ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนข้อ ก้านใบ และชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลัง

Callus Induction from Node, Petiole and Young Leaf Culture of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.).

โดย

นางสาวนิตยา รักษ์คิด

นางสาวยุภาพร บุญอาจ

ได้รับความเห็นชอบโดย

.....

(อาจารย์อรอุมา รุ่งน้อย)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ปพ
ม5ฑก
2542

16980

5 - ก.ย. 254

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผศ.ดร. ฉมยศ เดชดิรัตนมงคล)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ เดือน พ.ศ. 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

T100653

เรื่อง

การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนข้อ ก้านใบ และชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลัง

Callus Induction from Node, Petiole and Young Leaf Culture of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.).

โดย

นางสาวนิตยา รักษ์คิด

นางสาวยุภาพร บุญอาจ

สาขาวิชาพืชไร่

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ฟพ.
น577ก
2542
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....100653
วัน,เดือน,ปี.....

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์อรอุมา รุ่งน้อย

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้ากราบขอบพระคุณ อาจารย์อรอุมา รุ่งน้อย ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่ได้กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือ แก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆ ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอบพระคุณศูนย์วิจัยพืชไร่ระยองที่ให้ความกรุณาเอื้อเฟื้อท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง1 ระยอง 60 ระยอง 90 เกษตรศาสตร์ 50 และขอขอบพระคุณเกษตรกรชาวลาดกระบัง ที่เอื้อเฟื้อท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ห้านาทีเพื่อใช้ในการศึกษา

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไร่ เจ้าหน้าที่เรือนเพาะชำพืชไร่ ที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา จนปัญหาพิเศษสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่กรุณาให้กำลังใจและทุนทรัพย์ในการศึกษาเป็นอย่างดียิ่งตลอดมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ ก้านใบ และชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ระยอง 60 ระยอง 90 เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที ที่ใช้ 2,4-D (dichlorophenoxyacetic acid) NAA (naphthalenacetic acid) หรือ BA (N_6-bezyladenine) ร่วมกับ NAA นั้น พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ บนอาหารสูตร MS (Murashige and Skooge, 1962) เติม 2,4-D เข้มข้น 0.1, 1, 2, 4 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในทุกระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ใช้ และทุกพันธุ์ที่ทำการทดลอง สำหรับการใช้ NAA เข้มข้น 0.5, 1, 2, 5,10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ในทุกพันธุ์จะเห็นได้ว่าระหว่างการใช้ 2,4-D และ NAA นั้น 2,4-D ให้ผลดีกว่า NAA โดยเฉพาะในพันธุ์ระยอง 60 ส่วนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5, 1, 2, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นให้ผลดีสุดเมื่อใช้ BA ร่วมกับ NAA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในมันสำปะหลังทุกพันธุ์ที่ทำการทดลอง ในขณะที่การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบได้ผลดีในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ซึ่งให้ผลดีเช่นเดียวกับการใช้ NAA ในทุกระดับความเข้มข้น และในอาหารที่เติม NAA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในทุกพันธุ์ที่ทำการทดลอง และจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 1.8, 2.7 และ 3.6 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 รองลงมาคือ พันธุ์ระยอง 90 ระยอง 60 และระยอง 1 ตามลำดับ ในทุกระดับความเข้มข้นของ 2,4-D

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(1)
สารบัญภาพ	(2)
คำนำ	(4)
ตรวจเอกสาร	1
วัตถุประสงค์	10
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	11
ผลการทดลอง	15
วิจารณ์ผลการทดลอง	27
สรุปผลการทดลอง	29
เอกสารอ้างอิง	30
ภาคผนวก	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ลักษณะประจำพันธุ์ของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1, ระยอง 60, ระยอง 90, เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที	4
ตารางที่ 2 ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร) จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลัง 4 พันธุ์ ในอาหารสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D, NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	17
ตารางที่ 3 ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร) จากการเพาะเลี้ยงชิ้นก้านใบของมันสำปะหลัง 4 พันธุ์ ในอาหารสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D, NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	19
ตารางที่ 4 ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร) จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของมันสำปะหลัง 4 พันธุ์ ในอาหารสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

รูปภาพที่ 1 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 21

รูปภาพที่ 2 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 21

รูปภาพที่ 3 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ห้านาที ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 22

รูปภาพที่ 4 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 22

รูปภาพที่ 5 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 60 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 23

รูปภาพที่ 6 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 23

รูปภาพที่ 7 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ห้านาที ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 24

รูปภาพที่ 8 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาพที่ 9 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA 25

รูปภาพที่ 10 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ห้านาที ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA 25

รูปภาพที่ 11การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA 26

รูปภาพที่ 12 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 60 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz.) จัดเป็นพืชอาหารพวกแป้ง หรือพืชอาหารที่ให้พลังงาน ปลูกกันอยู่ทั่วไปในเขตร้อนของโลก เป็นพืชที่ปลูกง่าย ใช้ปัจจัยในการผลิตน้อย สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในภูมิภาคต่างๆของประเทศไทยได้เป็นอย่างดี สามารถขึ้นได้ดีในบริเวณดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำที่พืชไร่ชนิดอื่นไม่สามารถขึ้นได้ทนทานต่อสภาพแล้งได้ดี ปลูกได้ทั้งปี ดูแลรักษาง่ายและราคาค่อนข้างดีจึงทำให้เกษตรกรปลูกกันอย่างแพร่หลาย (สมชศ, 2534) นอกจากนี้มันสำปะหลังยังเป็นพืชที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ และมีประโยชน์มากมายหลายด้าน มันสำปะหลังเป็นพืชที่ขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนของลำต้นทำให้อัตราการขยายพันธุ์ค่อนข้างต่ำกว่าการใช้เมล็ด โดยที่ต้นที่เกิดจากเมล็ดอาจจะมีลักษณะที่ไม่เหมือนพ่อแม่ทั้งหมดเนื่องจากว่ามันสำปะหลังเป็นพืชผสมข้าม ส่วนการขยายพันธุ์ที่ใช้ส่วนของลำต้นทำให้ได้สายพันธุ์หรือพันธุ์ที่มีความสม่ำเสมอ และตรงตามพันธุ์ แต่ในขณะเดียวกันการเก็บรวบรวมพันธุ์ในสภาพแปลงทดลองนั้นจะเกิดการสูญเสียบางพันธุ์ได้ (ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง, 2538) จึงได้มีการแนะนำวิธีการนเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ในมันสำปะหลังขึ้น และยังเป็นเทคนิคในการเก็บรักษาพันธุ์ในหลอดทดลองอีกด้วย การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชเป็นวิธีที่ง่าย สามารถขยายพันธุ์พืชได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น และคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนทานหรือสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี (รังสฤษฎ์, 2541) การนำชิ้นส่วน ปลายยอด ตาข้าง ก้านใบ และชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลังมาเลี้ยงในอาหารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ ภายในหลอดทดลองสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงเกิดแคลลัสได้ แคลลัสที่ได้นั้นมีโอกาสได้พืชต้นใหม่ที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสามารถนำไปใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป นอกจากนี้แล้วยังใช้แคลลัสเป็นแหล่งที่ใช้ในการศึกษาการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมในเทคโนโลยีพันธุวิศวกรรมต่อไปได้ในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

มันสำปะหลัง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* Crantz. เป็นพืชที่จัดอยู่ในตระกูล (family) Euphorbiaceae สกุล (genus) Manihot ชนิด (species) esculenta มันสำปะหลังเป็นพืชพื้นเมืองของทวีปอเมริกาแถบเส้นศูนย์สูตร มีการนำมาปลูกในเขตร้อนแถบอื่น ๆ จึงทำให้มีการปลูกมันสำปะหลังแพร่กระจายออกไปหลายพื้นที่ ดังนั้นชื่อที่ใช้เรียกมันสำปะหลังจึงแตกต่างกันออกไป เช่น Manioc, Mandioca, Tapioca, Yaco, Manihot และ Cassava เป็นต้น

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง

1. ระบบราก (root system)

ระบบรากของมันสำปะหลังเป็นแบบรากฝอย (fibrous root) รากที่จะเกิดเป็นหัว (tuberous root) เกิดจากการขยายตัวของ secondary root หัวของมันสำปะหลังมีรูปทรงกระบอกและรูปร่างยาวเรียว ตรงปลายแหลม หัวมีขนาดยาว 30-100 เซนติเมตร หรือมากกว่า มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4-12 เซนติเมตร สีของหัวมีตั้งแต่เทา น้ำตาล เหลือง และแดงเข้ม ผิวเรียบหรือบางทีขรุขระ มันสำปะหลัง 1 ต้น มีหัวประมาณ 10 หัว ซึ่งแต่ละหัวมีน้ำหนักประมาณ 500-2000 กรัม บางครั้งน้ำหนักของหัวมากที่สุดอาจถึง 15-20 กิโลกรัมต่อต้น

2. ลำต้น (stem)

ลำต้นเป็นรูปทรงกระบอก ตั้งตรงหรือเอียงเล็กน้อย แตกแขนงมีตามาก เป็นไม้เนื้ออ่อนแปราะและหลักง่าย ลำต้นมีสีน้ำตาลปนเขียว สีเลือดนก สีเงิน ผิวขรุขระหรือเรียบ เส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นประมาณ 2-7 เซนติเมตร การแตกแขนงของลำต้นขึ้นอยู่กับพันธุ์และการเขตกรรม พันธุ์ที่แตกแขนงน้อยจะมียอดที่แตกแขนงในบริเวณล่าง ๆ ของลำต้นและตรงกลางของ Main stem ส่วนพันธุ์ที่แตกแขนงมาก แขนงที่แตกออกจะมาอยู่บริเวณส่วนที่อยู่ด้านบนของ Main stem

3. ใบ (leaf)

ลักษณะใบมันสำปะหลังจะเกิดเวียนรอบลำต้นมีลักษณะคล้ายนิ้วมือ แผ่นใบจะมี 3-7 แฉก แต่ละแฉกด้านยาวจะยาวเป็น 3 เท่า ของด้านกว้าง ก้านใบยาว มีสีแดงอ่อน

4. ดอก (inflorescence)

ช่อดอกเป็นแบบ raceme สูงประมาณ 20 เซนติเมตร ดอกมีขนาดเล็ก สีเหลือง ใน 1 ช่อดอกประกอบด้วยดอก 3 ชนิด คือ ดอกสมบูรณ์เพศ (เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน) ดอกตัวผู้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และดอกตัวเมีย ดอกตัวผู้มี 10 stamen ส่วนดอกตัวเมียมีรังไข่ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 carpela ในช่อดอกหนึ่ง ๆ จะมีดอกตัวผู้ 200 ดอก และดอกตัวเมีย 20 ดอก มันสำปะหลังเป็นพืชผสมข้ามโดยส่วนใหญ่

5. ผล (fruit)

ผลมีลักษณะเป็นกระเปราะ (capsule) ภายในแบ่งออกเป็น 3 ช่อง จะแตกออกเมื่อผลแก่

6. เมล็ด (seed)

เมล็ดมันสำปะหลังมีลักษณะยาวรี ผิวเรียบ พื้นมีสีน้ำตาลและมีจุดสีเทาทั้งเมล็ด

7. องค์ประกอบทางเคมีในหัวมันสำปะหลัง (chemical component on cassava roots)

มันสำปะหลังประกอบไปด้วยน้ำ 55-70 เปอร์เซ็นต์ แป้ง 18-20 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 0.9-2.3 เปอร์เซ็นต์ หัวมันสำปะหลังเป็นแหล่งวิตามันซีที่สำคัญ (มันสำปะหลัง หนัก 100 กรัม มีวิตามินซีมากถึง 300-400 มิลลิกรัม) และเถ้า 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลังจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับช่วงอายุของการเจริญเติบโต

ในช่วงการเจริญเติบโตทางลำต้นมันสำปะหลังจะสร้างสารพวก faspolunatine glycoside ($C_{10}H_{17}O_5N$) ไว้ที่ทุกส่วนของมันสำปะหลังโดยเฉพาะเปลือกของมันสำปะหลังจะมีสารนี้สะสมอยู่มากที่สุด การนำมันสำปะหลังไปต้มสาร glycoside จะหายไปซึ่งสาร glycoside เป็นองค์ประกอบของสาร cyanic เมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำให้กรด hydrocyanic acid (HCN) ดังสมการ

$$C_{10}H_{17}O_5N + H_2O \longrightarrow HCN + C_6H_{12}O_6 + (CH_3)_2CO$$

ชนิดและพันธุ์มันสำปะหลัง (สมยศ, 2534)

มันสำปะหลังที่ปลูกกันในปัจจุบันมีอยู่ด้วยกัน 3 ชนิดคือ

1. มันสำปะหลังที่ใช้เป็นอาหารมนุษย์ เป็นมันสำปะหลังชนิดหวาน มีอายุสั้น 6-8 เดือน ก็สามารถเก็บเกี่ยวได้ มีกรดไฮโดรไซยานิคต่ำ ใช้หัวเป็นอาหารได้โดยตรงส่วนมากนำมาปิ้งแบบกล้วยปิ้ง เชื่อม ต้ม หรือทำขนมอื่น ๆ มันสำปะหลังชนิดนี้ได้แก่ พันธุ์ห้านาที หรือพันธุ์ญวน หรือพันธุ์สวน สังเกตได้ที่ก้านใบมีสีแดงเข้ม ต้นเล็ก หัวเล็ก ทั้งก้านและเปลือกของหัวขรุขระมีสีน้ำตาล นิยมปลูกตามรอยร่องสวนทั่ว ๆ ไป ส่วนอีกพันธุ์หนึ่งคือ พันธุ์ระยอง 2 ซึ่งกรมวิชาการเกษตรได้ปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมา ซึ่งใช้เป็นอาหารของมนุษย์เหมือนกัน

2. มันสำปะหลังที่ใช้หัวในอุตสาหกรรม เป็นมันสำปะหลังชนิดขม มีเปอร์เซ็นต์แป้งสูง กรดไฮโดรไซยานิคสูง มีรสขมไม่เหมาะแก่การบริโภค ปลูกใช้หัวทำแป้งมันหรือมันเส้นและอัดเม็ดใช้เลี้ยงสัตว์ หรือใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ มีอายุการเก็บเกี่ยว 10-14 เดือน ลักษณะพันธุ์ที่ปลูก คือ พันธุ์พื้นเมือง มีลักษณะมีลำต้นโต ก้านใบมีสีเขียวอ่อนปนแดง หัวเรียบใหญ่มีสีขาว และให้ผลผลิตสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฉลี่ย 3-5 ตันต่อไร่ แต่ถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสมอาจให้ผลผลิตสูงถึง 8-10 ตันต่อไร่ ปัจจุบันยังไม่มีพันธุ์ใดให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์พื้นเมือง หรือเรียกว่าพันธุ์ระยอง 1 นี้ แต่มีพันธุ์ระยอง 3 ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์แป้งในหัวสูง ส่วนผลผลิตใกล้เคียงกัน

3. พันธุ์ที่ใช้เป็นไม้ประดับ เรียกว่า "มันด่าง" นิยมปลูกเป็นไม้ประดับตามบ้าน พื้นใบมีสีเขียว โคนใบติดกับก้านใบมีแถบยาวสีขาว หรือเหลืองปนขาวไปหาปลายใบ แถบสีขาวนี้จะมีหัวท้ายเรียวและป่องตรงกลาง และใบบางครั้งแถบนี้จะกระจายเป็นริ้วเล็ก ๆ ในตอนกลางและปลายใบ

ประโยชน์ของมันสำปะหลัง

ประโยชน์มันสำปะหลังจำแนกออกได้ดังนี้

1. สามารถนำมาใช้เป็นอาหารของมนุษย์ โดยใช้เป็นอาหารหลักและอาหารเสริมถึง 95 เปอร์เซ็นต์ ของมันสำปะหลังที่ผลิตได้ในโลก โดยเฉพาะทวีปอาฟริกาและอเมริกา ได้ใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารหลัก

2. ใช้ในอุตสาหกรรมการทำแป้งและอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น แป้งมัน สาคู ขนมปัง สารเพิ่มความเหนียว พลาสติก ผงชูรส เป็นต้น

3. ใช้หมักทำแอลกอฮอล์ ยีสต์ เบียร์ และขนมปัง

4. ใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยทำเป็นมันเส้น (tapioca chip) มันอัดเม็ด (pollets) มันป่น (tapioca meal) และกากมันสำปะหลัง เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ลักษณะประจำพันธุ์ของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ระยอง 60 ระยอง 90 เกษตรศาสตร์ 50 และ ห้านาที

ลักษณะ	พันธุ์				
	ระยอง 1	ระยอง 60	ระยอง 90	เกษตรศาสตร์ 50	ห้านาที
1.สียอดอ่อน	ม่วง	เขียวอมน้ำตาล	เขียวอ่อน	ม่วง	เขียวอ่อน
2.สีใบเมื่อเจริญเต็มที่	เขียวอมม่วง	เขียวแก่	เขียวแก่	เขียวอมม่วง	เขียวอ่อน
3.สีก้านใบ	เขียวอมม่วง	เขียวอ่อนปนแดง	เขียวอ่อน	เขียวอมม่วง	แดงเข้ม
4.สีลำต้น	เขียวเงิน	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอมส้ม	เขียวเงิน	น้ำตาลอมเขียว
5.ความสูง(ซม.)	200-300	175-250	160-200	200-300	250-350
6.ระดับการแตกกิ่ง	0-1	0-3	0-1	0-1	1-3
7.ความสูงของกิ่งระดับแรก(ซม.)	180	150	120	150	180
8.มุมของกิ่ง(องศา)	15-30	45-60	75-90	75-90	45-60
9.สีเปลือกของหัว	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาล	น้ำตาลเข้ม
10.สีเนื้อของหัว	ขาว	ครีม	ขาว	ขาว	ขาว
11.การมีดอกและผล	เมื่ออายุเกิน 1ปี ดอกและผลไม่ดก	มีได้ภายใน 1 ปี ดอกและผลค่อนข้างดก	มีได้ภายใน 1ปี ดอกและผลค่อนข้างดก	มีเมื่ออายุเกิน1ปี ดอกและผลไม่ดก	มีเมื่ออายุเกิน 1 ปีดอกและผลไม่ดก
12.เปอร์เซ็นต์แป้งเมื่อเก็บเกี่ยว	18.3	18.5	23.7	23.3	14
13.ผลผลิต(ตัน/ไร่)	3.22	3.52	3.65	3.67	2.0-3.0
14.ความต้านทานโรคใบไหม้	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	ต้านทาน
15.ระดับการเป็นโรคใบจุดสีน้ำตาล	ต่ำกว่า 5% (4.8%)	ต่ำกว่า 5 % (2.2%)	ต่ำกว่า 5% (3.65%)	ต่ำกว่า 5% (3.4%)	ต่ำกว่า 5% (4.7%)

ที่มา : อัจฉรา และจรุงสิทธิ์ (2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธาตุอาหารและอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ (รังสฤษฎ์ , 2541)

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีอยู่หลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมต่อชนิดของพืช พันธุ์ ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืช (explants) ที่จะนำมาเลี้ยง อย่างไรก็ตามอาหารที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุด คือ อาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส จากการนำชิ้นส่วนพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์นั้น พืชมีความต้องการธาตุอาหารบางอย่างที่จำเป็นที่มีความซับซ้อนมากกว่า และมีลักษณะเป็น seldom autotrophic กล่าวคือ ต้องการทั้งมหาธาตุ (macro-elements/nutriunts) และจุลธาตุ (micro- elements/nutriunts) นอกจากนั้นยังมีธาตุอาหารอื่น ๆ เช่น แหล่งคาร์บอน และวิตามิน สูตรอาหารที่ใช้มักจะดัดแปลงไปตามความมุ่งหมาย เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของเซลล์ ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มสารเหล่านั้นเป็นกลุ่ม ๆ ได้ดังนี้

1. ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์ (Inorganic substances) ประกอบด้วย ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณมาก (macro-elements/nutrients) ได้แก่ C, H, O, N, P, K, Ca, Mg และ S ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณน้อย (micro-elements/nutrients) ได้แก่ Fe, Mn, Cu, Zn, B, Cl และ Mo
2. สารพวกอนินทรีย์ (Organic substances) ประกอบด้วย
   2.1 วิตามิน (vitamins) ได้แก่ thiamine, nicotinic acid, pyridoxine, inositol, biotin, folic acid , panthothenic acid, choline choride, riboflavin และ ascorbic acid
   2.2 ฮอร์โมนและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant hormone และ plant growth regulators) ได้แก่ สารในกลุ่มออกซิน (auxins) เช่น indole-3-acetic acid (IAA), indole butyric acid (IBA), naphthaleneacetic acid (NAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) สารในกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins) เช่น N_6-Benzyladenine (BA), kinetin, zeatin, N_6-isopentenyl adenine (2iP) สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่น ๆ เช่น gibberellic acid (GA), paclobutrazol, abscissic acid (ABA) , daminozide, picloram เป็นต้น
3. สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon sources) ได้แก่สารประกอบพวกน้ำตาลต่าง ๆ เช่น glucose , sucrose, fructose, sacharose และ manitol
4. กรดอะมิโน (amino acid) ได้แก่ glutamine, asparagine, adenine, glycine และ casein hydrolysate
5. สารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ ส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว น้ำสกัดจากยีสต์ น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำคั้นมะเขือเทศ กล้วยหอมบด และมอลล์สกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แม้พืชทุกชนิดจะต้องการธาตุอาหารหลักที่เหมือนกัน แต่ต้องการในปริมาณความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีความต้องการที่แตกต่างกันอย่างมาก

ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต (พีรเดช, 2529)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth regulating chemical) เป็นสารอินทรีย์ซึ่งไม่จำกัดว่าพืชจะสร้างขึ้นเองหรือว่ามนุษย์สังเคราะห์ขึ้นและถ้าใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็จะสามารถกระตุ้น ยับยั้งหรือเปลี่ยนสภาพทางสรีรวิทยาของพืชได้ สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชประกอบด้วยสารชนิดต่าง ๆ มากมายซึ่งสามารถแยกออกเป็นหมวดหมู่ตามคุณสมบัติซึ่งแตกต่างกันได้ดังนี้

1. **ออกซิน** (Auxins) สารในกลุ่มนี้มีทั้งพืชสร้างขึ้นเอง (ฮอร์โมน) และสารสังเคราะห์ มีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตมีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยืดตัวของเซลล์และยังมีผลการกระตุ้นการเกิดราก การเจริญเติบโตในส่วนต่าง ๆ ของพืช สารสังเคราะห์เหล่านี้มีอยู่หลายชนิด ได้แก่ NAA, 2,4-D และ IBA
2. **ไซโตไคนิน** (Cytokinins) มีคุณสมบัติควบคุมการแบ่งเซลล์ การเจริญเติบโตทางด้านกิ่ง ใบ การแตกแขนง พืชสามารถสร้างไซโตไคนินขึ้นมาเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้ คือ สาร Zeatin ส่วนสารสังเคราะห์ในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ ไคเนติน (Kinetin) และ BAP (6-benzy laminopurine) สารในกลุ่มนี้มีผลต่อการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นการเจริญทางด้านลำต้นของพืชกระตุ้นการเจริญของตาข้าง ใช้กันมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อกระตุ้นการเจริญของก้อนแคลลัส (callus) ให้เติบโตขึ้นมาเป็นลำต้น
3. **จิบเบอเรลลิน** (Gibberellins) มีประสิทธิภาพอย่างมากในการกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์และการแบ่งตัวของเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชแคระจะตอบสนองมากกว่าพืชปกติ สารจิบเบอเรลลินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะอยู่ในรูปของ gibberellic acid
4. **เอทิลีนและสารปลดปล่อยเอทิลีน** (Ethylene and Ethylene Releasing Compound) เอทิลีนเป็นฮอร์โมนพืชชนิดเดียวที่อยู่ในรูปก๊าซ ได้แก่ acetylene ส่วนใหญ่ใช้ในการบ่มผลไม้ และ ethephon เร่งการสุกแก่ของผลไม้
5. **สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช** (Plant Growth Retardants) คุณสมบัติหลักของสารกลุ่มนี้ คือ ชะลอการแบ่งเซลล์ และการยืดตัวของเซลล์ เพื่อเพิ่มคุณภาพของผลผลิต ปัจจุบันสารที่มีการใช้มาก คือ chlormequat และ daminozide

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. **สารยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช** (Plant Growth Inhibitors) สารกลุ่มนี้มีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์ ยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนบางชนิด สารยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชที่สำคัญและรู้จักกันดีคือ ABA (abscisic acid) ซึ่งทำให้พืชแตกกิ่งแขนงมากขึ้น

สรรลาภ (2537) ได้กล่าวถึงบทบาทของออกซิน (auxins) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ ส่งเสริมให้ชิ้นส่วนของพืชเกิดแคลลัส เพื่อที่จะนำแคลลัสนี้ไปชักนำเป็นต้นพืชต่อไป เนื่องจากออกซินช่วยกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเกิดการแบ่งเซลล์ ขยายตัวของเซลล์ และยังสามารถกระตุ้นให้เกิดต้นอ่อนได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถชักนำให้เกิดรากเพื่อให้เป็นต้นที่สมบูรณ์พร้อมที่จะนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อไป และบทบาทของไซโตไคนิน (cytokinins) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ ส่งเสริมให้ชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเลี้ยงเกิดเป็น multiple shoots ส่งเสริมการเจริญเติบโตของใบ และสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อเกิดแคลลัสได้เมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นสูง ๆ และยับยั้งการเกิดรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วย

รายงานผลการทดลองที่เกี่ยวกับมันสำปะหลัง

ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง (2537) ได้ทำการทดลองการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลังซึ่งได้กระทำครั้งแรกในปี 2536 โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนตายอด และตาข้างมันสำปะหลัง 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 1 ระยอง 3 ระยอง 60 และพันธุ์ระยอง 90 ในอาหารสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิด ได้แก่ NAA, GA_3 และ BAP อัตราความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่า จะเกิดปฏิกิริยาสัมพันธ์ในด้านการเจริญเติบโตของส่วนต้น และการเกิดรากระหว่างพันธุ์มันสำปะหลังกับระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 3 ชนิด อย่างไรก็ตามการใช้อาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA, GA_3 เข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ และ BAP เข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ ที่นำมาเลี้ยงตาข้างของมันสำปะหลังจากแปลงรวบรวมพันธุ์ ผลการทดลองที่ได้ปรากฏว่าแต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกัน ตั้งแต่การใช้เวลาเกิดเป็นต้นสมบูรณ์ การเติบโตและระยะเวลาที่อยู่รอดในขวดอาหาร

ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง (2538) ได้ทำการทดลองต่อโดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลังจำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 1 พันธุ์ระยอง 3 พันธุ์ระยอง 60 และพันธุ์ระยอง 90 ในอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรเดิม พบว่า มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 เลี้ยงได้ต้นสมบูรณ์พร้อมทั้งราก และลำต้นถึง 58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลดีกว่าอีก 3 พันธุ์ และอยู่รอดในสภาพเรือนเพาะชำ 15.5 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ระยอง 3 ระยอง 60 และพันธุ์ระยอง 90 ได้ต้นสมบูรณ์ 26, 32 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พันธุ์ระยอง 90 อยู่รอดในเรือนเพาะชำ 8.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ระยอง 3 และพันธุ์ระยอง 60 นั้น พบว่า ตายหมดในสภาพเรือนเพาะชำ

สุทัศน์ (2528) ได้รายงานว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลังเพื่อให้ปลอดจากโรคนับเป็นตัวอย่างที่ดีอีกตัวอย่างหนึ่ง ซึ่งระบาดอยู่เฉพาะในทวีปอาฟริกา การนำพันธุ์มันสำปะหลังไปปลูกในประเทศอื่นจึงจำเป็นต้องใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ได้พันธุ์ปลอดโรค โดยการตัดส่วนยอดมันสำปะหลังที่ปลอดเชื้อไวรัสมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดแก้วจนเกิดเป็นต้นเล็ก ๆ จึงจะส่งไปยังประเทศต่าง ๆ ได้

Roca (1984) รายงานว่าในข้อเท็จจริงแล้วเนื้อเยื่อมันสำปะหลังส่วน apical meristem สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ได้เพียงระยะเวลาสั้น ๆ เท่านั้น แต่เมื่อใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA เข้มข้นตั้งแต่ 0.5 ไมโครโมลต่อลิตร จะช่วยส่งเสริมให้เกิด shoot และมีการเจริญต่อไปได้ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA มากขึ้นเรื่อย ๆ จะมีผลทำให้ shoot เจริญเติบโตได้ช้า ระงับการเกิดราก และกระตุ้นให้เกิดแคลลัส การเพิ่ม NAA ลงในอาหารจะช่วยให้แคลลัสเจริญเติบโตได้ดี และสามารถเกิดรากได้ในมันสำปะหลังบางพันธุ์ ในการเพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น ๆ เช่น GA ร่วมกับ BA จะทำให้อาหารนั้นสมบูรณ์อาจมีเหตุมาจากเนื้อเยื่อนั้นเกิดการเสื่อมคุณภาพ (deterioration)

Konan และคณะ (1994) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลังพันธุ์ TMS 30395 โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยง เลี้ยงในอาหารสูตร MS ร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เข้มข้น 5 ระดับ 0.1, 4, 8, 12 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ABA เข้มข้น 0.26, 0.52 และ 1.04 มิลลิกรัมต่อลิตร, proline, glycine, serine, tryptophan, nicotinic acid, adenine sulfate และ casein hydrolysate อย่างละ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลอง พบว่า หลังจากเลี้ยง 10 วัน เนื้อเยื่อเจริญมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างมีโครงสร้างแบบ globular และหลังจากเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยง (cotyledon) 3 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS เติม NAA เข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร, BA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA_3 เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ พบว่า เนื้อเยื่อที่ทำการทดลองมีการพัฒนาไปเป็น somatic embryo ได้ดี

Mussio และคณะ (1998) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนของมันสำปะหลัง โดยช่วงแรกเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เข้มข้น 1.8, 2.7 และ 3.6 ไมโครโมลต่อลิตร โดยนำไปวางเลี้ยงในสภาพแวดล้อมโดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เก็บไว้ในที่มืด 10, 15 และ 20 วัน ผลการทดลอง พบว่า เนื้อเยื่อสามารถพัฒนา และเจริญเติบโตเป็นแคลลัสมีโครงสร้างที่ร่วนเปราะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(friable callus) ได้ หลังจากนั้นย้ายแคลลัสเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0.045 ไมโครโมลต่อลิตร ร่วมกับ zeatin เข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ 4.5, 14 และ 23 ไมโครโมลต่อลิตร หรือ เติม BA เข้มข้น 0.45, 2.2 และ 4.5 ไมโครโมลต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดพืชต้นใหม่ได้จำนวน 1 ต้นต่อ 1 ชิ้นส่วน

Sofiari และคณะ (1997) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการชักนำให้เกิด somatic embryogenesis ในมันสำปะหลังซึ่งเติม 2,4-D ร่วมกับ NAA โดยใช้พันธุ์ที่ทดสอบ 7 พันธุ์ การใช้ 2,4-D เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิด primary somatic embryo จากชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลังได้ หากใช้ NAA ร่วมกับ 2,4-D จะสามารถชักนำให้เกิด secondary somatic embryo ในอาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-21.5 ไมโครโมลต่อลิตร จะสามารถชักนำให้เกิด secondary somatic embryo ได้ดีกว่าในอาหารที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4.5-16.2 ไมโครโมลต่อลิตร นอกจากนี้การเติม NAA ยังใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตของ secondary somatic embryo สั้นกว่าในอาหารที่เติม 2,4-D และได้มีการทดลองซ้ำโดยทำการย้ายเลี้ยง secondary somatic embryo ในอาหารที่เติม NAA พบว่า secondary somatic embryo จะพัฒนาเป็น adventitious root ได้ภายใน 15 วัน ในขณะที่อาหารที่เติม 2,4-D จะใช้เวลานานถึง 20 วัน นอกจากนี้ในอาหารที่เติม 2,4-D จะพบ secondary somatic embryo ที่มีโครงสร้างแบบ globular secondary somatic embryo ในขณะที่อาหารที่เติม NAA ไม่พบโครงสร้างแบบนี้ ขั้นตอนต่อมาได้ทำการย้ายเลี้ยง secondary somatic embryo ลงบนอาหารสูตร basal medium (BM) เติม BA เข้มข้น 0.1-17.8 ไมโครโมลต่อลิตร โดยเลี้ยงในสภาพที่ให้แสง 14 วัน พบว่า BA ที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ จะทำให้ secondary somatic embryo สามารถพัฒนาไปเป็นพืชต้นใหม่ได้เพียงอย่างเดียว ซึ่งหากนำ secondary somatic embryo มาย้ายเลี้ยงลงในอาหารที่เติม 2,4-D จะกระตุ้นให้ secondary somatic embryo พัฒนาไปเป็นรากได้ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัส
2. เพื่อศึกษาชิ้นส่วนที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนข้อก้านใบ และชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ระยอง 60 ระยอง 90 เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. พืชทดลองได้แก่ ยอดอ่อนของมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ระยอง 1 ระยอง 60 ระยอง 90 และพันธุ์ห้านาที
2. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่ บีกเกอร์ (beaker) ช้อนตักสารเคมี (spatule) ปิเปต (pipette) กระบอกตวง แท่งแก้วคนสาร ขวดแก้วสำหรับใส่อาหารพร้อมฝาปิด เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) hot plate และเตาแก๊ส
3. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
   3.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร MS ดูส่วนประกอบในภาคผนวก
   3.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ 2,4-D, NAA และ BA
   3.3 วุ้นผง (agar)
   3.4 น้ำตาลทราย
   3.5 น้ำกลั่น
4. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ คลอรอกซ์ (clorox) และสารจับใบ (teepol)
5. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนพืช ประกอบด้วย ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar air-flow cabinet) ตะเกียง (turnel) จานแก้ว (petri dish) มีดผ่าตัด และปากคีบ (forceps)
6. เตาอบความร้อน (hot air oven)
7. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง ประมาณ 3000 ลักซ์ (lux) นาน 16 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 8 ชั่งโมง ควบคุมการปิด-เปิดด้วยเครื่องตั้งเวลา (timer)
8. ชั้นสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อ
9. เครื่องชั่งสาร 2 ตำแหน่ง และเครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง
10. อุปกรณ์ถ่ายภาพ กล้อง กระดาษสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. การเตรียมอาหาร

เตรียมอาหารสูตร MS และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอัตราความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ

- 2,4-D ใช้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.1, 1, 2, 4 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

- NAA ใช้ความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0.5, 1, 2, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

- BA ร่วมกับ NAA ใช้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ ความเข้มข้นของ BA คงที่ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

- 2,4-D ใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 1.8, 2.7 และ 3.6 มิลลิกรัมต่อลิตร

<u>ขั้นตอนการเตรียมอาหาร</u> (ปริมาตร 100 มิลลิลิตร)

1.1 **เตรียมบีกเกอร์ ชั่งน้ำตาลจำนวน 3 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์**

1.2 **เติมน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร คนน้ำตาลให้ละลาย**

1.3 **ดูดสารละลายจาก stock solutions ต่าง ๆ มารวมกัน โดยใช้ปริมาตรในแต่ละ stock ดังนี้**

stock ที่ 1	2 มิลลิลิตร
stock ที่ 2	2 มิลลิลิตร
stock ที่ 3	0.5 มิลลิลิตร
stock ที่ 4	0.5 มิลลิลิตร
stock ที่ 5	0.5 มิลลิลิตร
stock ที่ 6	1 มิลลิลิตร
stock ที่ 7	0.5 มิลลิลิตร

ยกเว้น stock ที่ 8 ซึ่งใช้ความเข้มข้นเท่าเดิม ให้ตวงสารละลายเติมลงไปทีหลัง 10 มิลลิลิตร

*****ในการเติม stock แต่ละตัวต้องคนสารให้ละลายเสียก่อน แล้วจึงทำการเติม stock ตัวต่อไป**

1.4 **เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Plant growth regulators) ตามความต้องการของสูตรอาหาร**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ปรับปริมาตรสารละลายอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยการเติมน้ำกลั่นให้ได้ครบตามที่ต้องการในกรณีนี้ คือ 100 มิลลิลิตร

1.6 ปรับค่าความเป็นกรดหรือด่าง (pH) ด้วยกรดเกลือ (HCl) และโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ให้ได้ประมาณ 5.8

1.7 เติมวุ้นผงหลอมให้ละลายด้วยเตาลวดความร้อน (hot plate) โดยใช้ aluminum foil ปิดปากบีกเกอร์

1.8 เทอาหารใส่ขวดแก้ว ขวดละประมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาให้แน่น

1.9 นำอาหารที่เทลงขวดเรียบร้อยแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) เป็นเวลา 20 นาที แล้วทิ้งให้เย็น

2. การเตรียมชิ้นส่วนพืชและการทำความสะอาด

2.1. นำยอดอ่อนมันสำปะหลังมาทำการตัดให้เป็นชิ้นส่วนเล็ก ๆ ล้างด้วยน้ำไหลโดยใช้ผ้าขาวบางปิดปากบีกเกอร์ที่ใส่ยอดมันสำปะหลังเติม teepol 1-2 หยด แล้วเปิดน้ำไหลผ่านประมาณ 10 นาที

2.2. ฟอกฆ่าเชื้อด้วย คลอรอกซ์ (clorox) 15 เปอร์เซ็นต์ เติม teepol 1-2 หยด นาน 20 นาที ทำการเขย่าทุก ๆ 5 นาที

2.3. ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง ครั้งละ ประมาณ 5 นาที โดยทำการเขย่าเรื่อย ๆ

2.4. ย้ายเอายอดอ่อนที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาวางผึ่งบนจานแก้ว

*** ขั้นตอนที่ 2.2-2.4 ทำในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ

3. การเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์

นำเอายอดอ่อนของมันสำปะหลังไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ที่เตรียมไว้ สูตรละ 5 ขวด ตัดเอาชิ้นส่วนข้อ ก้านใบ และชิ้นส่วนใบอ่อน ขนาด 0.5-1 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหาร

4. บันทึกผลการทดลอง

4.1. บันทึกการเกิดแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรพิจารณาจากคุณภาพของแคลลัสที่เกิด การวัดขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร) และ สีของแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันและสถานที่ทำการทดลอง

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง วันที่ 1 พฤศจิกายน 2542
สิ้นสุดการทดลอง วันที่ 30 มีนาคม 2543
รวมระยะเวลาในการทดลองประมาณ 5 เดือน

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลัง 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 1 ระยอง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที ในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0.1, 1, 2, 4 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการใช้ 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดในพันธุ์ระยอง 60 และพันธุ์ที่ให้ผลดีรองลงมาคือ พันธุ์ระยอง 1 และเกษตรศาสตร์ 50 ซึ่งเกิดแคลลัส 91, 90 และ 80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นมีขนาดตั้งแต่ 1.2-1.5 เซนติเมตร ลักษณะโครงสร้างของแคลลัสเกาะกันหลวม ๆ ส่วนในพันธุ์ห้านาทีสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี คือ เกิดแคลลัส 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ 2,4-D เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และแคลลัสที่ได้มีขนาด 1.2 เซนติเมตร นอกจากนี้การเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ในพันธุ์ระยอง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที ความสูงของต้นอ่อนเฉลี่ย 2.1 เซนติเมตร ส่วนพันธุ์ระยอง 1 สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ที่ 2,4-D เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ความสูงของต้นอ่อนเฉลี่ย 1.8 เซนติเมตร ต้นอ่อนที่เกิดขึ้น 1 ต้นต่อ 1 ชิ้นส่วน (รูปภาพที่ 1, 2 และ 3)

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหารสูตร MS เติม NAA เข้มข้น 0.5, 1, 2, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2) พบว่า การใช้ NAA เข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในทุกพันธุ์ที่ทำการทดลอง คือ เกิดแคลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่ได้มีขนาด 0.5-1.2 เซนติเมตร ลักษณะโครงสร้างแคลลัสเกาะกันหลวม ๆ นอกจากนี้การเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหารสูตร MS เติม NAA ยังสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้จำนวน 1 ต้นต่อ 1 ชิ้นส่วน การใช้ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนในทุกพันธุ์ ความสูงต้นเฉลี่ย 1.8 เซนติเมตร ในขณะที่ NAA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนในพันธุ์ระยอง 60 และเกษตรศาสตร์ 50 ส่วนการใช้ NAA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนในพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 เท่านั้น (รูปภาพที่ 4, 5, 6 และ 7)

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหารสูตร MS เติม BA (คงที่) เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.1, 1, 2, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2) พบว่า ในอาหารที่เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (คงที่) ร่วมกับ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในทุกพันธุ์ ให้แคลลัสที่มีขนาด 0.9-1.4 เซนติเมตร พันธุ์ที่ให้ผลในการชักนำแคลลัสสูงสุด ได้แก่ พันธุ์ระยอง 60 คือ เกิดแคลลัส 90 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ พันธุ์ระยอง 1 และพันธุ์ห้านาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ เกิดแคลลัส 86 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ที่ไม่ค่อยตอบสนองต่อการชักนำแคลลัส คือ พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 โดยเกิดแคลลัสเพียง 70. เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้จำนวน 1 ต้นต่อ 1 ชิ้นส่วน พันธุ์ระยอง 1 เกิดต้นอ่อนได้ที่ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ความสูงต้นเฉลี่ย 2.3 เซนติเมตร พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ที่ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ความสูงต้นเฉลี่ย 1.3-2.4 เซนติเมตร (รูปภาพที่ 8, 9 และ 10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร) จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลัง 4 พันธุ์ ใน อาหารสูตร MS เติม 2,4-D, NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (คงที่) ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

สารควบคุมการเจริญเติบโต	ระดับความเข้มข้น (mg/l)	พันธุ์			
		ระยอง 1	ระยอง 60	เกษตรศาสตร์ 50	ห้านาที
2,4-D	0.1	0.2	0.6	0.3	1.2
	1	0.3	1.0	0.8	0.5
	2	0.8	1.0	0.4	0.6
	4	1.3	1.2	1.5	0.5
	10	0.9	0.9	0.8	0.2
NAA	0.5	-	-	-	-
	1	-	-	0.3	-
	2	0.1	-	-	0.3
	5	0.2	0.6	0.7	0.2
	10	0.6	0.8	1.2	0.5
	20	0.5	1.1	0.5	0.9
BA 0.5 mg/l+NAA	0.5	0.1	0.3	0.2	0.6
	1	0.2	0.5	0.4	0.8
	2	0.3	0.6	0.3	0.9
	5	0.5	0.8	0.6	1.0
	10	0.9	1.0	1.2	1.4

หมายเหตุ - คือ ไม่เกิดแคลลัส

100653

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบ

ผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนก้านใบเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D, NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร) (ตารางที่ 3) จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบโดยใช้ 2,4-D สำหรับพันธุ์ระยอง 1 ระยอง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที พบว่าการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด คือ เกิดแคลลัส 82.5 เปอร์เซ็นต์ ในทุกพันธุ์ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยง ให้แคลลัสที่มีขนาด 0.3-0.8 เซนติเมตร โครงสร้างของแคลลัสมีลักษณะแน่นทึบ สีเขียวอ่อน ส่วนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบโดยใช้ NAA เข้มข้น 0.5, 1, 2, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการใช้ NAA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี คือ 92.08 เปอร์เซ็นต์ สำหรับทุกพันธุ์ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 0.3-0.6 เซนติเมตร โดยพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที ได้แคลลัสที่ดีมีคุณภาพมีขนาด 0.6 เซนติเมตร แคลลัสมีสีเหลือง ส่วนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบโดยใช้ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5, 1, 2, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการใช้ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในทุกพันธุ์ที่ทำการทดลอง ให้แคลลัสที่มีขนาด 0.3-1.0 เซนติเมตร และชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะพันธุ์ระยอง 60 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีขนาด 1 เซนติเมตร คุณภาพของแคลลัสดี มีสีเขียวอ่อน ลักษณะโครงสร้างของแคลลัสแน่นทึบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร) จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบของมันสำปะหลัง 4 พันธุ์ ในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D, NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (คงที่) ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

สารควบคุมการเจริญเติบโต	ระดับความเข้มข้น (mg/l)	พันธุ์			
		ระยอง 1	ระยอง 60	เกษตรศาสตร์ 50	ห้วยนาที
2,4-D	0.1	0.1	0.5	0.2	0.3
	1	0.2	0.1	0.3	0.6
	2	0.2	0.5	0.2	0.4
	4	0.2	0.2	0.1	0.5
	10	0.4	0.8	0.3	0.6
NAA	0.5	0.2	0.2	0.5	0.1
	1	0.2	0.1	0.2	0.5
	2	0.3	0.3	0.6	0.6
	5	0.1	0.2	0.2	0.2
	10	0.1	0.1	0.1	0.5
	20	0.1	0.1	0.1	0.1
BA 0.5 mg/l+NAA	0.5	0.3	0.5	0.3	0.2
	1	0.4	0.5	0.2	0.4
	2	0.5	1.0	0.5	0.3
	5	0.1	0.3	0.2	0.3
	10	0.1	0.8	0.2	0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อน

ผลของการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลังเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 1.8, 2.7 และ 3.6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการใช้ 2,4-D เข้มข้น 3.6 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด (ตารางที่ 4) ซึ่งชักนำแคลลัสได้ดีมีขนาดปานกลางจนถึงใหญ่ (0.46-0.95 เซนติเมตร) โดยเฉพาะพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแคลลัสที่ได้มีคุณภาพดี สีเขียวอ่อน และให้แคลลัสที่มีขนาด 0.95 เซนติเมตร ลักษณะโครงสร้างของแคลลัสแน่นทึบ

ตารางที่ 4 ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร) จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนใบของมันสำปะหลัง 4 พันธุ์ ในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

สารควบคุมการเจริญเติบโต	ระดับความเข้มข้น (mg/l)	พันธุ์ ระยอง 1	ระยอง 60	เกษตรศาสตร์ 50	ระยอง 90
2,4-D	1.8	0.4	0.5	0.8	0.2
	2.7	0.5	0.4	1.0	0.8
	3.6	0.4	0.8	0.9	0.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16980

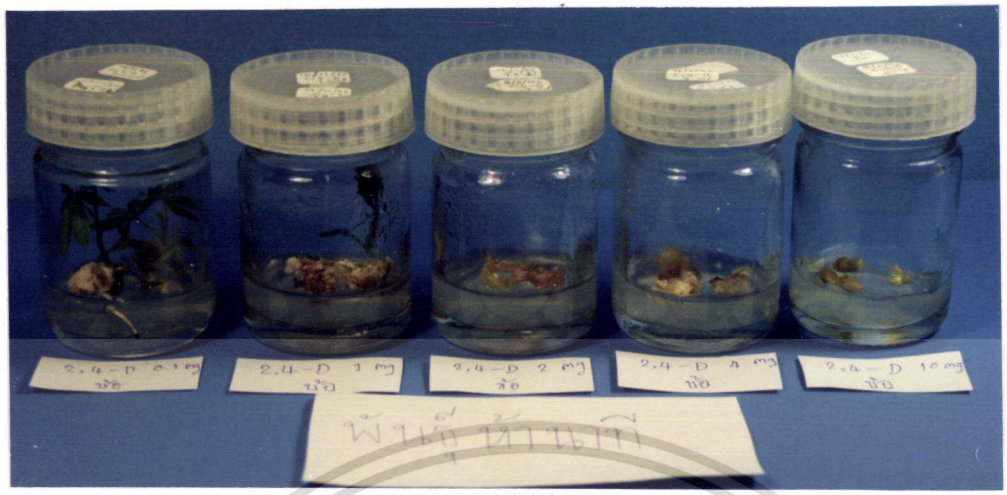
รูปภาพที่ 1 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D

A = MS + 2,4-D 0.1 mg/l
B = MS + 2,4-D 1 mg/l
C = MS + 2,4-D 2 mg/l
D = MS + 2,4-D 4 mg/l
E = MS + 2,4-D 10 mg/l

รูปภาพที่ 2 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D

A = MS + 2,4-D 0.1 mg/l
B = MS + 2,4-D 1 mg/l
C = MS + 2,4-D 2 mg/l
D = MS + 2,4-D 4 mg/l
E = MS + 2,4-D 10 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง



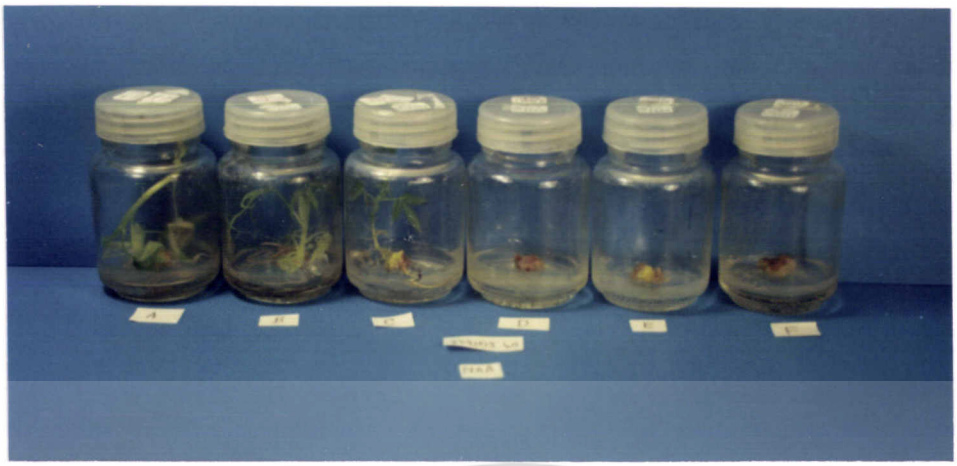
รูปภาพที่ 3 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ห้านาที ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D

A = MS + 2,4-D 0.1 mg/l
B = MS + 2,4-D 1 mg/l
C = MS + 2,4-D 2 mg/l
D = MS + 2,4-D 4 mg/l
E = MS + 2,4-D 10 mg/l

รูปภาพที่ 4 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA

A = MS + NAA 0.5 mg/l
B = MS + NAA 1 mg/l
C = MS + NAA 2 mg/l
D = MS + NAA 5 mg/l
E = MS + NAA 10 mg/l
F = MS + NAA 20 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 5 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 60 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA

A = MS + NAA 0.5 mg/l
B = MS + NAA 1 mg/l
C = MS + NAA 2 mg/l
D = MS + NAA 5 mg/l
E = MS + NAA 10 mg/l
F = MS + NAA 20 mg/l

รูปภาพที่ 6 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA

A = MS + NAA 0.5 mg/l
B = MS + NAA 1 mg/l
C = MS + NAA 2 mg/l
D = MS + NAA 5 mg/l
E = MS + NAA 10 mg/l
F = MS + NAA 20 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

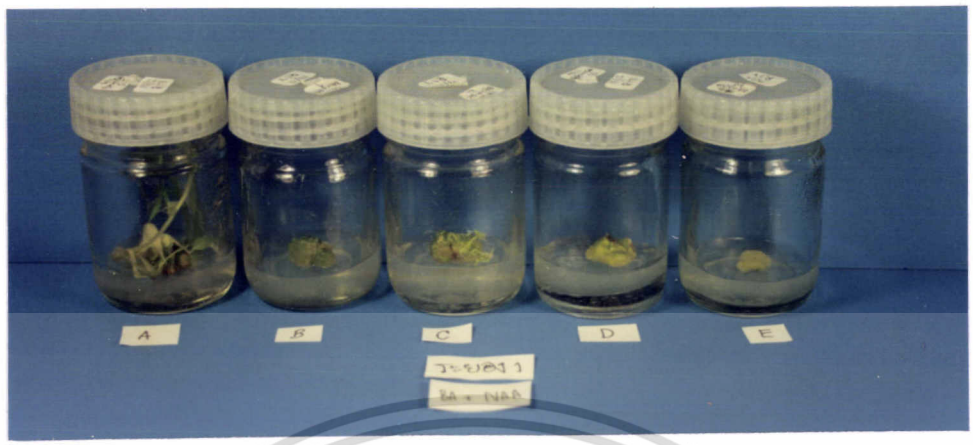
รูปภาพที่ 7 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ห้านาที ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA

A = MS + NAA 0.5 mg/l
B = MS + NAA 1 mg/l
C = MS + NAA 2 mg/l
D = MS + NAA 5 mg/l
E = MS + NAA 10 mg/l
F = MS + NAA 20 mg/l

รูปภาพที่ 8 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA

A = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 0.5 mg/l
B = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 1 mg/l
C = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 2 mg/l
D = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 5 mg/l
E = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 10 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



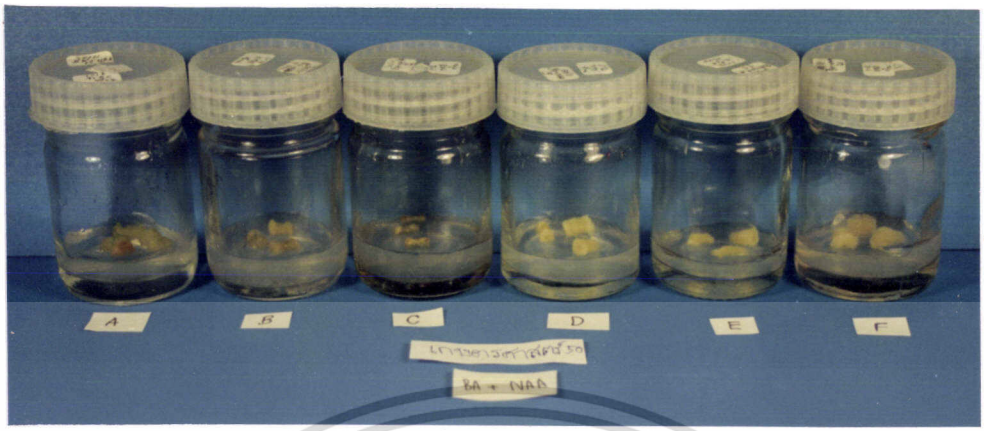
<u>รูปภาพที่ 9</u> การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA

A = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 0.5 mg/l
B = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 1 mg/l
C = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 2 mg/l
D = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 5 mg/l
E = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 10 mg/l

<u>รูปภาพที่ 10</u> การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ห้านาที ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA

A = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 0.5 mg/l
B = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 1 mg/l
C = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 2 mg/l
D = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 5 mg/l
E = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 10 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 11 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA

A = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 0.5 mg/l
B = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 1 mg/l
C = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 2 mg/l
D = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 5 mg/l
E = MS + BA 0.5 mg/l + NAA 10 mg/l

รูปภาพที่ 12 การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 60 ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D

A = MS + 2,4-D 1.8 mg/l
B = MS + 2,4-D 2.7 mg/l
C = MS + 2,4-D 3.6 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อและก้านใบของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ระยอง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที ในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในทุกพันธุ์ที่ทำการทดลองแสดงว่าลักษณะทางพันธุกรรมไม่มีผลต่อระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Konan และคณะ (1994) ที่ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบเลี้ยงของมันสำปะหลังในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ซึ่งการใช้ 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัส เนื่องจาก 2,4-D เป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีฤทธิ์ของออกซินสูง ยิ่งถ้าเติม 2,4-D มากก็ยิ่งทำให้สามารถเกิดแคลลัสได้มาก และจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อมันสำปะหลังนั้นสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ด้วย เนื่องจากบริเวณข้อของมันสำปะหลังนั้นมีตาข้างเป็นจุดกำเนิดของต้นอ่อน และใน 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ จะช่วยให้เกิดต้นอ่อนได้

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อมันสำปะหลังในอาหารสูตร MS เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังที่เติม NAA เข้มข้น 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ขณะที่ความเข้มข้น NAA ต่ำ (0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ แต่จากการทดลองจะเห็นได้ว่ามันสำปะหลังแต่ละพันธุ์มีการตอบสนองต่อระดับความเข้มข้นของ NAA ที่แตกต่างกันแสดงว่าลักษณะทางพันธุกรรมของพืชมีผลต่อการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต สอดคล้องกับผลการทดลองของ Sofiari และคณะ (1997) ที่ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง โดยการเปรียบเทียบสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง NAA กับ 2,4-D พบว่า NAA สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ดีกว่า 2,4-D แต่สำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสต้องใช้ระดับความเข้มข้นของ NAA ในระดับที่สูงกว่า 2,4-D

จากผลการทดลองใช้ BA ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดในอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในทุกพันธุ์ที่ได้ทำการทดลอง เนื่องจาก NAA เป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส หากเติม NAA มากก็ยิ่งจะสามารถชักนำให้ เกิดแคลลัสได้ดีด้วย

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลังในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 1.8, 2.7 และ 3.6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในทุกพันธุ์ แสดงว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทางพันธุกรรมไม่มีผลต่อการเกิดแคลลัส และไม่มีผลต่อระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Mussio และคณะ (1998) ที่ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลังที่สามารถเจริญและพัฒนาเป็นแคลลัสที่มีโครงสร้างร่วนเปราะ (friable callus) การใช้ 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสได้ และ 2,4-D ยังเป็นสารที่สามารถชักนำแคลลัสได้ดีในช่วงแรก ๆ ที่ทำการทดลองในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนข้อ ก้านใบและชิ้นส่วนใบมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ระยอง 60 ระยอง 90 เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที พบว่า การเพาะเลี้ยงข้อและก้านใบ ในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 1, 2, 4 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ทุกสูตรอาหารส่วนในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA จะเห็นว่าอาหารสูตรที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในมันสำปะหลังทุกพันธุ์ที่ทำการทดลอง ในสูตรอาหารที่ระดับความเข้มข้นของ NAA มากกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่านั้น สำหรับในอาหารที่ระดับความเข้มข้น NAA ต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อน และรากได้ ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA พบว่า BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส ได้ดีที่สุดในมันสำปะหลังทุกพันธุ์ ส่วน BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ จากที่ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้านาที ในขณะที่การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบในอาหารสูตร MS เติม BA ร่วมกับ NAA นั้นสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในอาหารทุกสูตรและทุกพันธุ์ และในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 1.8, 2.7 และ 3.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการเพาะเลี้ยงชิ้นใบอ่อนของมันสำปะหลัง พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในอาหารทุกสูตรและทุกพันธุ์ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จินตนา แก้วกุลชัย และ เสาวคนธ์ พินิจศักดิ์. 2535. การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนของข้าว. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 40 หน้า.

บงกช สุนทรสถะ. 2539. การศึกษาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 28 หน้า.

พีรเดช ทองอำไพ. 2529. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 196 หน้า.

รังสฤษฎ์ กาวีตั๊ะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ภาควิชาพืชไร่นา. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ ฯ. 291 หน้า.

ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง. 2537. รายงานประจำปี. ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง. สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 94 หน้า

ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง. 2538. รายงานประจำปีโครงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง. ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง. สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 63-64.

สมปอง เตชะโต. 2537. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเศรษฐกิจ หลักการและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ. ภาควิชาพืชศาสตร์. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 120 หน้า.

สมยศ เดชภิรัตนมงคล. 2534. พืชหัว. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพ ฯ. 237 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรรลาภ สงวนดีกุล. 2537. รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการ. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. กรุงเทพ ฯ. 313 หน้า.

สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. 2528. การปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชไร่นา. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 353 หน้า.

อัจฉรา ลิ่มศิลา และ จรุงสิทธิ์ ลิ่มศิลา. 2537. เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง. ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง. สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและ สหกรณ์. 210 หน้า.

Konan N.K., R.S. Sangwan and B.S. Sangwan. 1994. Somatic embryogenesis from culture mature cotyledons of cassava. Plant cell, Tissue and Organ culture. 37: 91-102 .

Mussio I., M.H. Chaput., I. Serraf., G. Duereux and D. Sihachakr. 1998. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of an African clone cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) and analysis of the conformity of regenerated plants. Plant cell, Tissue and Organ culture. 53:205-211.

Roca, W.M. 1984. Hand book of plant cell culture. Mac Millan Publishing Co. New York. 664 p.

Sofiari E., C.J.J.M. Raemakers., E. Kanju and K.Danso. 1997. Comparison of NAA and 2,4-D induced somatic embryogenesis in Cassava. Plant cell Tissue and Organ Culture. 50: 45-56.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวก ก. แสดงการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร MS ต่อปริมาตร 1 ลิตร (1,000 CC)

Stock	สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (mg)	ความเข้มข้น (เท่า)	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิลิตร)
1	NH_4NO_3	82,500	50	20
2	KNO_3	95,000	50	20
3	H_3BO_3	1,240	200	5
	KH_2PO_4	34,000	200	
	KI	166	200	
	$Na_2MoO_4.2H_2O$	50	200	
	$CoCl_2.6H_2O$	5	200	
4	$CaCl_2.2H_2O$	88,000	200	5
5	$MgSO_4.7H_2O$	74,000	200	5
	$MnSO_4.4H_2O$	4,460	200	
	$ZnSO_4.7H_2O$	1,720	200	
	$CuSO_4.5H_2O$	5	200	
6	Na_2EDTA	7,450	200	5
	$FeSO_4.7H_2O$	5,570	200	
7	Glycine	400	200	5
	Nicotinic acid	100	200	
	Pyridoxine-HCl	100	200	
	Thiamine-HCl	20	200	
8	Myo-inositon	100	1	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้