวนิ้วมือ (*Citrus australasica*)

ลำดับอนุกรมวิธานดังนี้ (http://www.siamintrends.com)

Family: Rutaceae

Genus: Citrus

Species: *C. Aurantifolia*

รูปที่ 2.2 แสดงต้นมะนาวนิ้วมือ(ซ้าย) ลำต้นและใบของต้นมะนาวนิ้วมือ (ขวา)
(ถ่ายโดยคณะผู้จัดทำ)

เป็นพืชหรือผลไม้ชนิดหนึ่งที่อยู่ในสกุลซิตรัส (citrus) จัดอยู่ในประเภทส้มและมะนาว เป็นมะนาวป่าของประเทศออสเตรเลีย ปลูกกันมากในแถบรัฐควีนส์แลนด์และนิวเซาท์เวลส์ โดยมีมากที่สุดทางตอนเหนือของรัฐนิวเซาท์เวลส์รอยต่อกับทางตอนใต้ของรัฐควีนส์แลนด์ (เศกศักดิ์,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2559) ปัจจุบันในประเทศไทยมีการเพาะปลูกต้นมะนาวนิ้วมือน้อย เพราะยังไม่เป็นที่รู้จัก แต่เป็นที่ต้องการของตลาดและมีราคาสูง มะนาวนิ้วมือสามารถเติบโตได้ในสภาพภูมิอากาศในประเทศไทย สามารถขยายพันธุ์ได้หลายวิธี เช่น การเสียบยอด การตอนกิ่งใช้เวลาประมาณ 1-2 เดือน แต่ถ้าปลูกด้วยเมล็ดใช้เวลาถึง 2 ปี ถึงแม้สามารถขยายพันธุ์ได้ง่ายแต่ผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด (สมเจตต์, 2558)

จากประโยชน์ที่กล่าวมาข้างต้น มะนาวนิ้วมือสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน จึงได้มีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นมะนาวนิ้วมือเพื่อเพิ่มปริมาณของต้นมะนาวนิ้วมือให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น เพื่อตอบสนองความต้องการของตลาด อีกทั้งยังเป็นการสนับสนุนเศรษฐกิจทางเกษตรกรรมของประเทศได้ (สมเจตต์, 2558)

2.2.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

รูปที่ 2.3 ผลของมะนาวนิ้วมือ(ซ้าย) เมล็ดมะนาวนิ้วมือ (ขวา) และดอกของมะนาวนิ้วมือ (ล่าง) (ภาพถ่ายโดยผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม)

มะนาวนิ้วมือเป็นพืชที่เป็นไม้พุ่มมีความสูงตั้งแต่ 2-7 เมตร ลำต้นมีหนามแหลมเหมือนมะนาว ขนาดเล็กกว่ามะนาวทั่วไป มีขนาดความยาวตั้งแต่ 1-6 เซนติเมตร ขนาดใบกว้างตั้งแต่ 3-25 มิลลิเมตร ดอกสีขาว กลีบดอกยาวประมาณ 6-9 มิลลิเมตร ลักษณะของผลเป็นรูปยาวรีคล้ายแตงกวาลูกเล็กหรือนิ้วมือ ยาว สั้น เล็ก หรือใหญ่ ก็ขึ้นอยู่กับแต่ละสายพันธุ์ โดยผลมีความยาวตั้งแต่ 3-4 เซนติเมตร ไปจนถึง 12 เซนติเมตรจุดเด่นของมะนาวนิ้วมืออยู่ที่ผล มะนาวนิ้วมือมีความแตกต่างทางสายพันธุ์อยู่ที่สีของผลและสีของเนื้อโดยผลของมะนาวนิ้วมือจะมีสีสันของเปลือกที่แตกต่างกัน ลูกมีลักษณะเรียวยาวคล้ายนิ้วมือ มีขนาดต่างกันตามลักษณะของสายพันธุ์ ทำให้มะนาวนิ้วมือมีจุดเด่นแตกต่างจากพืชในตระกูลเดียวกัน เช่น ส้มหรือมะนาวโดยทั่วไป เปลือกของผลมะนาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิ้วมือมีหลายสี เช่น แดง เขียว น้ำตาล ดำ เหลือง ส้ม ในขณะที่เนื้อของมะนาวนิ้วมือแต่ละสายพันธุ์มีสีสันที่แตกต่างกันด้วย เช่น เขียว แดง ส้ม ขาวใส ชมพู เหลือง ม่วง (เศกศักดิ์, 2559)

2.2.3 มะนาวตาฮิติ (*Citrus aurantifolia (Christm.) Swingle)*

ลำดับอนุกรมวิธานดังนี้ (ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/มะนาว)

Family: Rutaceae

Genus: Citrus

Species: *C. aurantifolia*

รูปที่ 2.4 ต้นมะนาวตาฮิติ (บนซ้าย) ผลมะนาวตาฮิติ (บนขวา) ดอกมะนาวตาฮิติ(ล่าง)
(ที่มา: http://www.kasetkawna.com/product)

มะนาวพันธุ์ตาฮิติ เป็นพันธุ์มะนาวจากหมู่เกาะตาฮิติ นำมาปลูกทดลองในประเทศไทย ในปัจจุบันมีการปลูกแพร่หลายในเขตพื้นที่ภาคเหนือ ทรงพุ่มมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-5 เมตร ความสูงต้น 3-5 เมตร แตกกิ่งก้านน้อยกว่ามะนาวไทย มีหนามน้อยและสั้น ใบสีเขียวเข้มรูปไข่ ใบมีขนาดกว้าง 5.8 เซนติเมตร ยาว 8 เซนติเมตร ก้านใบยาว 1 เซนติเมตร มีหูใบกว้าง 0.5 เซนติเมตร ก้านใบยาว 1 เซนติเมตร มีหูใบกว้าง 0.5 เซนติเมตร ดอกสีขาวมีกลีบดอก 5 กลีบ เกสรตัวผู้มีสีขาวมีกลิ่นหอม ผลอ่อนเมื่อมีสีเขียวเข้ม แก่จัดเขียวอมเหลือง ผลกลมรี ผลมีเส้นผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 5.5 เซนติเมตร ผิวผลเรียบ ก้นผลไม่มีสะดือ เปลือกหนา 0.3 เซนติเมตร เป็นพันธุ์มะนาวที่ไม่มีเมล็ด (อภิชาต, 2557)

โดยทั่วไปจะให้ผลผลิต 500-1000 ผล/ต้น/ปี เมื่อต้นมีอายุมากกว่า 5 ปี มีสภาพการดูแลรักษาดี น้ำหนักผลประมาณ 55 กรัม มีเปอร์เซ็นต์ความหวาน 6 องศาบริกซ์ พีเอช 2.10 กรดซิตริกร้อยละ 6.1 วิตามินซี 47.5 มิลลิกรัม ลักษณะเด่นพิเศษ คือเป็นมะนาวที่ไม่มีเมล็ด เปลือกค่อนข้างหนา ทำให้ทนทานต่อการขนส่งทางไกล (อภิชาต, 2557)

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่ง ถูกควบคุมในสภาวะปลอดเชื้อ อุณหภูมิ และแสง ด้วยการนำชิ้นส่วนของพืชที่ยังมีชีวิต เช่น ลำต้น ยอด ตาข้างก้านช่อดอก ใบ ก้านใบ อับละอองเกสร เป็นต้น มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสังเคราะห์ และชิ้นส่วนนั้นสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ มีทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ ปัจจุบันมีการพัฒนา และนำมาใช้แก้ปัญหาหรือเพื่อประโยชน์ในภาคเกษตร และภาคอุตสาหกรรม

2.3.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ (อนุรักษ์, 2550)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถเลี้ยงได้จากทุก ๆ ส่วนของเนื้อเยื่อพืชที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ โดยจะต้องทดลองนำส่วนต่าง ๆ ของพืชเหล่านั้นมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งในส่วนของเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เพราะเซลล์แต่ละชนิดมีความสามารถในการเจริญเติบโตไม่เท่ากัน ส่วนต่าง ๆของเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเลี้ยง ได้แก่

2.3.1.1 เนื้อเยื่อบริเวณปลายยอด (shoot apex) เป็นบริเวณที่เซลล์มีการแบ่งตัวมากที่สุด

2.3.1.2 เนื้อเยื่อบริเวณปลายราก (root apex) เป็นส่วนที่อยู่บริเวณถัดจากส่วนของหมวกราก (root cap) ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญคล้ายกับบริเวณส่วนของปลายยอด

2.3.1.3 เนื้อเยื่อเจริญในท่อลำเลียง (vascular cambium) เป็นเนื้อเยื่อเจริญที่พบในบริเวณส่วนราก และลำต้น โดยจะอยู่บริเวณระหว่างกลุ่มท่อน้ำ (xylem) และท่ออาหาร (phloem)

2.3.1.4 เนื้อเยื่อเจริญที่อยู่ระหว่างข้อปล้อง (intercalary meristem) สามารถพบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีหน้าที่ในการเพิ่มความยาวของปล้อง

2.3.1.5 เนื้อเยื่อพืชส่วนอื่น ๆ ได้แก่

- ส่วนของเปลือกชั้นใน (inner bark) ซึ่งเป็นส่วนประกอบในส่วนของเนื้อเยื่อท่ออาหารและคอร์เท็กซ์
- ส่วนไส้ (pith) ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่บริเวณในส่วนกลางสุดลำต้นประกอบด้วยกลุ่มเซลล์พาเรงไคมา
- ใบ (leaf) เซลล์ของแผ่นใบที่เรียกว่า palisade parenchyma และ spongy parenchyma อยู่เป็นจำนวนมาก เหมาะสำหรับใช้ในการแยกโปรโตพลาสต์
- ดอก (flower) ส่วนของดอกประกอบด้วยพาเรงไคมา
- ผล (fruit) เนื้อเยื่อของผลส่วนใหญ่จะประกอบด้วยกลุ่มเซลล์พาเรงไคมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เมล็ด (seed) ในบริเวณส่วนของเมล็ดจะประกอบด้วย 3 ส่วนที่สำคัญ คือ เอ็มบริโอ เอ็นโดสเปิร์ม และใบเลี้ยง การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอภายในเมล็ดจะมีร้อยละความสำเร็จค่อนข้างสูง

2.3.2 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด ขึ้นกับความเหมาะสมต่อชนิดของพืชพันธุ์ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืชที่จะนำมาเลี้ยง โดยในอาหารประกอบด้วยธาตุอาหารที่พืชต้องการ คือ สารประกอบอนินทรีย์ และสารประกอบอินทรีย์ ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง แม้ต้นพืชนั้นมีความต้องการในการเจริญเติบโตไม่ซับซ้อนมาก แต่การนำชิ้นส่วนของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ทำให้พืชมีความต้องการธาตุอาหารและสารบางอย่างที่จำเป็นที่มีความซับซ้อนมากกว่า คือ ต้องการทั้งธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรอง นอกจากนั้นยังต้องการธาตุอาหารอื่น ๆ เช่น แหล่งของธาตุคาร์บอน วิตามิน และสารควบคุมการเจริญของพืช (รังสฤษฎ์, 2540)

ส่วนประกอบของอาหาร (อนุรักษ์, 2550)

- สารอนินทรีย์ ได้แก่ แร่ธาตุต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ แร่ธาตุหลัก ได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และ ซัลเฟอร์ ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้พืชต้องการนำไปใช้ในปริมาณมาก ขาดไม่ได้ และธาตุอาหารรอง แร่ธาตุเหล่านี้พืชต้องการในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ เช่น เหล็ก โคบอลต์ สังกะสี ทองแดง โดยทั่วไปพืชต้องการแร่ธาตุรองไปใช้ในปริมาณที่น้อยกว่า 50 มิลลิกรัม

- สารอินทรีย์ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต เป็นแหล่งคาร์บอนที่มีส่วนสำคัญในการให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อพืชที่นำมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ น้ำตาลที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ปกติจะใช้น้ำตาลปริมาณ 20-40 กรัม หรือ 2-4 เปอร์เซ็นต์

- วิตามิน (vitamins) พืชสามารถสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้ทุกชนิด แต่เซลล์พืชที่เลี้ยงในสภาพหลอดแก้วต้องการวิตามินเพิ่ม โดยเฉพาะวิตามิน บี 1

- กรดอะมิโน (amino acid) มีความสำคัญในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชเป็นอย่างมาก โดยทั่วไปประสิทธิภาพในการทำงานของกรดอะมิโนที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะอยู่ในรูปของ L มากกว่าในรูปของ D

- สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) ทำหน้าที่กระตุ้น และมีส่วนร่วมในกระบวนการต่าง ๆ เพื่อพัฒนาต้นพืช การเปลี่ยนแปลงพัฒนาของเซลล์ เนื้อเยื่อ และสารทุติยภูมิ โดยปกติมีส่วนช่วยในการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตหรือกำเนิดอวัยวะ และมีเนื้อเยื่อพืชไม่กี่ชนิดที่สร้างแคลลัสได้ในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

ออกซิน (auxin) สามารถชักนำการยืดของลำต้นและปล้อง ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้นำเอาออกซินไปใช้ในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเกิดราก ออกซินที่นิยมใช้ได้แก่ 2,4-dichlophenoxy acetic acid (2,4-D) Indole-3-Butyric Acid (IBA) โดย 2,4-D ช่วยในการชักนำราก และ IBA ช่วยในการชักนำราก

ไซโตไคนิน (cytokinin) มีผลต่อการแบ่งเซลล์ช่วยในการเจริญของตาข้าง การเติมไซโตไคนินลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเจริญเป็นหน่อเล็ก (adventitious shoots) จากส่วนของแคลลัสหรือชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยง ไซโตไคนินที่นิยมใช้ คือ zeatin, Benzylaminopurin (BAP)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- วุ้น (agar) ช่วยในการยึดเกาะของเนื้อเยื่อพืช โดยปกติจะใช้ความเข้มข้นประมาณ 1.25-2.6 เปอร์เซ็นต์

2.3.3 การทำความสะอาดชิ้นส่วนพืช

เมื่อนำชิ้นส่วนพืชจากต้นพันธุ์มาแล้ว ก่อนที่จะทำความสะอาดควรเอาดินหรือส่วนของพืชที่ตายออกจากชิ้นส่วนพืชที่ต้องการให้หมดก่อน และตัดส่วนที่ไม่จำเป็นออกก่อน เพื่อลดการปนเปื้อน หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนพืชมาทำความสะอาดโดยล้างด้วยสบู่ใช้ฟองน้ำ หรือแปรงขัดสิ่งสกปรกให้สะอาด จากนั้นล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาด จากนั้นนำไปแช่เอทานอล และล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3-4 ครั้งก่อนนำชิ้นส่วนพืชไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ (ศิวพงศ์, 2546)

การฆ่าเชื้อที่ผิวชิ้นส่วนพืช ควรใช้สารฆ่าเชื้อที่มีความเข้มข้นเหมาะสมจะมีประสิทธิภาพในการทำลายสิ่งปนเปื้อนได้ ถ้าใช้สารที่มีความเข้มข้นน้อยเกินไป ชิ้นส่วนของพืชก็จะไม่สะอาด ยังมีสิ่งปนเปื้อนอยู่ แต่ถ้าใช้สารที่มีความเข้มข้นมากเกินจะทำลายชิ้นส่วนของพืชได้ เพื่อลดความเสี่ยงควรจะทดลองฆ่าเชื้อหลายๆวิธี โดยทั่วไปจะทำความสะอาดชิ้นส่วนพืชด้วยโซเดียมไฮโปรคลอไรด์หรือคลอรอกซ์อาจใช้สารนี้เพียงอย่างเดียวหรือใช้อย่างอื่นตามมาอีกก็ได้หรืออาจเจือจางสารนี้ในหลายๆความเข้มข้น การทำความสะอาดชิ้นส่วนพืชอาจใช้สารหลายๆความเข้มข้นหรือสารหลายชนิดก็ได้ (ศิวพงศ์, 2546)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นาตยา (2538) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มะกรูด มะนาว และส้มเขียวหวาน โดยนำเมล็ดมาทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12-15 วัน ในอาหารสูตร Murashige และ Skoog (MS, 1962) จนได้ต้นกล้าที่สมบูรณ์ จากนั้นตัดชิ้นส่วนข้อ มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญ BA ความเข้มข้น 0 ถึง 8 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า BA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุดในมะกรูดถึง 20.1 ยอด มะนาว 20.6 ยอด และส้มเขียวหวาน 16.8 ยอด

Tao และคณะ (2001) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากใบของต้นอ่อน *Citrus grandis* โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมด้วย 2,4-D NAA 2,4,5-T MCPA 4-CPA dicamba และ ATCP พบว่า 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0.9 และ 4.5 ไมโครโมลาร์ มีการชักนำให้เกิดแคลลัสสูงที่สุด แคลลัสที่ได้เป็นสีเขียว มีลักษณะเป็นแบบ compact นำแคลลัสที่ได้มาชักนำให้เกิดยอด พบว่าอาหารที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 6.66 ไมโครโมลาร์ สร้างยอดได้มากกว่า 13 ยอดต่อแคลลัส และตัดส่วนปลายยอดเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS พบว่า อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.89 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการเกิดยอดเพิ่ม 5-7 ยอด และนำยอดที่ได้มาชักนำให้เกิดราก โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS พบว่ามีการเกิดรากได้ดีในอาหารที่เติม indole-3-butyric acid ที่ความเข้มข้น 9.84 ไมโครโมลาร์ และ NAA ที่ความเข้มข้น 5.37 ไมโครโมลาร์

Costa และคณะ (2003) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดในพืชสกุลส้ม โดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญ BA ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 2.0 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า BA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Marques และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดยอดจากชิ้นส่วนปล้องของ *Citrus aurantium* L. cv. Brazilian ทำการทดลองโดยเพาะเลี้ยงลงบนอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญ BA และ NAA พบว่า BA ที่ความเข้มข้น 1 ถึง 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงที่สุด

Savita และคณะ (2011) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากชิ้นส่วนใบเลี้ยงของ *Citrus jambhiri* Lush ทำการฟอกฆ่าเชื้อโดยนำชิ้นส่วนพืชแช่ในน้ำที่เติมเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นเวลา 15 นาที และล้างด้วยน้ำที่ปราศจากเชื้อ 3 ถึง 4 ครั้ง มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS พบว่าอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ME ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุดถึงร้อยละ 91.66 ชักนำให้เกิดยอดโดยตัดแคลลัสที่ได้ให้เป็นชิ้นเล็กๆ เพาะเลี้ยงในอาหาร MS พบว่าอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดสูงสุดถึงร้อยละ 87.50 ในการทดลองพบว่าผลของอายุแคลลัสที่เพิ่มขึ้นทำให้แคลลัสหนาแน่นมากขึ้นถึงร้อยละ 58.33 หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 420 วัน ชักนำให้เกิดรากโดยนำส่วนยอดที่ได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารครึ่ง MS พบว่าอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดรากสูงสุดถึงร้อยละ 91.67 และทำการปลูกลงดิน โดยมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดถึงร้อยละ 67

Eng และคณะ (2015) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดและรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนเมล็ดของมะกรูด โดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS พบว่า อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ มีการชักนำให้เกิดยอดโดยเฉลี่ยสูงสุด และเกิดรากได้ดีในอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 9,840 ไมโครโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 พืชที่นำมาใช้ในการศึกษา

3.1.1 มะนาวนิ้วมือ

3.1.2 มะนาวแป้นแม่ลูกดก

3.1.3 มะนาวแป้นสุขประเสริฐ

3.1.4 มะนาวตาฮิติ

3.2 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

อาหารประเภท Murashige and skoog 1962 (MS)

3.3 สารเคมี

3.3.1 สารควบคุมการเจริญเติบโต 2, 4 dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)

3.3.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต Benzyladenine (BA)

3.3.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-yl urea (TDZ)

3.3.4 สารควบคุมการเจริญเติบโต Meta-topolin (*m*T)

3.3.5 น้ำตาลซูโครส (sucrose)

3.3.6 ไฟทาเจล (phytagel)

3.3.7 แอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70

3.3.8 กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 นอร์มอล (1N HCl)

3.3.9 กรดโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 นอร์มอล (1N NaoH)

3.3.10 เมอร์คิวริกคลอไรด์ (Mercuric (II) chloride)

3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ

- เครื่องชั่ง (balance)
- ช้อนตักสารเคมี (spatula)
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
- ไมโครเวฟ (Microwave)
- หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
- เครื่องแก้วต่างๆ เช่น ขวดขนาดต่างๆ แท่งแก้วค้นสาร เป็นต้น
- ออโต้ปิเปต (autopipet)
- บีกเกอร์ (beaker)
- กระบอกตวง (cylinder)
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air-flow)
- เครื่องเขย่า (shaker)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol burner)
- มีดผ่าตัด (scalpel)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปากคีบ (forceps)
- กระดาษทิชชู่
- จานกระดาษ

3.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.5.1 **การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

ชั่งอาหาร MS ปริมาณ 4.43 กรัมต่อลิตร เติมน้ำตาลน้ำซูโคส 30 กรัมต่อลิตร เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D BA TDZ และ *m*T ปรับพีเอชให้อยู่ที่ 5.6 - 5.8 เติมวุ้นไฟตาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเพื่อให้วุ้นละลายจนหมด ตักแบ่งใส่ขวดแก้วและปิดฝา ก่อนจะนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำขวดอาหาร MS ที่ใส่ชิ้นส่วนพืช ไปทำการเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีอุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยวางขวดอาหาร MS ที่เป็นส่วนของข้อไว้ในที่ที่มีแสง และวางขวดอาหาร MS ที่เป็นส่วนของใบไว้ในที่มืด

3.5.2 **ศึกษาเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับฟอกฆ่าเชื้อใบและข้อ**

ตัดชิ้นส่วนใบและข้อของต้นพืชมาล้างด้วยน้ำเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกออก จากนั้นนำไปแช่แอลกอฮอล์ร้อยละ 70 เป็นเวลา 1 นาที นำชิ้นส่วนใบและข้อที่ได้มาฟอกด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ละลายในน้ำที่ปราศจากเชื้อปริมาตร 80 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และ 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำที่ปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง โดยน้ำที่สองและสามใช้เวลา 10 นาที ส่วนน้ำที่สี่ใช้เวลา 5 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนใบและข้อข้อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาตัดให้มีชิ้นส่วนที่เหมาะสม แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS

3.5.3 **ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส**

นำชิ้นส่วนใบที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเก็บในที่มืด เก็บผลจากจำนวนการเกิดแคลลัสและวัดความกว้าง ความยาว และความสูงของแคลลัสโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ บันทึกผลการทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์

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

3.5.4 **ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอด**

นำชิ้นส่วนข้อที่ได้การฟอกฆ่าเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเก็บในที่ที่มีแสงสว่าง เก็บผลจากจำนวนการเกิดยอดและวัดความยาวยอดโดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ บันทึกผลการทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนยอดที่เกิดขึ้น}}{\text{จำนวนข้อทั้งหมด}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลของการศึกษาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสม

4.1.1 ผลของการศึกษาเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับฟอกฆ่าเชื้อใบและข้อ

จากการนำใบและข้อของพืชสกุลส้มที่ใช้ในการศึกษามาทำการฟอกฆ่าเชื้อ โดยล้างด้วยน้ำให้สะอาด จากนั้นนำไปแช่แอลกอฮอล์ร้อยละ 70 และฟอกด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ละลายในน้ำที่ปราศจากเชื้อปริมาตร 80 มิลลิลิตร โดยเปรียบเทียบระหว่างเวลา 15 นาที และ 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำที่ปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง โดยน้ำที่สองและที่สามใช้เวลา 10 นาที ส่วนน้ำที่สี่ใช้เวลา 5 นาที ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS พบว่า ชิ้นส่วนใบที่ฟอกด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์เป็นเวลา 30 นาที มีจำนวนชิ้นใบที่ปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ 14 ใบ คิดเป็นร้อยละ 19.44 ส่วนชิ้นส่วนข้อที่เวลา 30 นาที มีจำนวนข้อที่ปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ 11 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 30.56 ซึ่งมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่าการฟอกด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์เป็นเวลา 15 นาที (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 แสดงร้อยละการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนใบและข้อ โดยเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการฟอกด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ระหว่างเวลา 15 และ 30 นาที เป็นเวลา 2 สัปดาห์

	ชิ้นส่วนใบ		ชิ้นส่วนข้อ	
เวลา (นาที)	จำนวนชิ้นใบที่ลง	จำนวนชิ้นใบที่ปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (ร้อยละ)	จำนวนข้อที่ลง	จำนวนข้อที่ปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (ร้อยละ)
15	72	26 (36.62)	36	21 (58.33)
30	72	14 (19.44)	36	11 (30.56)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนของใบ

4.2.1 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวนิ้วมือ พันธุ์ crimson tide

จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะมืด ควบคุมอุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส นาน 8 สัปดาห์ เก็บผลการทดลองโดยคำนวณร้อยละจำนวนการเกิดแคลลัส และวัดปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ พบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนการเกิดแคลลัสสูงที่สุดคือ 11 ใบ คิดเป็นร้อยละ 27.50 ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 64.71 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2) สำหรับชิ้นส่วนใบของมะนาวสายพันธุ์นี้จะมีการเกิดแคลลัสที่ค่อยข้างน้อย และใช้เวลานาน โดยจะเริ่มเกิดแคลลัสในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง แคลลัสที่เกิดจะเกาะกันเป็นก้อนบริเวณส่วนใดส่วนหนึ่งของชิ้นส่วนใบ ไม่มีการเกิดยอดและราก (รูปที่ 4.2) และเมื่อนำข้อมูลร้อยละจำนวนชิ้นใบที่เกิดแคลลัส และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D มาสร้างกราฟ จะแสดงให้เห็นถึงจำนวนการเกิดแคลลัสที่ 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.1)

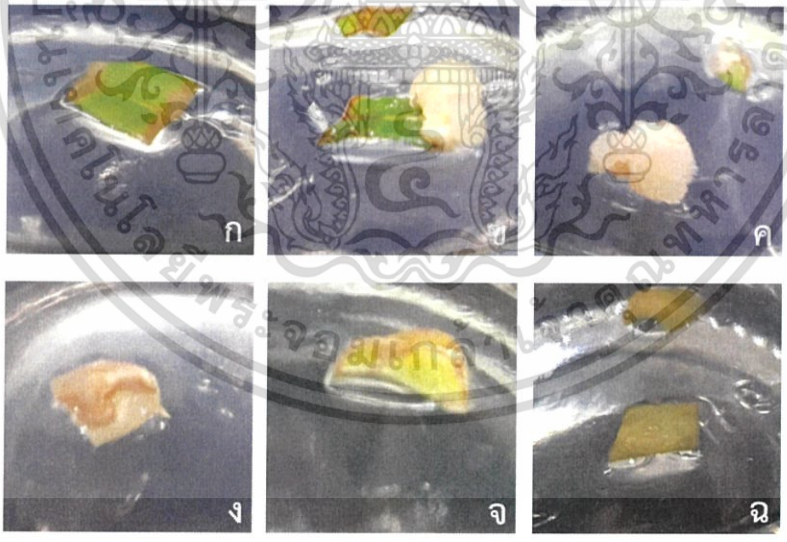
ตารางที่ 4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนชิ้นใบที่เพาะเลี้ยง	จำนวนการเกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0	40	0	0
0.5	40	11 (27.50)	64.71
1	40	2 (5.00)	71.13
2	40	2 (5.00)	11.20
3	40	1 (2.50)	3.58
5	40	0	0

หมายเหตุ สำหรับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนการเกิดแคลลัสเป็น 0 เป็นเพราะชิ้นใบบางส่วนไม่มีการเปลี่ยนแปลง บางส่วนตาย และบางส่วนมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.1 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดแคลลัสของมะนาวนิ้วมือ พันธุ์ crimson tide ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ



รูปที่ 4.2 (ก-ฉ) แสดงการเจริญของแคลลัสของมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวแป้นแม่ลูกดก

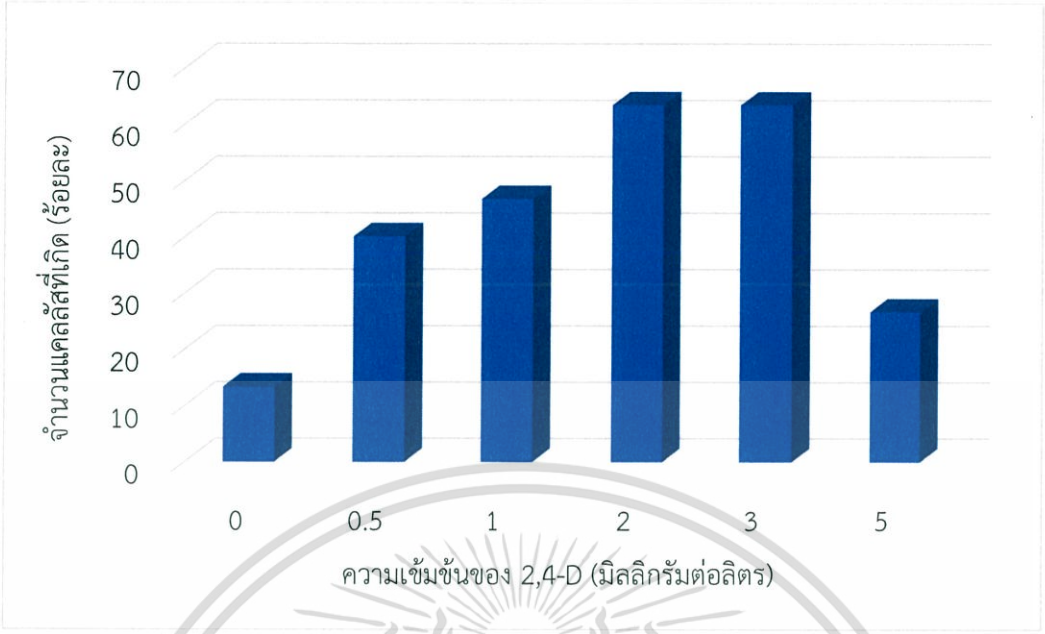
จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 30 ชิ้นใบ พบว่าใบสามารถพัฒนาเกิดเป็นแคลลัสได้ในทุกระดับความเข้มข้น โดยอาหารที่เติม 2,4-D เข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนการเกิดแคลลัสสูงที่สุด คือ 19 ใบ คิดเป็นร้อยละ 63.33 แต่ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยสูงกว่าที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.3) โดยชิ้นส่วนใบในทุกความเข้มข้นจะเริ่มเกิดเป็นแคลลัสที่ช่วงสัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ลักษณะของใบจะมีการโค้งงอเล็กน้อย แคลลัสจะเริ่มเกิดจากขอบใบและกลางใบ และเริ่มพัฒนาเป็นก้อนแคลลัสอย่างจัดเจนมากขึ้นในช่วงสัปดาห์ที่ 6 ไม่มีการเกิดยอดและราก (รูปที่ 4.4) เมื่อนำข้อมูลร้อยละจำนวนชิ้นใบที่เกิดแคลลัสไปสร้างกราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดแคลลัส กับ 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่างๆ จะทำให้เห็นความแตกต่างที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวแป้นแม่ลูกดก ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

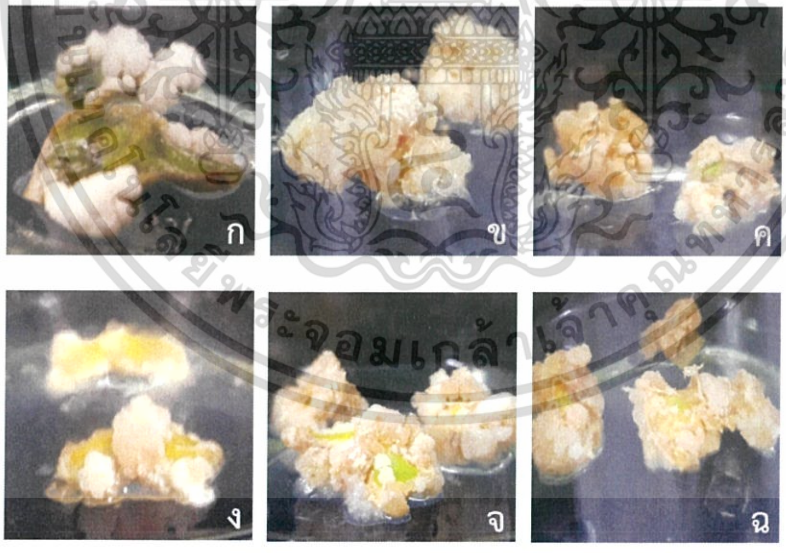
ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนชิ้นใบที่เพาะเลี้ยง	จำนวนชิ้นใบที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0	30	4 (13.33)	13.46
0.5	30	12 (40.00)	461.37
1	30	14 (46.67)	254.44
2	30	19 (63.33)	134.08
3	30	19 (63.33)	376.33
5	30	8 (26.67)	356.44

หมายเหตุ จำนวนชิ้นใบที่ไม่เกิดเป็นแคลลัสเป็นเพราะ บางส่วนไม่มีการเปลี่ยนแปลง บางส่วนตาย และบางส่วนมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดแคลลัสของมะนาวแป้นแม่ลูกดกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ



รูปที่ 4.4 (ก-ฉ) แสดงการเจริญของแคลลัสของมะนาวแป้นแม่ลูกดก บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ

จากการนำชิ้นส่วนใบของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 30 ชิ้นใบ พบว่า ชิ้นใบสามารถพัฒนาเกิดเป็นแคลลัสได้ในทุกระดับความเข้มข้น โดยที่ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนการเกิดแคลลัสสูงที่สุด คือ 16 ใบ คิดเป็นร้อยละ 53.33 ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 83.65 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.4) ชิ้นส่วนใบของมะนาวสายพันธุ์นี้มีการเกิดแคลลัสตั้งแต่สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยง โดยแคลลัสจะเริ่มเกิดเป็นก้อนเล็กๆ ตามเส้นกลางใบ ใบมีลักษณะโค้งงอเล็กน้อย และมีการพัฒนาเป็นก้อนแคลลัสมากขึ้นในช่วงสัปดาห์ที่ 2 แคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นก้อนสีขาวปนสีน้ำตาลอ่อน ไม่มีการเกิดยอดและราก (รูปที่ 4.6) เมื่อนำข้อมูลร้อยละจำนวนชิ้นใบที่เกิดแคลลัส และความเข้มข้นของ 2,4-D มาสร้างกราฟจะแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบจำนวนแคลลัส ที่ 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากขึ้น (รูปที่ 4.5)

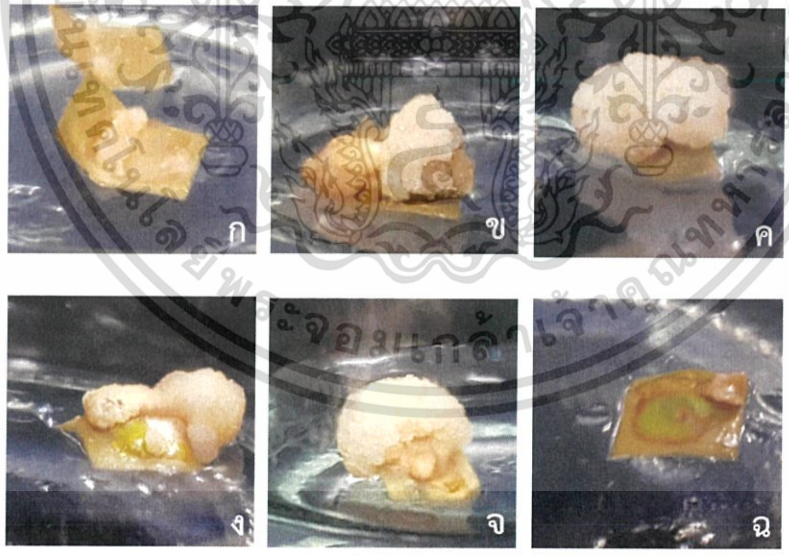
ตารางที่ 4.4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนชิ้นใบที่เพาะเลี้ยง	จำนวนชิ้นใบที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0	30	2 (13.33)	13.34
0.5	30	16 (53.33)	83.65
1	30	12 (40.00)	118.69
2	30	10 (33.33)	30.39
3	30	8 (26.67)	92.92
5	30	5 (16.67)	8.57

หมายเหตุ จำนวนชิ้นใบที่ไม่เกิดเป็นแคลลัสเป็นเพราะ บางส่วนไม่มีการเปลี่ยนแปลง บางส่วนตาย และบางส่วนมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.5 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดแคลลัสของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ



รูปที่ 4.6 (ก-ฉ) แสดงการเจริญของแคลลัสของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวตาฮิติ

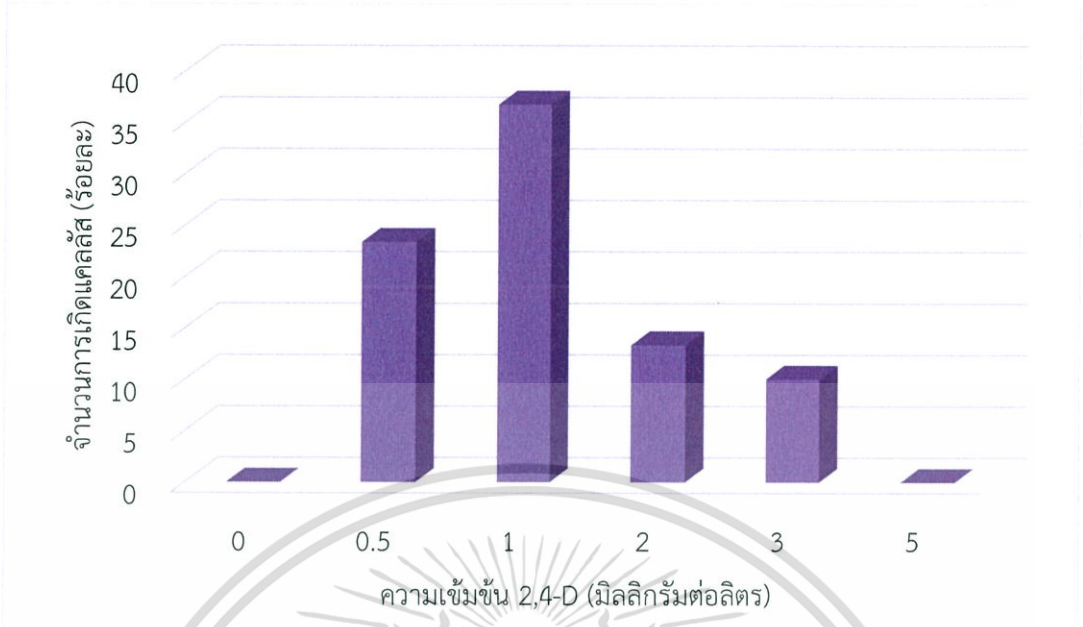
จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 30 ชิ้นใบ พบว่า ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนใบจะเริ่มมีการโค้งงอมากขึ้น เริ่มเกิดเป็นก้อนแคลลัสเล็กๆ สีขาวปนน้ำตาลอ่อน ตามบริเวณผิวใบและขอบใบ ที่ความเข้มข้น 0.5 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อผ่านไป 8 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้นจนปกคลุมเกือบทั่วทั้งผิวใบ และยังไม่มีการเกิดยอดและราก (รูปที่ 4.8) ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนการเกิดแคลลัสสูงที่สุดคือ 11 ใบ คิดเป็นร้อยละ 36.67 ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 175.46 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.5) และเมื่อนำข้อมูลจำนวนการเกิดแคลลัส และความเข้มข้นของ 2,4-D มาสร้างกราฟจะแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดแคลลัส ที่ 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.7)

ตารางที่ 4.5 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวตาฮิติ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนชิ้นใบที่เพาะเลี้ยง	จำนวนชิ้นใบที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0	30	0	0
0.5	30	7 (23.33)	182.49
1	30	11 (36.67)	175.46
2	30	4 (13.33)	22.40
3	30	3 (10.00)	53.82
5	30	0	0

หมายเหตุ สำหรับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนการเกิดแคลลัสเป็น 0 เป็นเพราะชิ้นใบบางส่วนไม่มีการเปลี่ยนแปลง บางส่วนตาย และบางส่วนมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดแคลลัสของมะนาวตาฮิติ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

รูปที่ 4.8 (ก- ฉ) แสดงการเจริญของแคลลัสของมะนาวตาฮิติ บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อ

4.3.1 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide

จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญ BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนข้อที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้ BA มีอัตราการเกิดยอดสูงกว่า TDZ และ *m*T โดย BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มมีการเกิดยอดตั้งแต่สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยง มีจำนวนข้อที่เกิดยอดสูงที่สุด คือ 5 จาก 20 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 25.00 จำนวนยอด 9 ยอด คิดเป็นร้อยละ 45.00 ความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.68 มิลลิเมตร ใบมีลักษณะเรียว ปลายใบมน ไม่มีการเกิดแคลลัสและราก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นาตยา (2538) ที่ได้ทำเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะกรูด มะนาว และส้มเขียวหวาน พบว่า สูตรอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดสูงที่สุดเช่นเดียวกัน การเพาะเลี้ยงโดยใช้ TDZ ในอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนข้อที่เกิดยอด 2 จาก 10 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 20.00 จำนวนยอด 2 ยอด คิดเป็นร้อยละ 20.00 เท่ากัน แต่อาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ มีความยาวยอดเฉลี่ย 6.18 มิลลิเมตร ซึ่งยาวกว่าที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขวดอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ใบที่เกิดมีลักษณะใบเรียว ปลายใบมน เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ ใบจะเริ่มเหี่ยวและร่วงบนผิวอาหาร แต่หลังจากสัปดาห์ที่ 6 ได้มีการสร้างใบใหม่ขึ้นมาทดแทนใบที่ร่วง ในขณะที่อาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้นอื่นๆ มีจำนวนการเกิดยอดที่ต่ำ ใบที่เกิดมีลักษณะเรียว ปลายใบแหลม และเกิดจากส่วนที่เป็นแคลลัสที่เกิดรอบข้ออีกทีหนึ่ง โดย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสสูงที่สุดถึง 4 จาก 10 ข้อ มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 156.31 ลูกบาศก์มิลลิเมตร โดยแคลลัสจะเริ่มเกิดที่สัปดาห์ที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง (รูปที่ 4.10) ส่วนชิ้นส่วนข้อที่ทำการเพาะเลี้ยงโดย *m*T มีการเกิดยอดตั้งแต่สัปดาห์แรกที่ทำการเพาะเลี้ยง ใบมีลักษณะเรียว ปลายใบมน โดยมีการเกิดยอดเพียงความเข้มข้นเดียว คือ ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนข้อที่เกิดยอด คือ 1 จาก 10 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 10.00 จำนวนยอด 1 ยอด คิดเป็นร้อยละ 10.00 มีความยาวยอดเฉลี่ย 2.26 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.6) และเมื่อนำข้อมูลจำนวนการเกิดยอด (ร้อยละ) และความเข้มข้นของ BA TDZ และ *m*T มาสร้างกราฟ จะแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากขึ้น (รูปที่ 4.9)

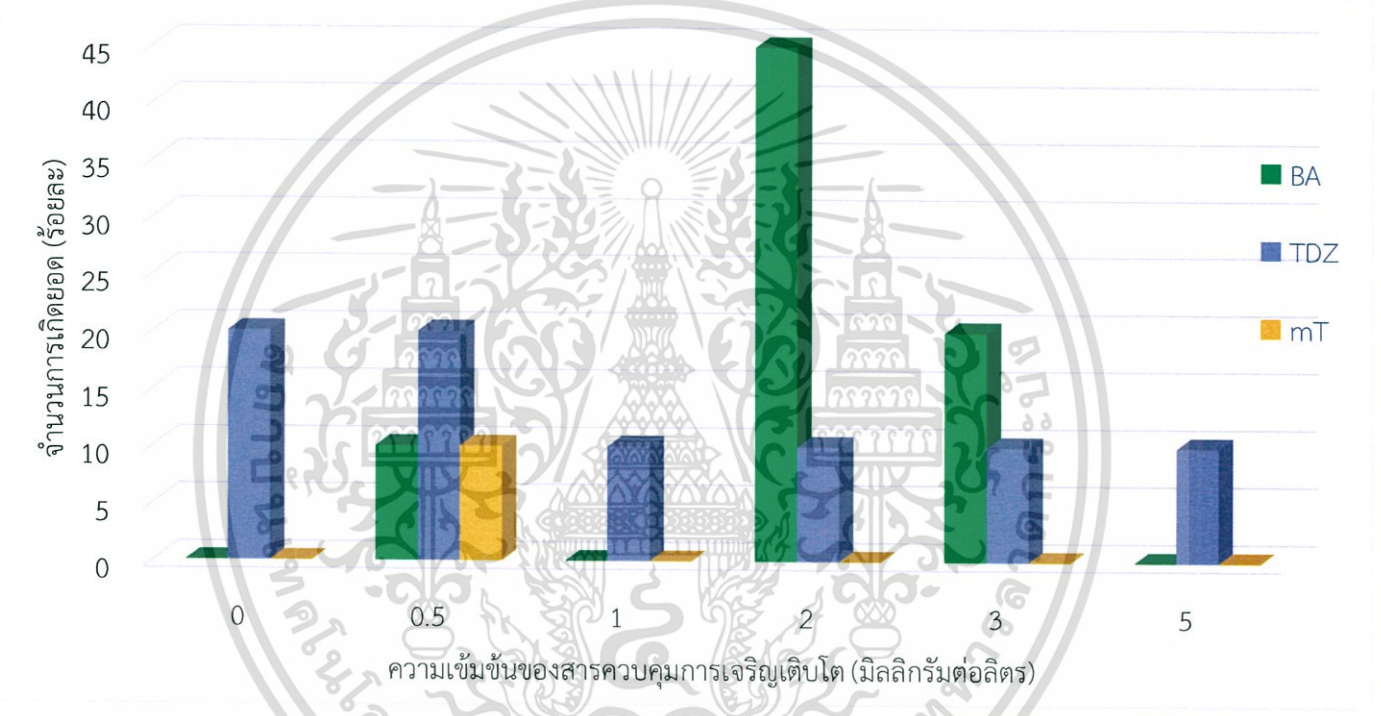
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

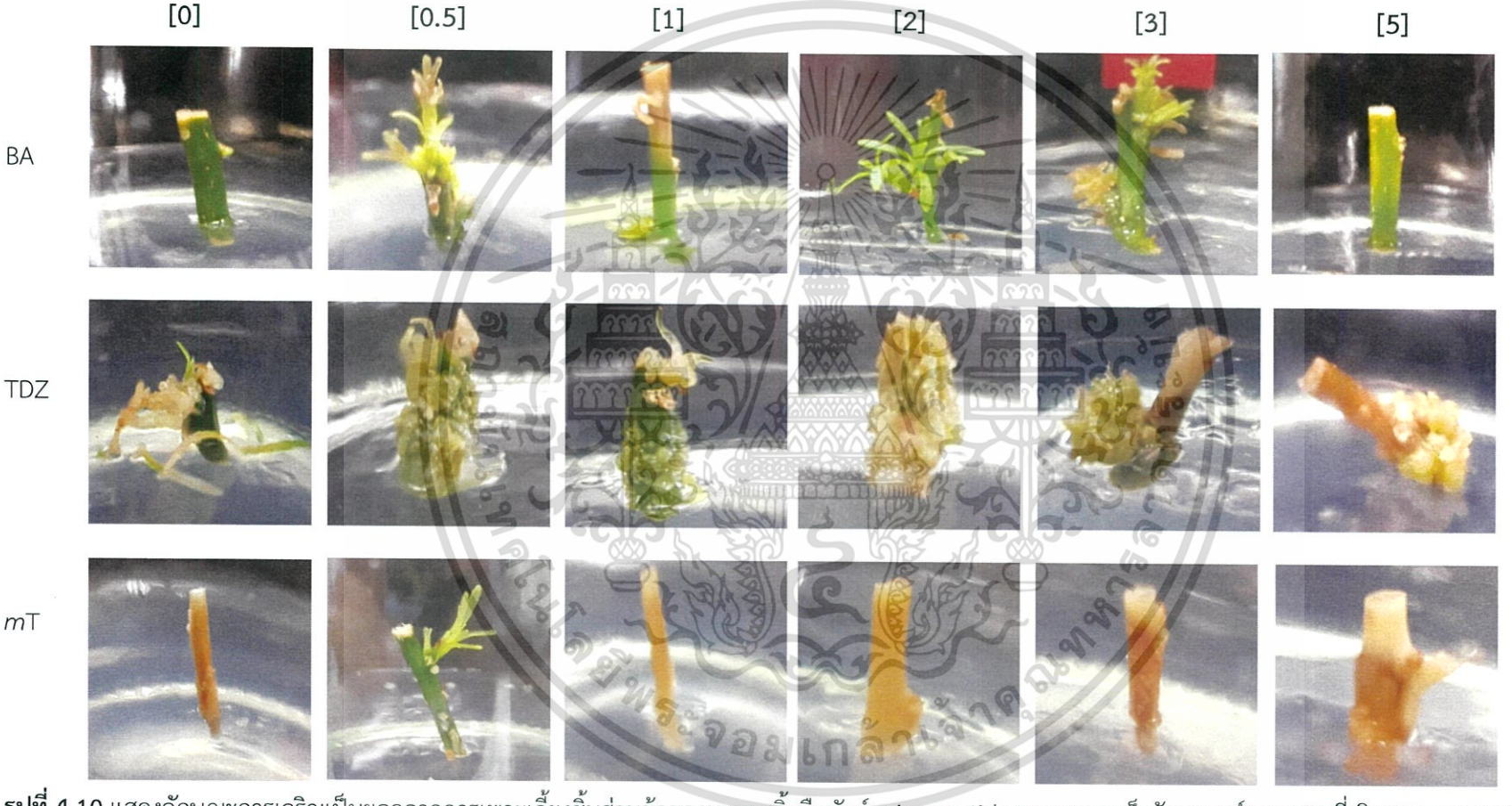
ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			จำนวนข้อที่เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	จำนวนการเกิดยอด (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยความยาวยอด (มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
BA	TDZ	*m*T						
0	-	-	20	0	0	0	0	0
0.5	-	-	20	2 (10.00)	2 (10.00)	2.55	0	0
1	-	-	20	0	0	0	0	0
2	-	-	20	5 (25.00)	9 (45.00)	2.68	0	0
3	-	-	20	1 (5.00)	4 (20.00)	5.78	0	0
5	-	-	20	0	0	0	0	0
-	0	-	10	2 (20.00)	2 (20.00)	6.18	0	0
-	0.5	-	10	2 (20.00)	2 (20.00)	2.32	1 (10.00)	215.53
-	1	-	10	1 (10.00)	1 (10.00)	3.13	4 (40.00)	156.31
-	2	-	10	1 (10.00)	1 (10.00)	1.55	1 (10.00)	316.31
-	3	-	10	1 (10.00)	1 (10.00)	2.46	1 (10.00)	241.71
-	5	-	10	1 (10.00)	1 (10.00)	2.84	2 (20.00)	111.22
-	-	0	10	0	0	0	0	0
-	-	0.5	10	1 (10.00)	1 (10.00)	2.26	0	0
-	-	1	10	0	0	0	0	0
-	-	2	10	0	0	0	0	0
-	-	3	10	0	0	0	0	0
-	-	5	10	0	0	0	0	0

หมายเหตุ สำหรับชิ้นส่วนข้อที่ไม่เกิดเป็นยอดเป็นเพราะ บางส่วนไม่มีการเปลี่ยนแปลง บางส่วนตาย และบางส่วนมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide ที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA TDZ และ *m*T เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ



รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะการเจริญเป็นยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

4.3.2 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนของข้อมะนาวแป้นแม่ลูกดก

จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญ BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนข้อที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนข้อที่เกิดยอดสูงที่สุด คือ 2 จาก 10 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 20.00 มีจำนวนยอด 6 ยอด คิดเป็นร้อยละ 60.00 มีความยาวยอดเฉลี่ย 4.73 มิลลิเมตร โดยชิ้นส่วนข้อเริ่มเกิดเป็นยอดที่สัปดาห์ที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง มีการเกิดยอดหลายยอดจากข้อเดียว ใบที่เกิดเป็นใบขนาดเล็ก เรียวแหลม และมีการเกิดแคลลัสบนอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA จำนวน 1 จาก 10 ข้อ ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 28.93 ลูกบาศก์มิลลิเมตร โดยแคลลัสจะเริ่มเกิดเป็นก้อนเล็กๆ ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ในการเพาะเลี้ยงโดยใช้ TDZ ไม่มียอดเกิดขึ้นในทุกความเข้มข้น แต่มีการเกิดแคลลัสในช่วงสัปดาห์ที่ 6 ในอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ จำนวน 1 จาก 10 ข้อ มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 9.50 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (รูปที่ 4.12) ส่วนชิ้นส่วนข้อที่ทำการเพาะเลี้ยงโดย *m*T เริ่มมีการเกิดเป็นใบตั้งแต่สัปดาห์แรกที่ทำการเพาะเลี้ยง และเกิดเป็นใบที่สมบูรณ์ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ในอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และขวดที่มีการเติม *m*T ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดหลายยอด มีจำนวนข้อที่เกิดยอดสูงที่สุด คือ 2 จาก 10 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 20.00 มีจำนวนยอด 4 ยอด คิดเป็นร้อยละ 40.00 เท่ากัน แต่มีความยาวยอดเฉลี่ยต่างกัน โดยอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต *mT* มีความยาวยอดเฉลี่ย 6.68 มิลลิเมตร ซึ่งสูงกว่าอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความยาวยอดเฉลี่ย 3.96 มิลลิเมตร อาหารที่ความเข้มข้น 1 2 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสที่สัปดาห์ที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง จำนวน 1 จาก 10 ข้อ มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 8.93 14.76 และ 8.62 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7) และเมื่อนำข้อมูลจำนวนการเกิดยอด (ร้อยละ) และความเข้มข้นของ BA TDZ และ *m*T มาสร้างกราฟ จะแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากขึ้น (รูปที่ 4.11)

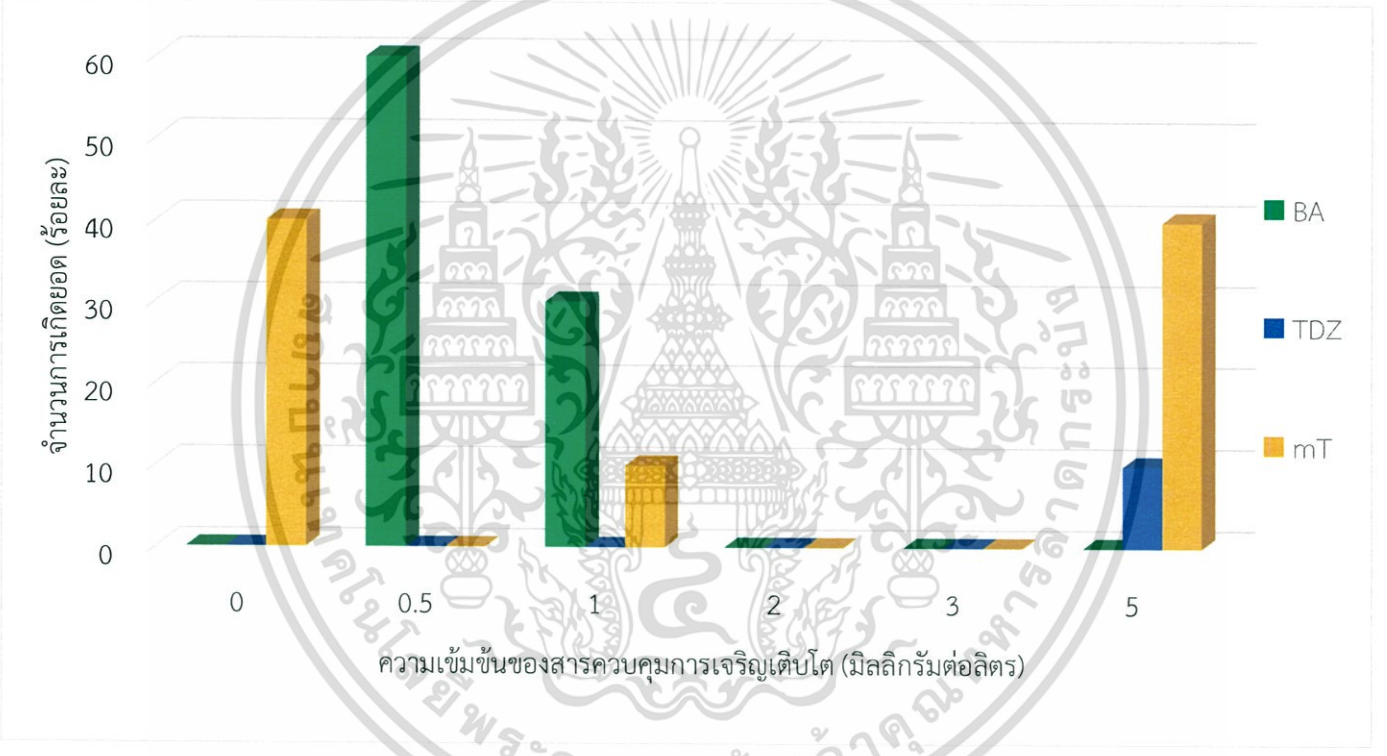
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวแม่ลูกดก ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

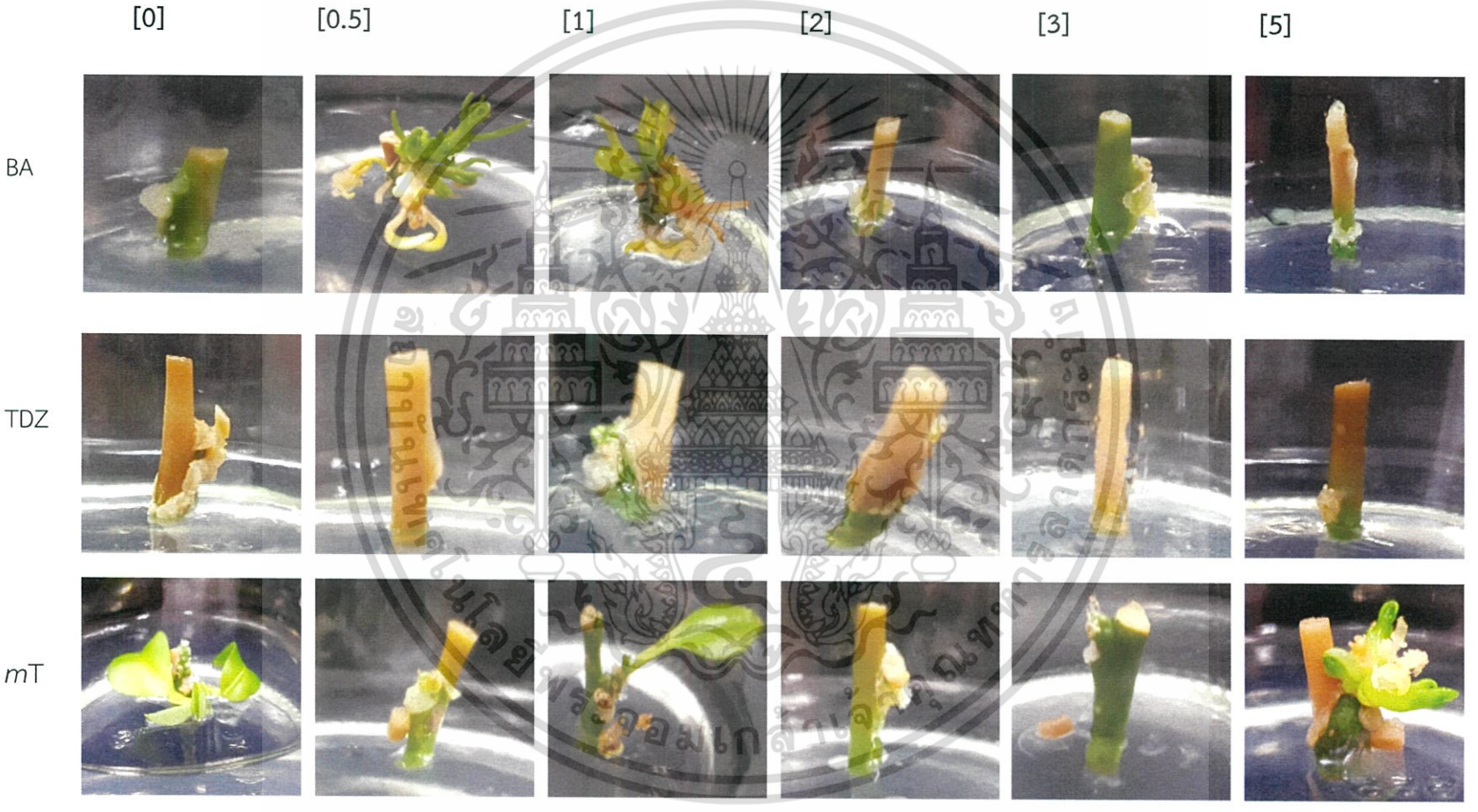
ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			จำนวนข้อที่เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	จำนวนการเกิดยอด (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยความยาวยอด (มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
BA	TDZ	*m*T						
0	-	-	10	0	0	0	1 (10.00)	28.93
0.5	-	-	10	2 (20.00)	6 (60.00)	4.73	0	0
1	-	-	10	1 (10.00)	3 (30.00)	4.74	0	0
2	-	-	10	0	0	0	0	0
3	-	-	10	0	0	0	0	0
5	-	-	10	0	0	0	0	0
-	0	-	10	0	0	0	1 (10.00)	9.50
-	0.5	-	10	0	0	0	0	0
-	1	-	10	0	0	0	0	0
-	2	-	10	0	0	0	0	0
-	3	-	10	0	0	0	0	0
-	5	-	10	0	0	0	0	0
-	-	0	10	2 (20.00)	4 (40.00)	6.68	0	0
-	-	0.5	10	0	0	0	0	0
-	-	1	10	1 (10.00)	1 (10.00)	10.69	1 (10.00)	8.93
-	-	2	10	0	0	0	1 (10.00)	14.76
-	-	3	10	0	0	0	0	0
-	-	5	10	2 (20.00)	4 (40.00)	3.96	1 (10.00)	8.62

หมายเหตุ สำหรับชิ้นส่วนข้อที่ไม่เกิดเป็นยอดเป็นเพราะ บางส่วนไม่มีการเปลี่ยนแปลง บางส่วนตาย และบางส่วนมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นมะนาวแป้นแม่ลูกดก ที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA TDZ และ *m*T เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ



รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะการเจริญเป็นยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวแม่ลูกดก บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

4.3.3 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนของข้อมะนาวแป้นสุขประเสริฐ

จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญ BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนข้อที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้ *m*T เริ่มมีการเกิดยอดที่สัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีอัตราการเกิดยอดสูงกว่า BA และ TDZ โดย *m*T ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนข้อที่เกิดยอด คือ 1 จาก 10 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 10.00 เท่ากัน แต่ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดสูงกว่า คือ 2 ยอด คิดเป็นร้อยละ 20 มีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 5.32 มิลลิเมตร ใบที่เกิดจากยอดมีลักษณะเล็กเรียวแหลม ส่วนที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสมากที่สุด คือ 4 จาก 10 ข้อ ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 15.87 ลูกบาศก์เมตร โดยแคลลัสที่เกิดนั้นเริ่มเกิดตั้งแต่สัปดาห์แรกที่ทำการเพาะเลี้ยง ส่วนอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีการเกิดทั้งยอดและแคลลัส ในขณะที่การเพาะเลี้ยงโดยใช้ BA ไม่มีการเกิดยอดในทุกความเข้มข้น แต่มีการเกิดแคลลัสตั้งแต่สัปดาห์แรกที่ทำการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกัน โดยจำนวนข้อที่เกิดแคลลัส คือ 1 จาก 10 ข้อ ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 7.32 ลูกบาสก์มิลลิเมตร ในอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนชิ้นส่วนข้อที่ทำการเพาะเลี้ยงโดย TDZ มีการเกิดยอดเพียงความเข้มข้นเดียว คือ ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนข้อที่เกิดยอด คือ 1 จาก 10 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 10 มีความยาวยอดเฉลี่ย 1.37 มิลลิเมตร โดยยอดที่เกิดจะเริ่มเกิดที่สัปดาห์ที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 4.8) และที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีการเกิดยอดแต่มีการเกิดเป็นแคลลัสตั้งแต่สัปดาห์แรกที่ทำการเพาะเลี้ยง โดยมีจำนวนข้อที่เกิดแคลลัสคือ คือ 5 จาก 10 ข้อ ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 34.17 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (รูปที่ 4.14) และเมื่อนำข้อมูลจำนวนการเกิดยอด (ร้อยละ) และความเข้มข้นของ BA TDZ และ *m*T มาสร้างกราฟจะแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากขึ้น (รูปที่ 4.13)

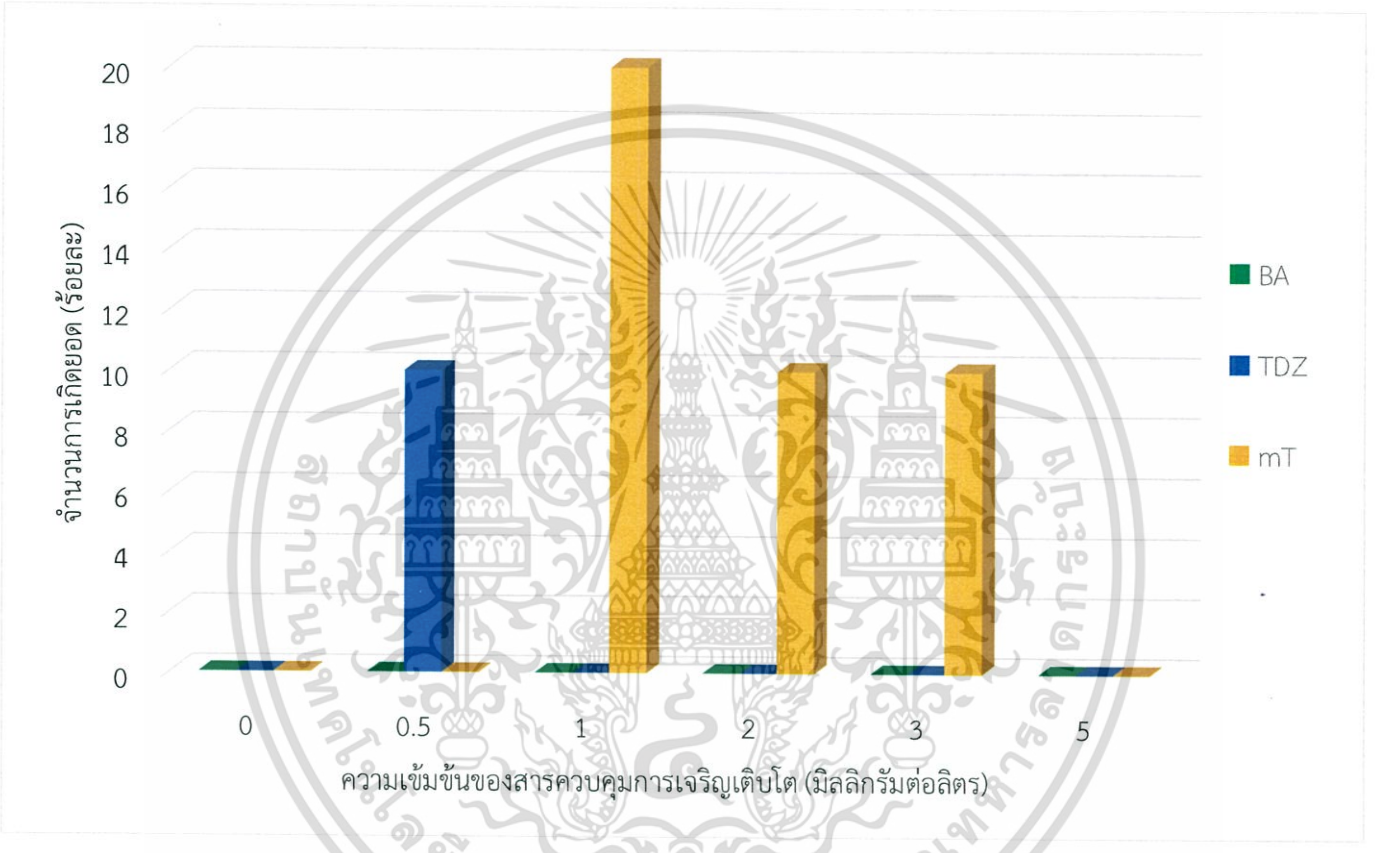
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

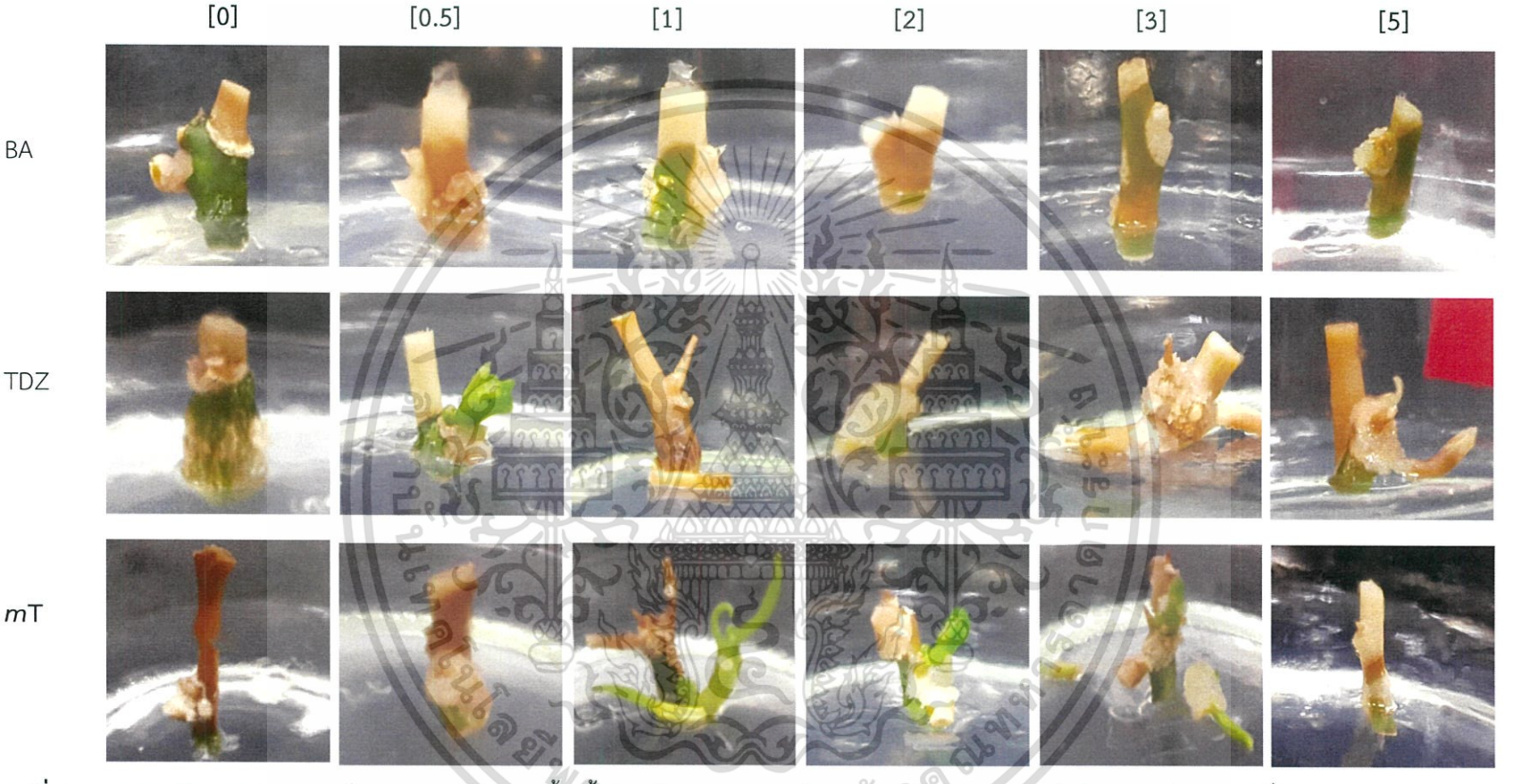
ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			จำนวนข้อที่เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	จำนวนการเกิดยอด (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยความยาวยอด (มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
BA	TDZ	*m*T						
0	-	-	10	0	0	0	1 (10.00)	7.32
0.5	-	-	10	0	0	0	0	0
1	-	-	10	0	0	0	0	0
2	-	-	10	0	0	0	0	0
3	-	-	10	0	0	0	0	0
5	-	-	10	0	0	0	0	0
-	0	-	10	0	0	0	0	0
-	0.5	-	10	1 (10.00)	1 (10.00)	1.37	2 (20.00)	7.45
-	1	-	10	0	0	0	0	0
-	2	-	10	0	0	0	4 (40.00)	24.78
-	3	-	10	0	0	0	5 (50.00)	34.17
-	5	-	10	0	0	0	2 (20.00)	12.48
-	-	0	10	0	0	0	0	0
-	-	0.5	10	0	0	0	3 (30.00)	23.11
-	-	1	10	1 (10.00)	2 (20.00)	5.32	0	0
-	-	2	10	1 (10.00)	1 (10.00)	2.65	4 (40.00)	15.87
-	-	3	10	1 (10.00)	1 (10.00)	1.33	3 (30.00)	17.57
-	-	5	10	0	0	0	0	0

หมายเหตุ สำหรับชิ้นส่วนข้อที่ไม่เกิดเป็นยอดเป็นเพราะ บางส่วนไม่มีการเปลี่ยนแปลง บางส่วนตาย และบางส่วนมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ ที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA TDZ และ *m*T เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ



รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะการเจริญเป็นยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวแป้นสุขประเสริฐ บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

4.3.4 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนของข้อมะนาวตาฮิติ

จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนข้อที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้ BA มีอัตราการเกิดยอดสูงกว่า TDZ โดย BA ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนข้อที่เกิดยอดเท่ากัน คือ 1 จาก 10 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 10.00 แต่ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดสูงกว่า คือ 2 ยอด คิดเป็นร้อยละ 20.00 มีความยาวยอดเฉลี่ย 3.09 มิลลิเมตร โดยยอดที่เกิดจะเริ่มเกิดที่สัปดาห์ที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง ใบมีลักษณะเรียวแหลม และในอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เริ่มมีการเกิดเป็นแคลลัสที่บริเวนณโคนข้อตั้งแต่สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยง และไม่มีการเกิดยอด มีจำนวนการเกิดแคลลัส 2 จาก 10 ข้อ ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 16.85 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ส่วนการเพาะเลี้ยงโดยใช้ TDZ มีการเกิดยอดที่สัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนการเกิดยอด คือ 1 จาก 10 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 10.00 จำนวนยอด 2 ยอด คิดเป็นร้อยละ 20.00 มีความยาวยอดเฉลี่ย 2.56 มิลลิเมตร เกิดเป็นแคลลัส 2 จาก 10 ข้อ ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 10.71 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.9) และมีการเกิดแคลลัสในช่วงสัปดาห์ที่ 2 ในอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 4 จาก 10 ข้อ มีปริมาตรแคลลัสใหญ่ที่สุดคือ 18.85 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (รูปที่ 4.16) และเมื่อนำข้อมูลจำนวนการเกิดยอด (ร้อยละ) และความเข้มข้นของ BA และ TDZ มาสร้างกราฟ จะแสดงให้เห็นการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอด ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 4.15)

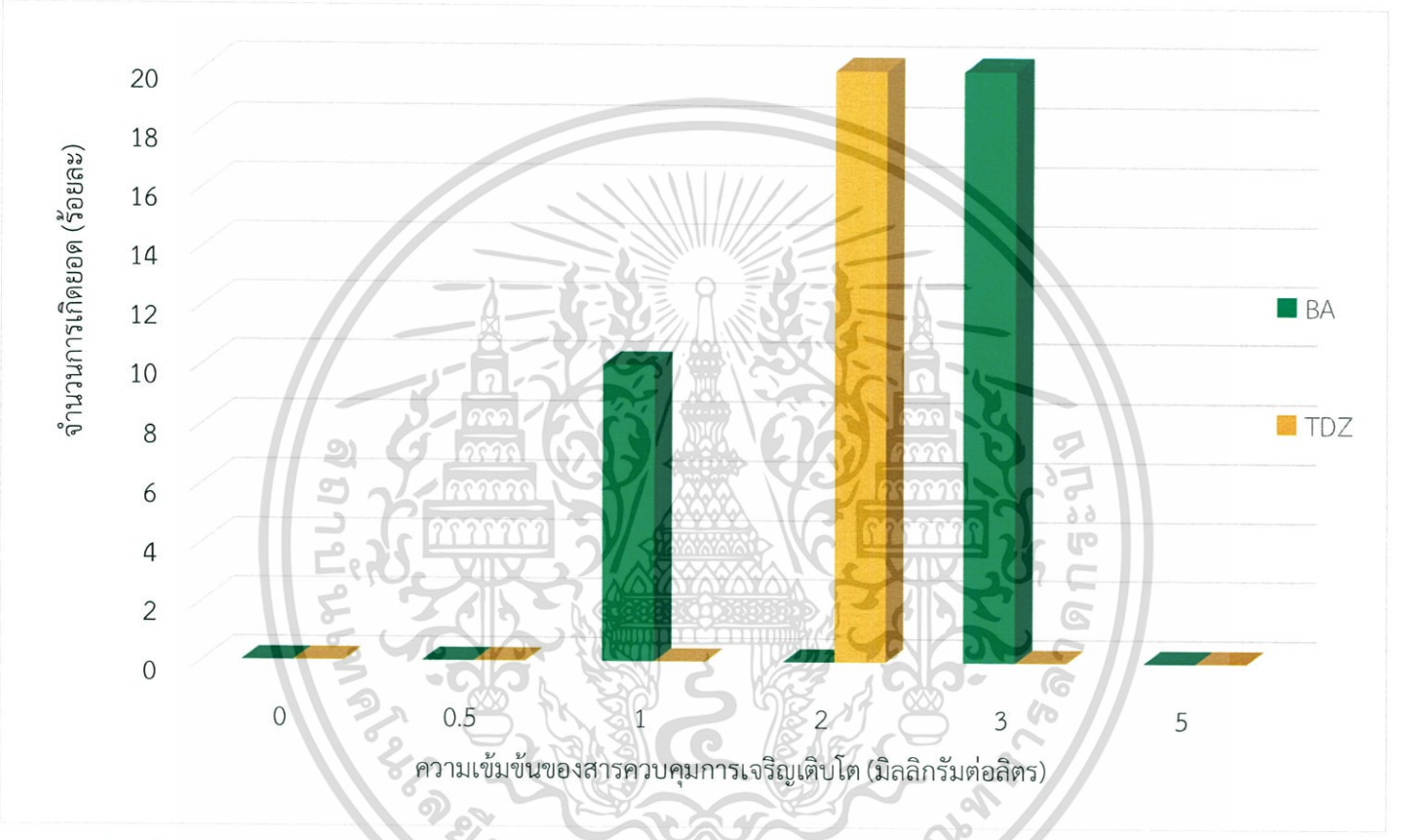
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวตาฮิติ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

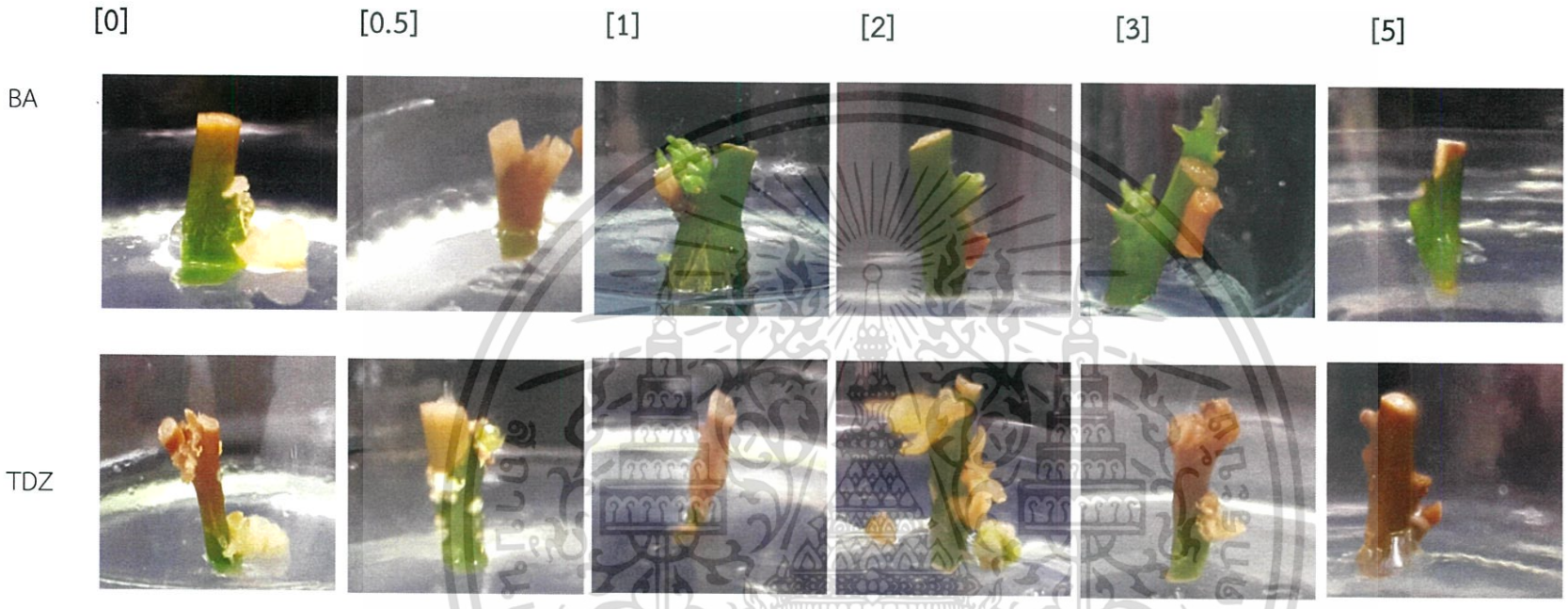
ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนข้อที่เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	จำนวนการเกิดยอด (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยความยาวยอด (มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
BA	TDZ						
0	-	10	0	0	0	2 (20.00)	16.85
0.5	-	10	0	0	0	0	0
1	-	10	1 (10.00)	1 (10.00)	3.96	0	0
2	-	10	0	0	0	0	0
3	-	10	1 (10.00)	2 (20.00)	3.09	0	0
5	-	10	0	0	0	0	0
-	0	10	0	0	0	4 (40.00)	18.85
-	0.5	10	0	0	0	0	0
-	1	10	0	0	0	0	0
-	2	10	1 (10.00)	2 (20.00)	2.56	2 (20.00)	10.71
-	3	10	0	0	0	0	0
-	5	10	0	0	0	0	0

หมายเหตุ สำหรับชิ้นส่วนข้อที่ไม่เกิดเป็นยอดเป็นเพราะ บางส่วนไม่มีการเปลี่ยนแปลง บางส่วนตาย และบางส่วนมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 กราฟแสดงการเปรียบเทียบจำนวนการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นมะนาวตาฮิติ ที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA และ TDZ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะการเจริญเป็นยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมะนาวตาฮิติ บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาเวลาในการฟอกที่เหมาะสมสำหรับฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบและข้อของมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide มะนาวแป้นแม่ลูกดก มะนาวแป้นสุขประเสริฐ และมะนาวตาฮิติ พบว่าการล้างชิ้นส่วนข้อและใบให้สะอาด นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 ก่อนจะนำมาฟอกด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ เข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ละลายอยู่ในน้ำที่ปราศจากเชื้อปริมาตร 80 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำที่ปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง เป็นสภาวะที่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด

จากการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide มะนาวแป้นแม่ลูกดก มะนาวแป้นสุขประเสริฐ และมะนาวตาฮิติ ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนใบของมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide และ มะนาวแป้นสุขประเสริฐ มีจำนวนการเกิดแคลลัสสูงสุดที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนใบของมะนาวแป้นแม่ลูกดก ที่ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนการเกิดแคลลัสสูงที่สุด แต่ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยที่ใหญ่กว่า ส่วนมะนาวตาฮิติ มีจำนวนการเกิดแคลลัสสูงสุดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของมะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide มะนาวแป้นแม่ลูกดก มะนาวแป้นสุขประเสริฐ และมะนาวตาฮิติ ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA TDZ และ *m*T ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนข้อของมะนาวแต่ละสายพันธุ์มีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต่างกันออกไปในแต่ละความเข้มข้น โดยอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มะนาวแม่ลูกดก มะนาวนิ้วมือพันธุ์ crimson tide มะนาวตาฮิติ เกิดยอดได้สูงสุด ตามลำดับ เมื่อเทียบกับ *m*T และ TDZ ส่วนมะนาวแป้นสุขประเสริฐที่เพาะเลี้ยงโดยใช้ *m*T ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเกิดยอดสูงที่สุดเมื่อเทียบกับ BA และ TDZ

5.2 ข้อเสนอแนะ

เพื่อให้ได้ต้นที่สมบูรณ์ ในอนาคตควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่สามารถชักนำยอดให้เกิดราก และชักนำแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้นใหม่ เพื่อให้ได้ต้นที่สมบูรณ์สำหรับออกปลูกต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เกษตร. 2559. "**มะนาวแม่ลูกดก**" กับที่มาพันธุ์ปลูกคุ้ม. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก. https://www.thairath.co.th/content/580708. [16 มิถุนายน 2017]

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2535. **เกษตรผสมผสาน ฉบับมะนาวหน้าแล้ง**. ภาควิชาจุลชีววิทยา,คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 74 หน้า.

นาตยา มนตรี. 2539. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะกรูด มะนาว และส้มเขียวหวาน**. ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 20 หน้า

มานะ แป้นวงษ์. 2557. **เทคนิคการผลิตมะนาวนอกฤดู**. สำนักพิมพ์เกษตรสยามบุ๊คส์. กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

มงคล แซ่หลิม. 2535. **การผลิตส้ม**. สงขลา : คณะทรัพยากรธรรมชาติวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

รังสฤษฏ์ กาวีต๊ะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ: หลักการและเทคนิค**. กรุงเทพฯ:ภาควิชาพืชไรนา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 219.

สมเจตต์ พิมพ์ทอง. 2558. **มะนาว'คาเวียร์'พืชทำเงินตัวใหม่รสเปรี้ยว-ใช้ปรุงอาหารหรู**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก. http://www.komchadluek.net/news/lifestyle/202441. [19 มิถุนายน 2017].

เศกศักดิ์ หุ่นสอาด. 2559. **มะนาวนิ้วมือ ปลูกก่อน รวยก่อน**. เอ็นดูเคชั่น ไมน์ด ไลน์ มัลติมีเดีย. กรุงเทพฯ. 144 หน้า.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. สถาบันราชภัฏอุดรธานี, อุดรธานี. 187 หน้า.

ศุภกิจ แก้วถนอม. 2540. **การปลูกมะนาว**. สำนักพิมพ์อักษรสยามการพิมพ์. กรุงเทพฯ.

หลวงบุเรศบำรุงการ. 2519. **การทำไร่ส้ม**. สมาคมพฤกษชาติแห่งประเทศไทย. สำนักพิมพ์แพร่พิทยาคม. กรุงเทพฯ. 155 หน้า.

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2550. **ปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืช**. โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 102 น.

อภิชาต ศรีสอาดและคณะ. 2557. **มะนาวปลอดโรคด้วยสารเคมี & ชีวภาพ...ฉบับชาวบ้าน**. สำนักพิมพ์นาคาอินเตอร์มีเดีย. กรุงเทพฯ. 136 หน้า.

Costa M.G.C. Alves V.S. Garcia E. and Otoni W. 2003. "Morphogenic gradients of adventitious bud and shoot regeneration in epicotyl explant of Citrus". *Scientia Horticulture*. 100 (1-4): 63-74.

Eng W.H. Aziz M.A. Sinniah U.R. 2015. In vitro regeneration of Citrus hystrix DC. Braz. J. Bot 38(2):235-242.

Marques N.T. Nolasco G.B. and Leitao J.P. 2011. "Factor affecting in vitro adventitious shoot formation on internode explant of Citrus aurantium L. cv. Brazilian". *Scientia Horticulturae* 129(2): 176-182.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Savita. Singh B. and Virk singh G. 2011. "An efficient plant regeneration protocol from callus cultures of Citrus of jambhiri Lush". *Physiol Mol Biol Plant*. 17(2): 161-169.

Tao H. Shaolin P. Dong G. and Gengguang L. 2001. "Plant regeneration from leaf-derived callus in Citrus grandis (pummelo): Effects of auxins in callus induction medium". *Plant Cell Tissue and Organ Culture69*. 69(2): 141-146.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางผนวก องค์ประกอบธาตุสังเคราะห์สูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962)

ชื่อสารเคมี	มิลลิกรัมต่อลิตร
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_47H_2O$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3	6.2
$MnSo_4.4H_2O$	6.9
$ZnSO_4.4H_2O$	6.14
KI	0.83
$NaMoO_4.2H_2O$	0.25
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Na_2EDTA	0.025
$FeSO_4.H_2O$	37.25
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
Glycine	2
Myo – inositol	100
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine – HCl	0.5
Thiamine – HCl	0.1
Sucrose	30,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้