การนำใบของไก่แดง (*Aeschynanthus* sp.) มาชักนำให้เกิดแคลลัสโดยการใช้ BA Kn และ TDZ

กุลวัฒน์ บัวป้อม
ศศิธร ปัญญาสิทธิ์

การศึกษาอิสระ เสนอเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา
มหาวิทยาลัยพะเยา
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

การนำใบของไก่แดง (*Aeschynanthus* sp.) มาชักนำให้เกิดแคลลัสโดยการใช้ BA Kn และ TDZ

กุลวัฒน์ บัวป้อม
ศศิธร ปัญญาสิทธิ์

การศึกษาอิสระ เสนอเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา
มหาวิทยาลัยพะเยา

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

คณะกรรมการสอบการศึกษาอิสระ อาจารย์ที่ปรึกษา และคณบดีคณะวิทยาศาสตร์ ได้พิจารณาการศึกษาเรื่อง “การนำใบของไก่แดงมาชักนำให้เกิดแคลลัสโดยการใช้ BA Kn และ TDZ” เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยพะเยา

....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คงศักดิ์ พร้อมเทพ)

ประธานกรรมการ

....

(นางสาวพันธิตรา กมล)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

....

(นางธันยาภรณ์ ตั้งเจริญชัย)

กรรมการ

....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชยันต์ บุณยรักษ์)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

มีนาคม 2563

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงในความกรุณาของ อาจารย์พันธิตรา กมล ที่ได้สละเวลาอันมีค่ามาเป็นที่ปรึกษาพร้อมทั้งให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาในการทำวิจัยเล่มนี้ และขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องจนทำให้งานวิจัยเล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่คณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยพะเยา ทุกท่านที่ให้ข้อมูลเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ขั้นตอนการทำอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การย้ายเนื้อเยื่อพืช การเก็บผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และคณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยพะเยา ในการสนับสนุนสถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย

คุณค่าและคุณประโยชน์อันพึงจะมีจากวิจัยเล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแด่ผู้มีพระคุณทุกๆ ท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจในเรื่องที่เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเอื้องหงอนไก่ หรือไก่แดงไม่มากก็น้อย

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา รวมทั้งผู้เป็นเจ้าของงานวิจัยที่ข้าพเจ้าได้นำมาใช้เป็นแนวทางในการพัฒนางานวิจัย จนดำเนินการวิจัยได้สำเร็จเป็นอย่างดี

กุลวัฒน์ บัวป้อม

ศศิธร ปัญญาสิทธิ์

ชื่อเรื่อง การนำใบของไก่แดงมาชักนำให้เกิดแคลลัสโดยการใช้ BA Kn และ TDZ

ผู้วิจัย นายกุลวัฒน์ บัวป้อม

นางสาวศศิธร ปัญญาสิทธิ์

อาจารย์ที่ปรึกษา นางสาวพันธิตรา กมล

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา

คำสำคัญ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, ไก่แดง, แคลลัส

บทคัดย่อ

การศึกษาการเพาะเลี้ยงไก่แดง (*Aeschynanthus* sp.) มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีผลต่อการพัฒนาเป็นแคลลัส ต้นใหม่ ราก และใบ และศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นใหม่ โดยการนำชิ้นส่วนเริ่มต้นของไก่แดง คือ ใบ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมด้วย BA Kn และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่สูงสุดเฉลี่ย 1.12 ยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น สูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่และใบสูงสุดเฉลี่ย 4.35 ต้นต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น และ 4.62 ใบต่อชิ้นส่วนตามลำดับ สูตรอาหาร MS ที่เติม Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุดเฉลี่ย 0.07 รากต่อชิ้นส่วน และสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุดเฉลี่ย 0.33 มิลลิเมตรต่อชิ้นส่วน

Title Callus Induction and Organogenesis Capaity from leaf explant of *Aeschynanthus* sp. By BA Kn and TDZ

Author Mr.Kunrawat Buapom

Miss.Sasithorn Punyasit

Advisor Miss.Puntitra Kamal

Bachelor of science Program in Biology

Keywords Plant tissue culture, Aeschynanthus sp., Callus

Abstract

Study of tissue culture of *Aeschynanthus* sp. The objectives of this research were to studythe effects of cytokinin growth control substances at various concentrations which affected the development of new plant calluses, roots and leaves. and study the suitable formula to induce calluses to regenerate the initial parts of *Aeschynanthus* sp. were parts of cultured leaves on MS formula supplemented with BA Kn and TDZ at the concentration of 0.1 0.5 1.0 and 2.0 mg / L. It was found that MS formula with BA concentration of 0.5 mg / L. were able to induce new shoots to average the highest 1.12 shoots/explant. TDZ concentration at 2.0 mg / L. were able to induce new plants and average leaves of 4.35 plants per initial part and 4.62 leaves/explant. Kn concentration 0.5 mg/L. The highest root induction was 0.07 roots/explant. And TDZ concentration of 2.0 mg/L. Able to induce callus with an average of 0.33 mm. /explant.

สารบัญ

บทที่	หน้า
หน้าอนุมัติ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทคัดย่อ	ค
Abstract	ง
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
สมมติฐานของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษา	3
สถานที่ศึกษาและรวบรวมข้อมูล	5
นิยามศัพท์เฉพาะ	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
ต้นว่านไก่แดง	6
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	7
สารควบคุมการเจริญเติบโต	8
ชิ้นส่วนเริ่มต้น (ใบ)	9
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	15
วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	15
วิธีการทดลอง	17

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ **หน้า**

บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย.. 19

การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงของใบต้นไก่แดง.. 19

บทที่ 5 อภิปรายและสรุปการทดลอง.. 30

อภิปรายผลการวิจัย.. 30

สรุปผลการวิจัย.. 31

ข้อเสนอแนะ.. 31

บรรณานุกรม.. 31

ภาคผนวก.. 34

ภาพผนวก ก สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962).. 35

ประวัติผู้วิจัย.. 37

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้า**

ตาราง 1 แสดงสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน Kn BA และ TDZ.. 18

ตาราง 2 แสดงผลของสารควบคุมการเจริญ เป็นเวลา 2 สัปดาห์.. 21

ตาราง 3 แสดงผลของสารควบคุมการเจริญ เป็นเวลา 4 สัปดาห์.. 23

ตาราง 4 แสดงผลของสารควบคุมการเจริญ เป็นเวลา 6 สัปดาห์.. 25

สารบัญภาพ

ภาพ **หน้า**

ภาพ 1 ลักษณะดอกของพืชสกุลไก่แดง........ 7

ภาพ 2 กราฟแสดงจำนวนตายอด ยอดใหม่ ใบ ราก ขนาดแคลลัสเฉลี่ยอายุ 2 สัปดาห์........... 22

ภาพ 3 กราฟแสดงจำนวนตายอด ยอดใหม่ ใบ ราก ขนาดแคลลัสเฉลี่ยอายุ 4 สัปดาห์........... 24

ภาพ 4 กราฟแสดงจำนวนตายอด ยอดใหม่ ใบ ราก ขนาดแคลลัสเฉลี่ยอายุ 6 สัปดาห์.......... 26

ภาพ 5 ภาพแสดงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อายุ 2 สัปดาห์...... 27

ภาพ 6 ภาพแสดงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อายุ 4 สัปดาห์...... 28

ภาพ 7 ภาพแสดงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อายุ 6 สัปดาห์...... 29

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันในประเทศไทยไม้ดอกไม้ประดับ ถือว่าเป็นพืชที่มีความสำคัญทางด้านสังคมและเศรษฐกิจ โดยในประเทศไทยนำไม้ดอกไม้ประดับมาใช้ในพิธีกรรมทางศาสนา งานมงคล การแสดงความยินดีในโอกาสต่าง ๆ และนำมาใช้ในการประดับตกแต่งอาคารบ้านเรือน ทางด้านเศรษฐกิจ เป็นการปลูกไม้ดอกไม้ประดับเพื่อการค้า หรือจำหน่ายทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ โดยในปัจจุบันจึงมีการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกไม้ดอกไม้ประดับเพื่อให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มมากขึ้น

ต้นไก่แดง (*Aeschynanthus* sp.) จัดอยู่ในวงศ์ GESNERIACEAE ชื่อสามัญเรียกว่า Lipstick plant ชื่อท้องถิ่นเรียกว่า เอื้องหงอนไก่ หรือว่านไก่แดง เป็นไม้เลื้อยอิงอาศัยตามต้นไม้ใหญ่ มีลำต้นเดี่ยว ๆ หรืออาจขึ้นเป็นกอ ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงตัวตรงข้ามเป็นคู่ ๆ รูปหอกหรือวงรี แผ่นใบหนาอวบน้ำ โคนใบแคบหรือมน ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบหรือหยักเล็กน้อย ดอกเป็นดอกเดี่ยวหรือออกเป็นกระจุกตามข้อ และปลายใบ โคนดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดยาวโค้งงอ ส่วนปลายดอกแยกออกเป็นแฉก 5 กลีบ กลีบบน 2 กลีบ กลีบล่าง 3 กลีบ กลีบดอกมีสีแดง ออกดอกในช่วงเดือนกันยายน–ธันวาคม พบมากในบริเวณพื้นที่ป่าดิบเขา (ณัฐฐา พงศ์ภาวี, 2547) ซึ่งต้นไก่แดงเป็นพืชที่มีดอกสวยงามจึงนำมาใช้เป็นไม้ประดับ ขยายพันธุ์ได้โดยการเพาะเมล็ดและการปักชำกิ่ง

การขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดและการปักชำนั้นใช้ระยะเวลานานในการเพาะปลูก ดังนั้นจึงได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Plant tissue culture) มาใช้ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์พืชได้เป็นจำนวนมาก ในระยะเวลาสั้นโดยไม่ขึ้นอยู่กับฤดู และยังได้ต้นพืชที่มีลักษณะเหมือนเดิมทุกประการ ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพ ปราศจากโรคที่เกิดจากเชื้อรา เชื้อไวรัส และแบคทีเรีย จากการที่ต้นไก่แดงเป็นไม้ประดับที่มีลักษณะดอกสวยงาม ทำให้นิยมนำมาเป็นไม้ประดับตกแต่งอาคารบ้านเรือน ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ จึงได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธ์ต้นไก่แดงให้ได้จำนวนมาก เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA Kn และ TDZ ที่แปรผันความเข้มข้นต่างกันคือ 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการพัฒนาเป็นแคลลัส ต้นใหม่ ยอด ราก ใบเปอร์เซ็นในการ

Contaminate และ การ Regenerate ของต้นไก่แดง และนำแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาตัดตามขวาง เพื่อศึกษาโครงสร้างลักษณะภายในของแคลลัส

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินที่แปรผันความเข้มข้นต่าง ๆที่มีผลต่อการพัฒนาเป็นแคลลัส ต้นใหม่ ยอด ราก ใบของต้นไก่แดง ในสภาพปลอดเชื้อ
2. เพื่อเปรียบเทียบลักษณะของแคลลัสในอาหารเพาะเลี้ยง MS ที่เติมฮอร์โมน BA Kn และ TDZ

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA Kn และ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการพัฒนาเป็นแคลลัส ต้นใหม่ ยอด ราก ใบของต้นไก่แดง (*Aeschynanthus* sp.)

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1. ขอบเขตในช่วงเวลาการศึกษา

ทำการศึกษาในช่วงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2562 ถึงช่วงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2563

2. ขอบเขตในการศึกษา

2.1 ตัวอย่างพืชที่ศึกษาคือ ใบไก่แดง จากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

2.2 สูตรอาหารที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนของต้นไก่แดง ในสภาพปลอดเชื้อ สูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS, 1962) เติมฮอร์โมน 3 ชนิด คือ BA Kn และ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.5 ระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษา

กิจกรรม	ระยะเวลา/ ปี 2562				2563			
	ส.ค	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค	ม.ค.	ก.พ	มี.ค.
1. เพาะเลี้ยง ไก่แดงในสภาพปลอดเชื้อ	↔							
2. เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ความเข้มข้นละ 20 ขวด ดังนี้ อาหาร MS เสริมด้วย BA Kn และ TDZ ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 mg/l		↔	↔					
3. นำชิ้นส่วนใบของเอื้องหงอนไก่ หรือไก่แดง สภาพปลอดเชื้อมาตัดขนาด 1 x 1 เซนติเมตร แล้วนำไปใส่ในขวดที่มีสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วยฮอร์โมน BA Kn และ TDZ อย่างละ 20 ขวด ที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 mg/l ที่เตรียมไว้				↔	↔			
4. บันทึกผลการเกิดแคลลัส จำนวนต้นงอกใหม่ จำนวนยอด จำนวนราก จำนวนใบ เปอร์เซ็นต์ในการ Contaminate และ การ Regenerate เป็นเวลา 6 สัปดาห์						↔	↔	
5. เปรียบเทียบ และ วิเคราะห์ความแตกต่างของฮอร์โมนทั้ง 3 ชนิดที่มีผลต่อไก่แดง								
6. จัดทำรูปเล่มรายงานวิจัย								↔

1.6 สถานที่ศึกษาและรวบรวมข้อมูล

ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

1.7 นิยามศัพท์เฉพาะ

ฮอร์โมน Kn (Kinetin)

ฮอร์โมน TDZ (Thidiazuron)

ฮอร์โมน BA (6–benzyladenine)

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

1. ใช้เป็นแนวทางในการขยายพันธุ์ต้นไก่แดงให้ได้จำนวนมากในเวลอันรวดเร็ว
2. เป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ต้นไก่แดงในอนาคต เพื่อใช้เป็นไม้ประดับที่มีความสวยงามคงทนต่อโรค และสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม
3. เพื่อทราบถึงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีผลต่อการพัฒนาเป็นแคลลัส ต้นใหม่ ยอด ราก และใบ ของต้นไก่แดง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นว่านไก่แดง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Aeschynanthus* sp.

ชื่อสามัญ Lipstick plant

วงศ์ Gesneriaceae

ชื่อไทย ไก่แดง

ต้นกำเนิด สกุลไก่แดงมีการแพร่กระจายตั้งแต่ป่าเขตกึ่งร้อนบริเวณเชิงเทือกเขาหิมาลัย ภาคใต้ของประเทศจีน เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มาเลเซีย อินโดนิเซีย และเกาะนิวกินี

2.1.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์

พืชสกุล *Aeschynanthus* หรือสกุลไก่แดง มีทั้งหมด ประมาณ 160 ชนิด เป็นไม้ใบเขียวตลอดปี ใบสีเขียวอวบเปราะ และฉ่ำน้ำออกตรงข้ามกันเป็นคู่แต่บางชนิดใบมีลายด่าง เช่น *Aeschynanthus marmoratus* พืชสกุลไก่แดงหลายชนิดขึ้นเกาะอาศัยอยู่บนกิ่ง หรือลำต้นของต้นไม้ใหญ่ ส่วนมากลำต้นจะทอดยาวและทิ้งตัวลงบางชนิดก็เป็นไม้เลื้อย แต่บางชนิดมีลำต้นสั้นแตกเป็นพุ่ม พืชสกุลไก่แดงส่วนใหญ่จะออกดอกสีแดงสดตามยอดเดี่ยว หรือเป็นกระจุกแต่ละดอกมีก้านเรียวชูดอกตั้งตรงขึ้นไป กลีบรองกลีบดอกมีจักขนาดเล็ก 5 จัก ยาวประมาณ 5.0 มิลลิเมตร มีขนอ่อนปกคลุมกลีบดอก เป็นหลอดยาวโค้งเป็นขอ รูปแตรงอน ยาว 3.0-4.0 เซนติเมตร ปลายหลอดผายออก ใบเล็กรูปหอกขนาดกว้างประมาณ 2.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10.0 เซนติเมตร เรียงตัวตรงข้ามเป็นคู่ ก้านใบสั่นเมื่อออกดอกแล้วมักไม้ติดเป็นผลซึ่งผลจะมีลักษณะคล้ายปิ่นปักผม แต่ละฝักจะมีเมล็ดมากมายและที่ปลายเมล็ดข้างหนึ่งจะมีขนขาวเป็นพู่ติดอยู่เวลาแก่ฝักจะแตกกระจายและเมล็ดจะลอยตามลมไปติดกับเปลือกต้นไม้ใหญ่ หรือในที่ผุชื้นเมื่อมีอุณหภูมิ เหมาะสมเมล็ดจะงอกเป็นต้นอ่อนขึ้นมา นิยมปลูกในกระถางแขวน ขยายพันธุ์โดยการปักชำกิ่งหรือเพาะเมล็ด พืชสกุลว่านไก่แดงหลายชนิดที่เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศไทยจะออกดอกปลายช่วงฤดูฝน – ฤดูหนาว

ไก่แดงในประเทศไทยมักขึ้นเกาะต้นไม้บริเวณป่าตามภูเขาสูงทั่วประเทศ ตั้งแต่ดอยอินทนนท์ ภูหลวง ภูกระดึง ไปจนถึงเขาหลวง นครศรีธรรมราช โดยพืชสกุลว่านไก่แดงในประเทศไทยมีด้วยกันหลายชนิด

ภาพ 1 ลักษณะดอกของพืชสกุลไก่แดง

ที่มา : https://encrypted-tbn0.gstatic.com

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ การนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช ไม่ว่าจะเป็นส่วนอวัยวะ หรือส่วนเนื้อเยื่อ มาเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ที่ประกอบด้วย แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมความเจริญเติบโต ภายใต้สภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์และอยู่ในสภาวะควบคุมอุณหภูมิ แสง ความชื้น โดยส่วนของพืชที่นำมาเลี้ยงนี้จะสามารถเติบโตพัฒนาได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะพัฒนาเป็นส่วนอวัยวะ เกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า แคลลัส หรือ คัพภะ (ต้นอ่อนขนาดเล็ก) ที่เรียกว่า เอ็มบริโอ ซึ่งในที่สุดก็จะสามารถบังคับให้ส่วนต่างๆ เหล่านี้เกิดเป็นต้นใหม่ที่มีรากที่สมบูรณ์สำหรับการนำไปปลูกลงดินต่อไปได้

พืชที่เกิดขึ้นมาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะมีลักษณะเหมือนกับพืชต้นพันธุ์ที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงทุกประการ จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการขยายพันธุ์พืช และการเก็บรักษาและอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชต่างๆ โดยอาศัยการเก็บกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า แคลลัสของพืชไว้ที่อุณหภูมิเย็นจัดถึง –196 องศาเซลเซียส ภายใต้ไนโตรเจนเหลว ซึ่งวิธีนี้จะสามารถเก็บพืชได้เป็นเวลานานโดยไม่มีการกลายพันธุ์ หรืออาจใช้ในการเก็บรวบรวมพันธุ์พืชโดยบังคับให้พืชโตช้าๆ ในขวดแก้วเล็กๆ ซึ่งการอนุรักษ์พันธุ์พืชเช่นนี้จะใช้พื้นที่น้อยกว่าการเก็บพันธุ์พืชที่ผลิตเป็นต้นพืชโดยตรง (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2542)

นอกจากนี้ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ยังมีประโยชน์ต่อการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชกับต่างประเทศที่สะดวกขึ้น พืชที่อยู่ในขวดสะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์และราที่จะทำอันตรายต่อพืช โดยเฉพาะการ

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพรในรูปแบบเซลล์แขวนลอย ยังช่วยในการผลิตสารต่างๆ ที่ใช้เป็นยารักษาโรค หรือสารที่ใช้เป็นยาฆ่าแมลงได้ อีกทั้งยังเป็นประโยชน์มหาศาลในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้พืชต้านทานโรค และแมลงได้ดีขึ้น หรือให้ผลผลิตมากขึ้น โดยอาศัยเทคนิคในการเลี้ยงต้นอ่อนขนาดเล็ก เทคนิคในการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรและละอองเกสรพืช หรือเทคนิคในการชักนำให้พืชกลายพันธุ์เป็นพันธุ์ใหม่ๆ โดยอาศัยสารเคมีหรือการฉายรังสี (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2542)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ การเพาะเลี้ยงเซลล์พืชเนื้อเยื่อหรืออวัยวะบนสารอาหารสูตรพิเศษภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสามารถงอกใหม่จากเซลล์เดียว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคนิคที่มีมานานกว่า 30 ปีแล้ว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถูกมองว่าเป็นเทคโนโลยีที่สำคัญ สำหรับประเทศกำลังพัฒนาสำหรับการผลิตวัสดุปลูกคุณภาพสูง และการผลิตที่รวดเร็วของพืชหลายชนิด (ISAAA, 2004)

2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth regulators ; PGRs) จัดเป็นสารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนพืช โดยคุณสมบัติจะเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตพืชทั้งด้านการยับยั้งหรือเสริมการเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาในพืช โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตจะไปเปลี่ยนระดับความสมดุลของฮอร์โมนภายใน ทำให้ต้นพืชแสดงลักษณะต่าง ๆ ออกมานอกเหนือการควบคุมของธรรมชาติ แต่ถ้าใช้ผิดประเภททั้งชนิด อัตราและระยะเวลามักจะเกิดผลเสียมากกว่าผลดี ดั้งนั้นก่อนการใช้สาร จำเป็นต้องเรียนรู้และทำความเข้าใจ สารที่จะนำมาใช้ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช (สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, 2559)

ไซโตไคนิน (Cytokinin) เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืชชะลอการแก่ชรา และกระตุ้นการแตกตาข้างพบมากในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญและในคัพภะ (embryo) ส่วนใหญ่แล้วไซโตไคนินมีการเคลื่อนย้ายน้อย แต่มีคุณสมบัติสำคัญในการดึงสารอาหารต่างๆ มายังแหล่งที่มีไซโตไคนิน สะสมอยู่ (Cytokinin–induced translocation) ฮอร์โมนที่พบในพืชได้แก่ Zeatin ส่วนสารสังเคราะห์ ที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BAP และ Kinetin ฮอร์โมนเป็นกลุ่มของสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้น และถูกลำเลียงไปยังส่วนต่างๆ ของพืชในปริมาณต่ำและมีผลต่อกระบวนการตอบสนองทางสรีรวิทยา ตลอดจนการเจริญเติบโตของพืชผลของฮอร์โมนพืช ที่จะแสดงออกในแต่ละส่วนของพืช (กนกวรรณ เสรีภาพ, 2554)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นสารอินทรีย์ซึ่งไม่จำกัดว่าพืชจะสร้างขึ้นเองหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น และถ้าใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็จะสามารถกระตุ้น ยับยั้ง หรือเปลี่ยนแปลงสภาพทาง

สรีรวิทยาของพืชได้ ฮอร์โมนพืช (plant hormone) เป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นในปริมาณเล็กน้อย และมีผลในการเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาในพืชนั้น ๆอาจมีความหมายรวมถึงวิตามินบางชนิด แต่ไม่รวมถึงอาหารที่พืชสร้างขึ้น (ไทยเกษตรศาสตร์, 2557)

2.4 ชิ้นส่วนเริ่มต้น (ใบ)

สมปอง เตชะโต,สุรีรัตน์ เย็นช้อน และวราภรณ์ หีดฉิม (2555) ผลของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่มีผลต่อการงอก และความสมบูรณ์ของต้นกล้า นำคัพภะเหรียงที่ตัดแยกออกจากใบเลี้ยง และคัพภะที่ยังมีส่วนของใบเลี้ยงอยู่ครึ่งหนึ่ง มาวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวันหลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอกของคัพภะเปรียบเทียบกันในแต่ละชิ้นส่วน พบวา คัพภะที่ตัดแยกออกจากเลี้ยงให้อัตราการงอกเร็วกว่าคัพภะที่วางเลี้ยงทั้งเลี้ยงในช่วง 1 สัปดาห์แรก เนื่องจากคัพภะที่วางเลี้ยงบนอาหารโดยตรงสามารถดูดซึมธาตุอาหารได้ดีกว่า ในขณะที่คัพภะที่วางเลี้ยงทั้งใบเลี้ยงยังไม่งอกในสัปดาห์แรก แต่เมื่อวางเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า เริ่มมีเปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้น หลังจากวางเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าต้นกล้าที่ได้จากการวางเลี้ยงอยู่นั้นให้ต้นที่มีความสมบูรณ์มากกว่าต้นที่ตัดแยกออกจากใบเลี้ยง

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ขวัญเดือน รัตนา และคณะ (2561) การศึกษาอิทธิพลของ BA และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ ด้วยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของบอนสีขนาด 0.5 x 0.5 ซม. บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบอ่อนมีการเจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุดร้อยละ 50 และพบว่ามีการสร้าง ยอดจากแคลลัสร่วมด้วย จากนั้นทำการย้ายแคลลัส และยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนบอนสี เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสสามารถเจริญเป็นต้นใหม่ได้ดีที่สุด ร้อยละ 50 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากการย้ายต้นอ่อนนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่า อาหารทุกสูตรสามารถเพิ่ม ปริมาณต้นอ่อนบอนสีได้ โดยพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อ

ลิตร สามารถชักนำให้ เกิดยอดใหม่สูงสุด เท่ากับ 4 ยอด และพบว่าต้นอ่อนที่ย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงมากที่สุด เท่ากับ 5.3 เซนติเมตร จากนั้น ย้ายต้นอ่อนบอนสีที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ ออกย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ ด้วยการปลูกใน ดินเหนียวตากแดดจนแห้งแล้วทุบผสมกับเศษหญ้าแห้ง และขี้เถ้าแกลบในอัตราส่วน 2 : 1 : 1 เป็นเวลา 5 เดือน พบว่าบอนสีมีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 90

บุษราภรณ์ งามปัญญา (2561) การพัฒนาเป็นต้นพืชผ่านแคลลัส (regeneration of plants from callus) แคลลัสเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีการแบ่งตัวสูงยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่จำเพาะ สามารถชักนำได้จากเนื้อเยื่อ อวัยวะ และเอ็มบริโอที่นำมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง โดยทั่วไปหากใช้เนื้อเยื่อที่เปลี่ยนสภาพไปแล้ว (differentiated tissue) ก็จำเป็นต้องชักนำให้มีการพัฒนาแบบย้อนกลับก่อนที่จะมีการเริ่มเกิดการแบ่งเซลล์เป็นแคลลัส และภายหลังจากการเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ แคลลัสที่ได้ก็จะยังคงสถานภาพเดิมต่อไปได้เรื่อย ๆ โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นอวัยวะหรือโซมาติกเอ็มบริโอ (somatic embryo) แต่อย่างใด อย่างไรก็ตามแคลลัสที่มีศักยภาพที่พัฒนาไปเป็นโซมาติกเอ็มบริโอหรือตาพิเศษต่อไปได้เมื่อได้รับปัจจัยที่เหมาะสม

ปิยะนุช สนองสินธุ์ (2556) กวักมรกตเป็นไม้ประดับที่เป็นที่นิยมและมีความต้องการสูงแต่การผลิตยังไม่เพียงพอต่อความ ต้องการของตลาดเนื่องจากมีการขยายพันธุ์และการเจริญเติบโตช้าจึงเป็นที่มาของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อขยายพันธุ์ให้ได้ต้นจำนวนมาก การทดลองนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสาร ควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสกวักมรกต โดยเพาะเลี้ยงแคลลัสขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพมีแสง 60 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน โดยเปลี่ยนอาหารทุก 30 วัน ผลการทดลองพบว่า อาหารทุกสูตร สามารถชัก นำให้เกิดยอดได้ แต' BA ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการเกิดยอดของแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่า BA มากขึ้นทำให้เกิดยอดได้มากขึ้น ส่วน TDZ ให้ผลดีอย่างชัดเจน ทั้งต่อการเจริญเติบโตและการเกิดยอดของแคลลัส โดยสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้เฉลี่ยสูงสุด 19.6 ยอดต่อชิ้นแคลลัส สำหรับผลต่อการพัฒนาเป็นรากของแคลลัสนั้น พบว่าการเติม TDZ ทุกความเข้มข้นลงในอาหาร เพาะเลี้ยงยับยั้งการเกิดรากจากแคลลัสของกวักมรกต

วราภรณ์ ภูตะลุน (2557) การใช้สารควบคุมการเจริญเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการสร้างสารทุติยภูมิ ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต หรืออัตราส่วนของสารกลุ่มออกซินและไซโตไคนินจะส่งผลต่อทั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสารทุติยภูมิในการเพาะเลี้ยงเซลล์พืช จากการศึกษาในหลายกรณีพบว่า สาร 2,4-D ซึ่งเป็นสารกลุ่มออกซิน มีผลยับยั้งการสร้างสารทุติยภูมิ ผลการศึกษาในเซลล์เพาะเลี้ยงต้นยอบ้าน(*Morinda citrifolia*) พบว่า การสร้างสารกลุ่ม anthraquinones ลดลง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D (Stalman et al., 2003) จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสของต้นพรมมิ (*Bacopa monnieri*) พบว่า สูตรอาหารที่มีอัตราส่วนของ 2,4-D ต่อ Kinetin ต่ำ จะมีปริมาณสารกลุ่ม pseudojujubogenin glycosides สูงกว่าสูตรอาหารที่มีอัตราส่วนของ 2,4-D ต่อ Kinetin สูง (ศิริลักษณ์ และคณะ, 2550) อย่างไรก็ดีในบางการศึกษาพบว่า 2,4-D มีผลต่อการเพิ่มสารทุติยภูมิ อาทิเช่น การศึกษาในแคลลัสต้นโกศชฎามังสี (*Valeriana jatamansi*) แสดงให้เห็นว่า 2,4-D ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลเพิ่มการสร้างสาร acevaltrate และ didrovaltrate (Das et al., 2013)

สุภัค มหัทธนพรรค (2560) ตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1939 เป็นต้นไป การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ประสบผลสำเร็จอย่างแท้จริงเป็นครั้งแรกโดย Nobecurt นักโรคพืชชาวฝรั่งเศส และ Gautheret ซึ่งเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแครอทและ White sdorffii โดยต่างรายงานความสำเร็จ ที่พบว่ามีกลุ่มเซลล์พองฟูจากเนื้อเยื่อเดิม เรียกกลุ่มเซลล์ที่เกิดใหม่นี้ว่า แคลลัส (callus) แคลลัสที่ได้มานี้สามารถเลี้ยงไปได้เรื่อย ๆ เมื่อมีการย้ายไปยังอาหารใหม่ สาเหตุที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประสบผลสำเร็จเนื่องจากค้นพบสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดแรกที่ค้นพบคือ Indole acetic acid (IAA) ซึ่งเป็นออกซิน (Auxin) ชนิดหนึ่งที่ทำให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหลอดทดลองได้ผล ต่อมาภายหลังมีการค้นพบไคเนติน (Kinetin) ซึ่งเป็นไซโตไคนิน (Cytokinin) ชนิดหนึ่งที่ช่วยกระตุ้นการเจริญได้ดียิ่งขึ้น นับจากนั้นมาความก้าวหน้าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชก็ได้แพร่หลายไปยังประเทศอื่น ๆ อีกทั้งยังมีการนำเอาหลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไปประยุกต์ใช้ทางด้านเกษตร การขยายพันธุ์พืช การปรับปรุงพันธุ์พืชทางพฤกษาศาสตร์ ชีวเคมี โรคพืช ตลอดจนทางด้านพันธุวิศวกรม (Genetic Engineering)

อรุณี ม่วงแก้วงาม (2559) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาขาวโดยการนำชิ้นส่วนยอด (ขนาด 0.5 เซนติเมตร) จากในหลอด ทดลอง วางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige และ Skoog (MS) เติม BA 6 ความเข้มข้น (0 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อกรัม) วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25+2 องศา เซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากวางเลี้ยง 8 สัปดาห์ พบว่า BA ทุก

ความเข้มข้นให้อัตราการสร้างยอดรวมได้ 100% ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนจำนวนยอดรวมนั้นอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด 6.50 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้นอื่น ๆ เมื่อตัดแยกยอดเดี่ยว ๆ มาวางเลี้ยงบน อาหารสูตร MS เติม IBA 6 ความเข้มข้น (0 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสามารถในการเกิดรากสูงสุด 93.33% จำนวนราก และความยาวรากเฉลี่ย 2.50 ราก/ต้น และ 3.96 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้นอื่น ๆ การแช่ต้นกล้าดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในน้ำก่อนการย้ายปลูกลงดิน เป็นเวลา 5 และ 7 วัน สามารถทำให้ต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 80.25 และ 85.00 ให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่แช่ต้นกล้าก่อนการย้ายลงดิน

เบญจพร ภูกาบหิน และคณะ (2559) มหาอุดมแดงเป็นไม้ประดับที่มีศักยภาพสูง วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมหาอุดมแดงซึ่งเป็นพืชหายากของ ประเทศไทยได้ถูกพัฒนาขึ้น นำหน่ออ่อนของมหาอุดมแดงขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร Murashige and Skoog (MS) (1962) ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (BA, Kn และ TDZ) ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 4.0 8.0 และ 16.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือกลุ่มไซโทไคนินร่วมกัน (BA ร่วมกับ TDZ) และกลุ่มออกซิน (IAA, IBA และ NAA) ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าหน่ออ่อนที่เพาะเลี้ยงบน อาหารสูตร MS ที่เติม BA 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดเฉลี่ย 4.20 ยอด/ ชิ้นส่วนพืช และหน่ออ่อนมหาอุดมแดงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ย มากที่สุด 25.71 ราก/ชิ้นส่วนพืช

เยาวมาลย์ น้อยใหม่ (2561) เมล็ดบัวยักษ์ลูกผสมสายพันธุ์เอทรานส์มีปัญหา การงอกและการพักตัว งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการกระตุ้น การงอกของเมล็ดใน 3 ช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 30 60 และ 90 วัน ทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดโดยวิธีย้อม ด้วยเกลือเตตราโซเลียมตามกฎเกณฑ์ของ ISTA และทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl CuCl2 และ H2O2 แล้วเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง สูตร MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นนำเมล็ดที่ปลอดเชื้อ มากระตุ้นการงอกด้วยสารละลาย KNO3, TDZ และ อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ IAA วาง แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 3 ซ้ำทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คณะ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี ราชมงคลธัญบุรี ระหว่างธันวาคม 2559 ถึงมีนาคม 2560 ผลการทดลอง พบความมีชีวิตสูงสุด 70.0 % ในเมล็ดที่ เก็บรักษา 30 วัน วิธีการ

ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย H2O2 ความเข้มข้น 7.5 และ 4 % นานครั้งละ 5 นาที มีความปลอดเชื้อ 100 % ในเมล็ดที่เก็บรักษา 60 วัน การกระตุ้นการงอกด้วยสารละลาย TDZ เปอร์เซ็นต์การงอก มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยสามารถ กระตุ้นการงอกของเมล็ดที่เก็บรักษา 30 วัน ได้สูงสุด 88.89 % ที่ระดับความเข้มข้น 2 mgl-1 ภายใน 8 สัปดาห์ ส่วนสารละลาย KNO3 ความเข้มข้น 0.2 mgl-1 สามารถกระตุ้นการงอกได้ 66.67 % ภายใน 6 สัปดาห์

สนธยา เรืองศักดิ์ และคณะ (2560) ศึกษาการชักนำให้มะเฟืองเกิดแคลลัสและผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในการศึกษาได้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนของมะเฟืองเกิดเป็นแคลลัส และผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในสภาวะปลอดเชื้อ ซึ่งผลการทดลองการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นคือเมล็ดเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงเป็นเวลา 45 วัน ค่าเฉลี่ยของแคลลัสจากการทดลองที่ดีที่สุดคือ 1.78 เซนติเมตร

อรพิน เสละคร (2557) ศึกษาผลของ BA และ IBA ต่อการเพิ่มปริมาณหน่อและการชักนำให้เกิดรากของผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ โดยผลของ BA และ IBA ที่มีต่อการเพิ่มปริมาณหน่อ และการเกิดรากของยอดผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ โดยตัดยอดผักหวานป่าจากการเพาะเมล็ดในห้องปฏิบัติการเลี้ยงบนชั้นที่ให้แสง 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากการทดลอง พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงยอดผักหวานป่าเป็นเวลา 90 วัน สูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการเพิ่มปริมาณหน่อมากที่สุดเฉลี่ย 5.40 หน่อต่อชิ้น ส่วนผลของ IBA ต่อการชักนำให้เกิดรากของยอดผักหวานป่าเมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 60 วัน พบว่าชิ้นส่วนผักหวานป่าไม่สามารถเกิดรากใหม่ได้บนอาหารที่เพาะเลี้ยงทุกสูตร

วิจัยต่างประเทศ

George และ Sherrington (1984) ผลการศึกษาของ Skoog และ Miller แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของไซโตไคนินกับการพัฒนาของยอดยาสูบ เมื่อใช้ IAA มาก แคลลัสจะสร้างราก ถ้าเพิ่มไซโตไคนิน (ไคเนติน) สูง จะเกิดยอดปริมาณการเกิดยอดจะลดลงถ้าใช้อัตราส่วนใกล้เคียงกันแม้ว่าฮอร์โมนทั้ง 2 ปริมาณสูงก็ตาม การศึกษาของ Flick และคณะพบว่าไซโตไคนินจำเป็นสำหรับการพัฒนาตายอดจากเนื้อเยื่อของพืชหลายชนิดโดยผ่านกระบวนการ organogenesis พืชบางชนิดต้องการไซโตไคนินค่อนข้างสูงจึงกระตุ้นให้เกิดยอด บางครั้งอาจใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์รุนแรง เช่น thidiazuron หรือ pyridylphenylurea ซึ่งทั้ง 2 ชนิดเป็น

urea cytokinin ปลายรากพืชเป็นแหล่งสังเคราะห์ไซโตไคนินที่สำคัญที่สุด แม้ว่าในส่วนอื่น เช่น ตายอดใบ หรือ เมล็ดก็สามารถสังเคราะห์ได้เช่นเดียวกันแต่เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารจะผลิตได้ไม่เพียงพอ ดังนั้นจึงต้องใส่พวกควบคุมการเจริญเติบโต

Skoog และ Miller (1957) แสดงให้เห็นว่าออกซินกับไซไคนินในอาหารสามารถควบคุมควบความแตกต่างของการเกิดรากและยอดของแคลลัสของยาสูบ ความเข้มข้นของออกซินสูงจะชักนำให้เกิดราก และความเข้มข้นของไซโตไคนินสูงจะสนับสนุนการชักนำให้เกิดยอดในขณะที่ความเข้มข้นเท่ากันเนื้อเยื่อจะเกิดเป็นแคลลัส กระบวนการพัฒนาอวัยวะเรียกว่า organogenesis (กระบวนการเปลี่ยนแปลงจนกระทั่งได้อวัยวะหรือเป็นการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่โดยตรง)

Collin และ Edwards, (1998) การทำงานร่วมกันระหว่างออกซินและไซโทไคนิน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมักใช้ออกซินร่วมกับไซโทไคนิน เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส และเพิ่มปริมาณแคลลัส ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไซโทไคนินและออกซินมีบทบาทต่อการเกิดออร์แกนโนเจเนซีส หากความเข้มข้นของออกซินสูง มีผลชักนำให้เกิดราก ใยขณะเดียวกันก็ยับยั้งการเกิดยอด แต่ถ้ามีความเข้มข้นของไซโทไคนินสูงจะชักนำให้เกิดยอดและยับยั้งการเกิดราก ดังนั้นการเกิดยอดและรากของพืชจึงขึ้นอยู่กับสมดุลของออกซินและไซโทไคนิน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หากเติมออกซินร่วมกับไซโทไคนินจะมีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อดีกว่าการใช้ออกซิน หรือไซโตไคนินเพียงอย่างเดียว

Thangmanee and Kanchanaoom (2011) ที่เพาะเลี้ยงกลีบดอกเบญจมาศ *Chrysanthemum x grandiflorum* (Ramat.) Kitam. บนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA และ 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ประสิทธิภาพการเกิดแคลลัสสูงสุดอย่างไรก็ตาม จากการทดลองนี้ยังพบวา สูตรอาหารที่เติม BA และ 2,4-D ความเข้มข้นสูง ๆ มียอดเกิดขึ้นด้วยเล็กน้อย แต่ยอดที่ได้นี้มีขนาดเล็กและฉ่ำน้ำ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง

ไก่แดง *Aeschynanthus* sp.

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

1) สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของหารเพาะเลี้ยง

1.1) MS (Murashige and Skoog, 1962)

1.2) น้ำตาลทราย

1.3) ผงวุ้น

3.1.3 สารเคมีสำหรับปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร

1) Potassium hydroxide (KOH)

2) Hydrochloric acid (HCl)

3.1.4 สารควบคุมการเจริญเติบโต

1) BA (6-benzyladenine)

2) Kn (Kinetin)

3) TDZ (Thidiazuron)

3.1.5 อุปกรณ์

1) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance)

2) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

3) เตาอุ่นความร้อน (Hot plate)

4) เครื่องอบฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Autoclave)

5) กระบอกตวง (Cylinder)

6) ปิเปต (Pipette)

7) บีกเกอร์ (Beaker)

8) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask)

9) ขวดน้ำกลั่น

10) ช้อนตักสารขนาดต่างๆ

11) ถุงพลาสติก

12) กระดาษอลูมิเนียมฟอยด์

13) ตระกร้า

14) ลูกยาง

15) เตาไฟฟ้า (Hot plate)

16) ขวดเก็บ Stock solution

17) ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Bottle)

3.1.6 เครื่องมือสำหรับใช้ในการย้ายชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ

1) ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow)
2) ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Turnel)
3) ปากคีบ (Forceps)
4) มีดผ่าตัด (Knives and Scalpels)
5) จานแก้ว (Plate)

วิธีการทดลอง

การเตรียมอาหาร

ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS, 1962) ตามการทดลองมีรายละเอียดของสารที่ประกอบที่ใช้ ดังภาคผนวก และปรับ pH ให้มีค่าระหว่าง 5.3–5.7 เติมผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ทำการนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที

การเตรียมชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ

1. ชิ้นส่วนของพืช (Explant) ควรเลือกส่วนของใบ หลังจากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีดังนี้

1.1 เลือกใบที่สมบูรณ์ มาทำความสะอาดด้วยน้ำสบู่ เพื่อขจัดคราบฝุ่นและเศษซากของแมลงที่อาจติดอยู่บนใบ และเป็นการช่วยลดแรงตึงผิวของใบด้วย

1.2 แช่ใบในสารละลายคลอร๊อกซ์ความเข้มข้น 5 % เวลาประมาณ 10 นาที โดยทำการเขย่าเป็นระยะ ๆ หรือวางบนเครื่องเขย่า

1.3 ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละประมาณ 5 นาที

1.4 ย้ายตัวอย่างลงในจานแก้ว เพื่อทำการตัดแต่งตัวอย่าง แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง จึงย้ายลงเลี้ยงในอาหาร

2. การตัดใบของต้นไก่แดง ทำการตัดชิ้นสวนพืช (ใบ) เปนรูปสี่เหลี่ยมขนาด 1×1 เซนติเมตร ในตู้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แล้วนำมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA Kn และ TDZ ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลอง การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการพัฒนาเป็นแคลลัส ต้นใหม่ ยอด ราก ใบ ของต้นไก่แดง

นำชิ้นส่วนเริ่มต้น คือ ใบของต้นไก่แดงในสภาพปลอดเชื้อ ตัดให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 1×1 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน 3 ชนิด ซึ่งได้แก่ BA Kn และ TDZ ที่แปรผันระดับความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

ตารางที่ 1 แสดงสูตรอาหารแข็งที่มีการเติม MS ที่เติมด้วยฮอร์โมน Kn, BA, และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

สารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้นมิลลิกรัมต่อลิตร			
	0.1	0.5	1.0	2.0
Kn	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
BA	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8
TDZ	สูตร 9	สูตร 10	สูตร 11	สูตร 12

การบันทึกผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ

การบันทึกผลการทดลอง ได้แก่ จำนวนต้น ความยาวต้น จำนวนใบจำนวนรากและความยาวราก แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มโดยตลอด (Complete Randomized Design, CRD) ใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS ทดสอบและวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

ผลการทดลอง การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงของใบต้นไก่แดง

จากการทดลองนำต้นไก่แดงที่เจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ มาตัดแบ่งชิ้นส่วนเริ่มต้น คือ ใบ นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ในกลุ่มของไซโตไคนิน 3 ชนิด ได้แก่ Kn BA และ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ในสองสัปดาห์แรกของการทดลองเพาะเลี้ยงต้นไก่แดงที่มีชิ้นส่วนเริ่มต้นจากใบ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดที่มีความสูงมากกว่า 0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2.0 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดที่มีความสูงน้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 2.0 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบใหม่ได้ตามลำดับ และพบการ Contaminate มากในช่วงสองสัปดาห์

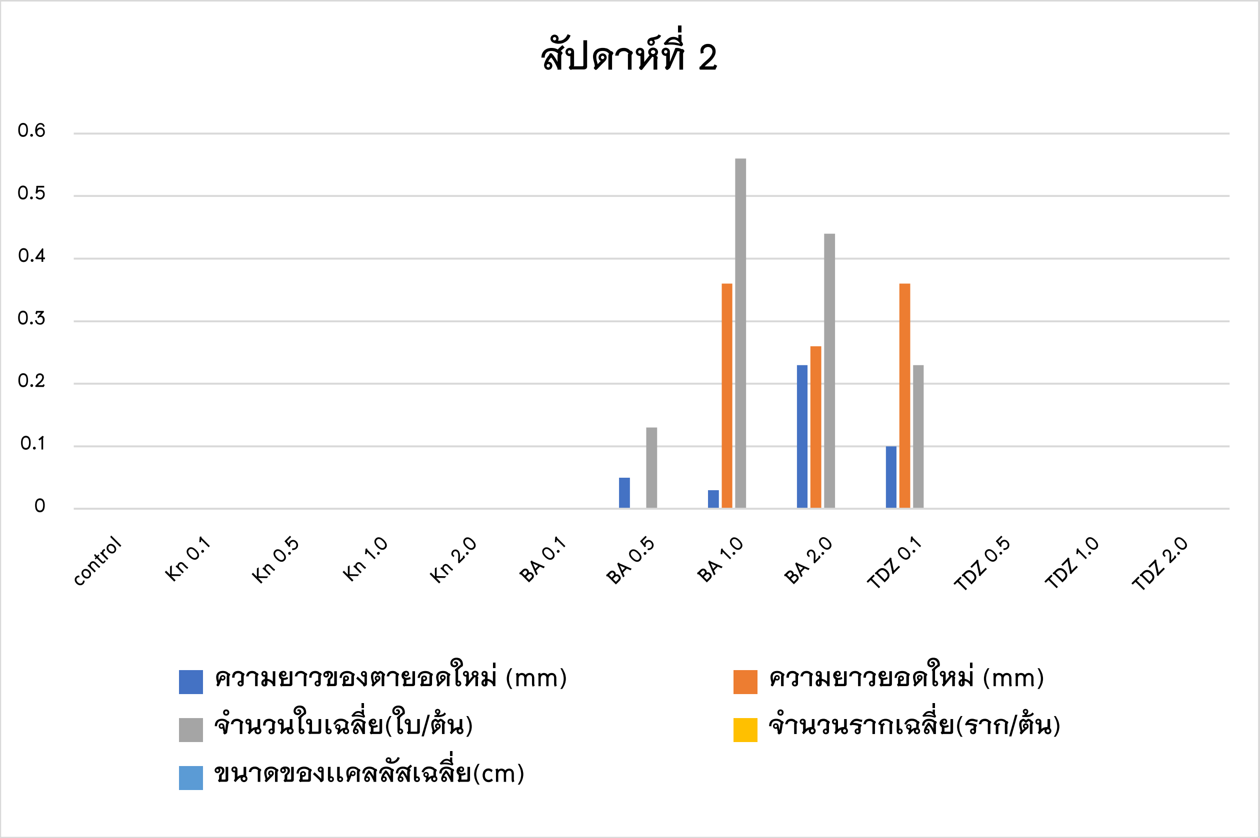
สัปดาห์ที่สี่ของการทดลองเพาะเลี้ยงต้นไก่แดงที่มีชิ้นส่วนเริ่มต้นจากใบ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 0.1 0.5 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.1 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดที่มีความสูงมากกว่า 0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kn ความเข้มข้น 0.5 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 0.1 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 1.0 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดที่มีความสูงน้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn ความเข้มข้น 2.0 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 0.1 0.5 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบใหม่ได้ตามลำดับ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kn ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ตามลำดับ และ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุดตามลำดับ

สัปดาห์สุดท้ายของการทดลองเพาะเลี้ยงต้นไก่แดงที่มีชิ้นส่วนเริ่มต้นจากใบ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kn ความเข้มข้น 0.1 1.0 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 1.0 0.5 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ที่มีความสูงมากกว่า 0.5 มิลลิเมตรได้ตามลำดับ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kn ความเข้มข้น 0.5 0.1 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 0.5 1.0 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ที่มีความสูงน้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตรได้ตามลำดับ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kn ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn ความเข้มข้น 0.1 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 1.0 0.5 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบได้สูงสุดตามลำดับ สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kn ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุดตามลำดับ และสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ ความเข้มข้น 0.1 1.0 2.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุดตามลำดับ

ตาราง 2 แสดงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ในอาหารสูตร MS สำหรับการเจริญเติบโตของว่านไก่แดงโดยมีใบเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น เป็นเวลา 2 สัปดาห์

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์ความแตกต่างโดยวิธี Duncan’s multiple range test

สูตรอาหาร ความ เข้มข้น (mg/l)		**ความยาวของตายอดใหม่ (mm)**	**ความยาวยอดใหม่ (mm)**	**จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ต้น)**	**จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ต้น)**	**ขนาดของแคลลัส (cm)**	**อัตราการเกิดแคลลัส %**
Control		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Kn	0.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	1.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
BA	0.1	0.05 ± 0.03^{a}	0.00	0.12 ± 0.10^{a}	0.00	0.00	0.00
	0.5	0.02 ± 0.02^{a}	0.35 ± 0.12^{b}	0.55 ± 0.24^{c}	0.00	0.00	0.00
	1.0	0.22 ± 0.11^{b}	0.25 ± 0.15^{b}	$0.42\pm0.2.0^{bc}$	0.00	0.00	0.00
	2.0	0.10 ± 0.10^{a}	0.35 ± 0.16^{b}	0.22 ± 011^{ab}	0.00	0.00	0.00
TDZ	0.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	1.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

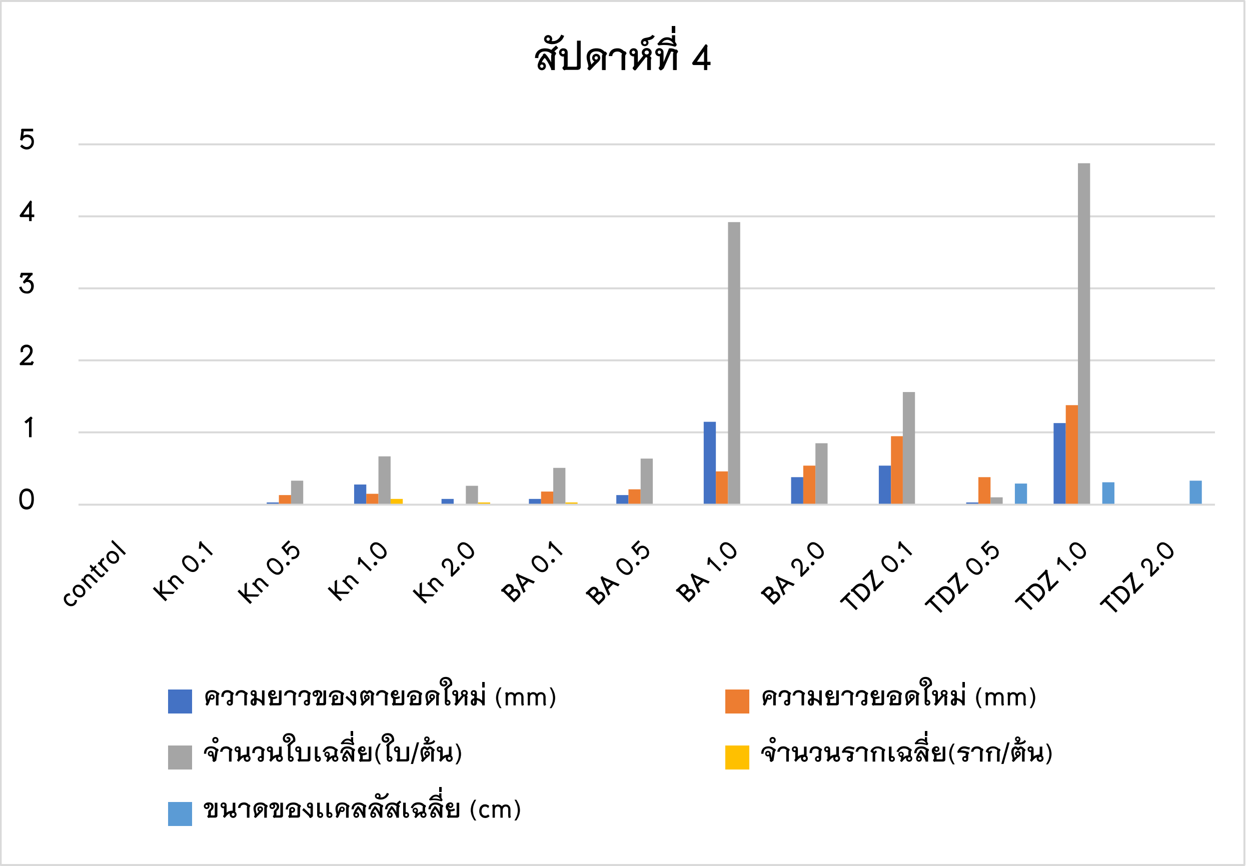


ภาพ 2 กราฟแสดงจำนวนตายอดเฉลี่ย จำนวนยอดใหม่เฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ขนาดของแคลลัสเฉลี่ยของต้นว่านไก่แดงอายุ 2 สัปดาห์

ตารางที่ 3 แสดงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ในอาหารสูตร MS สำหรับการเจริญเติบโตของว่านไก่แดงโดยมีใบเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร ความ เข้มข้น (mg/l)		ความยาวของตายอดใหม่ (mm)	ความยาวยอดใหม่ (mm)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ต้น)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ต้น)	ขนาดของแคลลัสเฉลี่ย (cm)	อัตราการเกิดแคลลัส %
Control		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Kn	0.1	0.02±0.02^{a}	0.12±0.08^{a}	0.32±0.19^{a}	0.00	0.00	0.00
	0.5	0.27±0.15^{a}	0.15±0.12^{a}	0.65±0.45^{ab}	0.07±0.05^{b}	0.00	0.00
	1.0	0.07±0.04^{a}	0.00	0.25±0.16^{a}	0.02±0.02^{ab}	0.00	0.00
	2.0	0.07±0.04^{a}	0.17±0.10^{a}	0.50±0.22^{ab}	0.02±0 02^{ab}	0.00	0.00
BA	0.1	0.12±0.06^{a}	0.20±0.08^{a}	0.62±0.25^{ab}	0.00	0.00	0.00
	0.5	1.12±0.26^{c}	0.45±0.13^{a}	3.82±0.84^{c}	0.00	0.00	0.00
	1.0	0.37±0.15^{ab}	0.52±0.16^{ab}	0.82±0.26^{ab}	0.00	0.00	0.00
	2.0	0.57±0.17^{b}	0.97±0.23^{bc}	1.70±0.43^{b}	0.00	0.00	0.00
TDZ	0.1	0.02±0.02^{a}	0.37±0.37^{a}	0.10±0.10^{a}	0.00	0.28±0.04^{b}	57.5
	0.5	1.10±0.23^{c}	1.35±29^{c}	4.62±0.92^{c}	0.00	0.32±0.05^{b}	50
	1.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30±0.05^{b}	52.5
	2.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33±0.04^{b}	60

หมายเหตุ : ตัวอักษรฑู่ไม่เหมือนกันฑู่อยู่ในสดมฏฏดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติฑู่ระดับความเฐู่อมั่น 95% วิเคราะห์ความแตกต่างโดยวิธี Duncan’s multiple range test

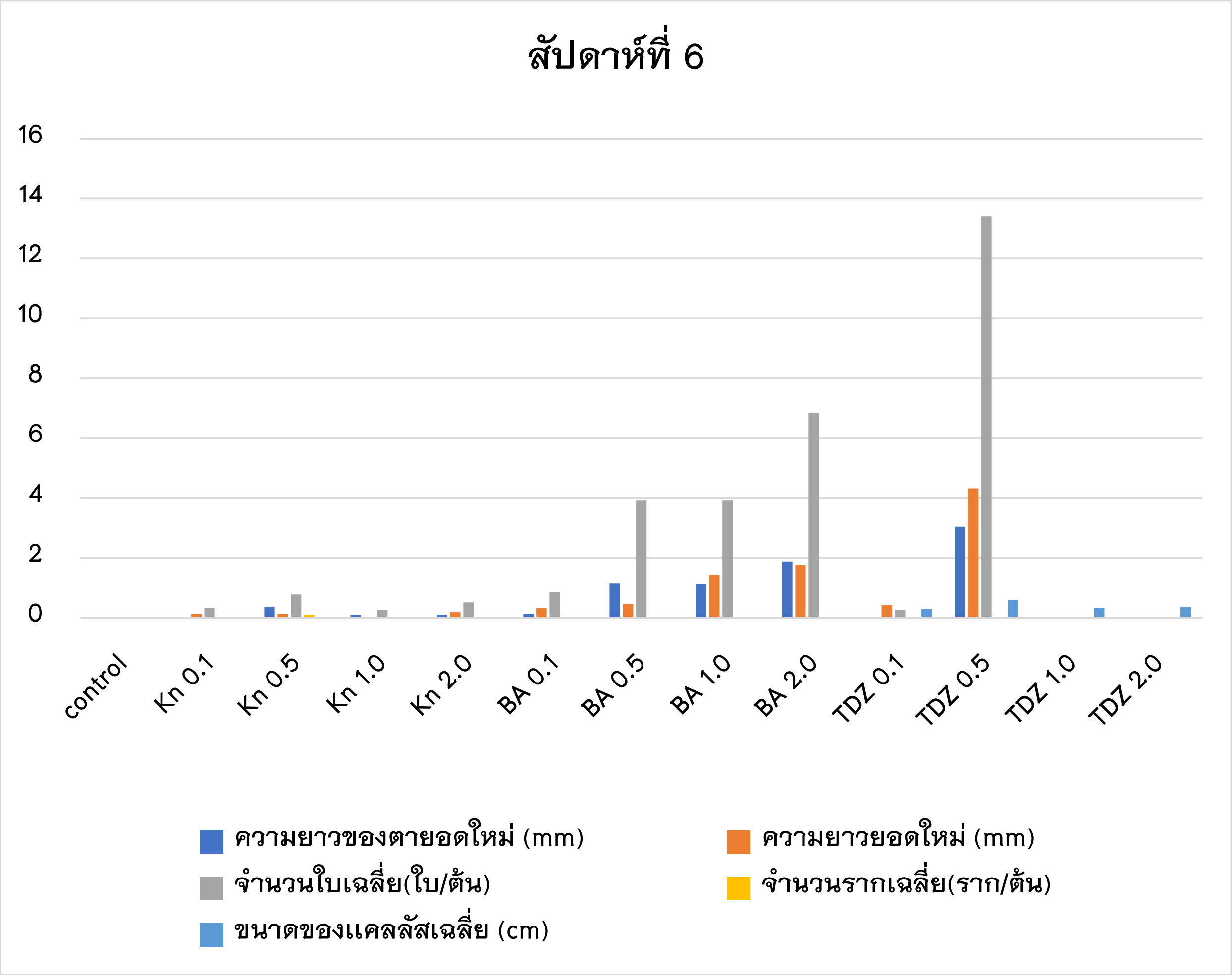


ภาพ 3 กราฟแสดงจำนวนตายอดเฉลี่ย จำนวนยอดใหม่เฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ขนาดของแคลลัสเฉลี่ยของต้นว่านไก่แดงอายุ 4 สัปดาห์

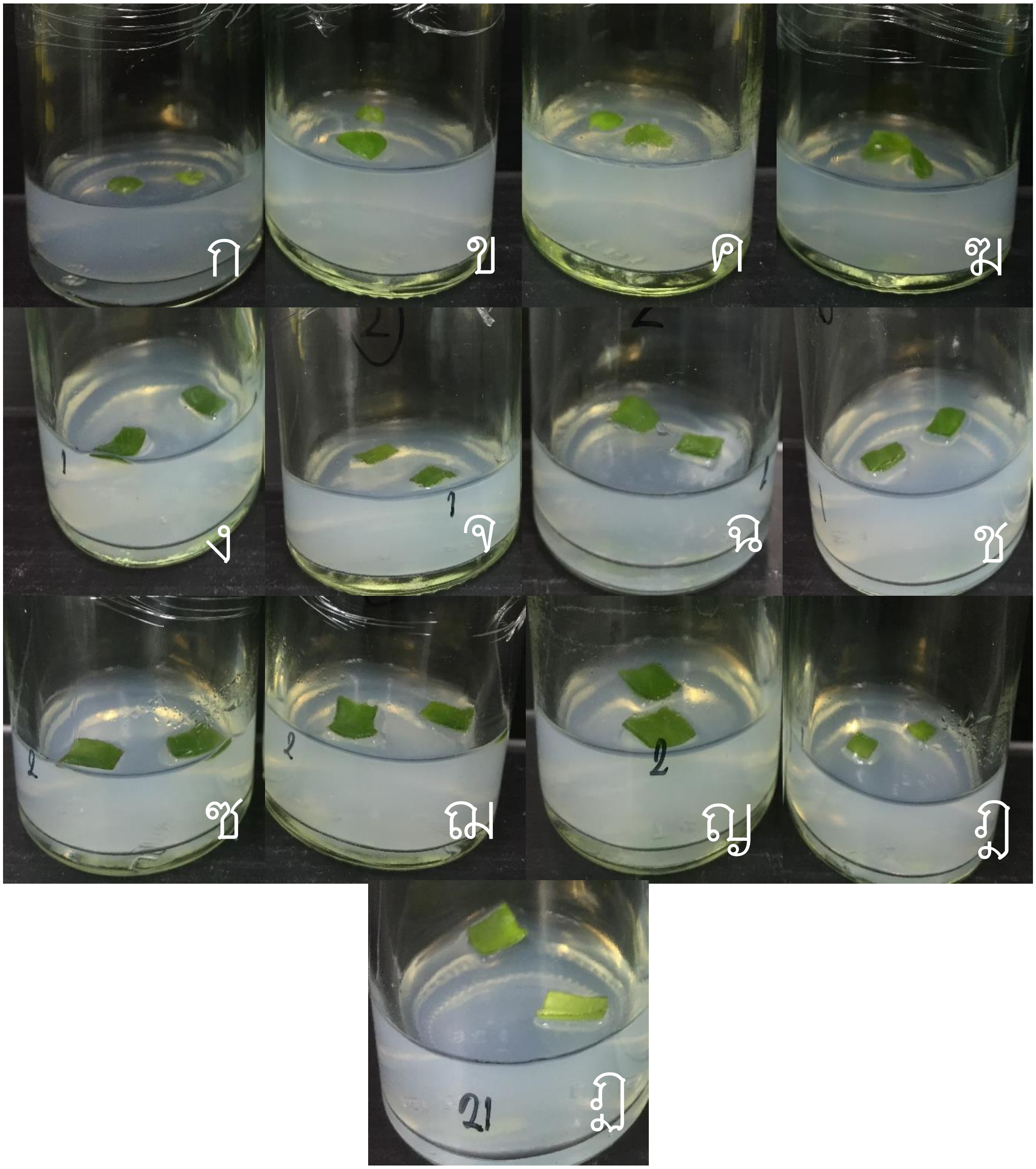
ตาราง 4 แสดงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ในอาหารสูตร MS สำหรับการเจริญเติบโตของต้นไก่แดงโดยมีใบเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร ความเข้มข้น (mg/l)		**ความยาวของตายอดใหม่ (mm)**	**ความยาวยอดใหม่ (mm)**	**จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ต้น)**	**จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ต้น)**	**ขนาดของแคลลัสเฉลี่ย (cm)**	**อัตราการเกิดแคลลัส %**
Control		0.00	.0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Kn	0.1	0.02±0.02^{a}	0.12±0.08^{a}	0.32±0.19^{a}	0.00	0.00	0.00
	0.5	0.27± 0.15^{ab}	0.15±0.12^{a}	0.65±0.45^{ab}	0.07±0.05^{b}	0.00	0.00
	1.0	0.07±0.04^{a}	0.00	0.25±0.16^{a}	0.02±0.02^{ab}	0.00	0.00
	2.0	0.07±0.04^{a}	0.17±.0.10^{a}	0.50±0.22^{ab}	0.02±0.02^{ab}	0.00	0.00
BA	0.1	0.12±0.06^{a}	0.20±0.08^{a}	0.62±0.25^{ab}	0.00	0.00	0.00
	0.5	1.12±0.26^{c}	0.45±0.13^{a}	3.82±0.84^{c}	0.00	0.00	0.00
	1.0	0.37±0.15^{ab}	0.52±0.16^{ab}	0.82±0.26^{ab}	0.00	0.00	0.00
	2.0	0.57±0.17^{b}	0.97±0.23^{bc}	1.70±0.43^{b}	0.00	0.00	0.00
TDZ	0.1	0.02±0.02^{a}	0.37±0.37^{a}	0.10±0.10^{a}	0.00	0.28±0.04^{b}	57.5
	0.5	1.10±0.23^{c}	1.35±0.29^{c}	4.62±0.92^{ab}	0.00	0.32±0.05^{b}	50
	1.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30±0.05^{b}	52.5
	2.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33±0.04^{b}	60

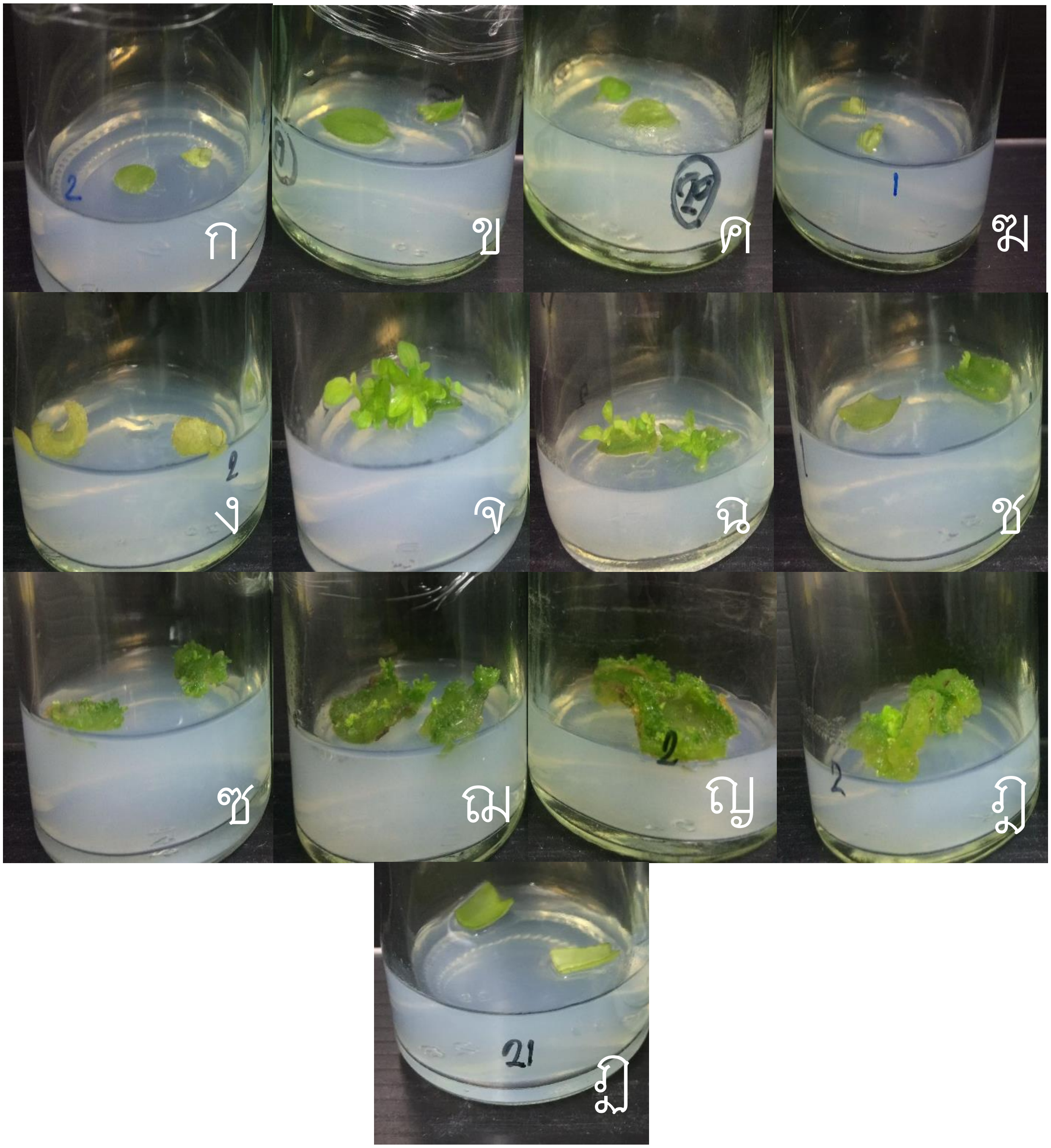
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์ความแตกต่างโดยวิธี Duncan’s multiple range test



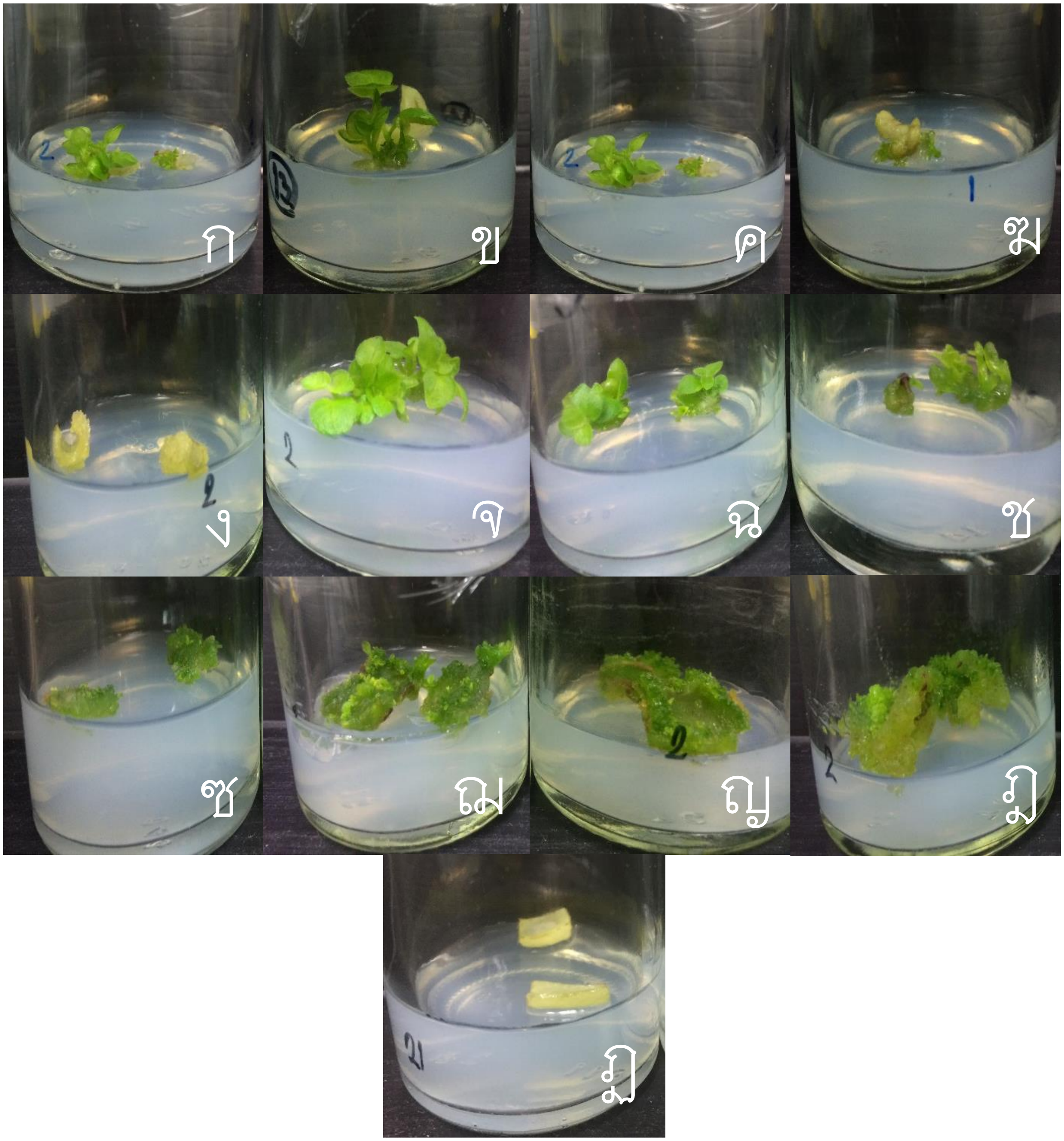
ภาพ 4 กราฟแสดงจำนวนตายอดเฉลี่ย จำนวนยอดใหม่เฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ขนาดของแคลลัสเฉลี่ยของต้นว่านไก่แดงอายุ 6 สัปดาห์



ภาพ 5 (ก–ฏ) แสดงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีใบเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kn ความเข้มข้น 0.1 mg/l (ก) 0.5 mg/l (ข) 1.0 mg/l และ 2.0 mg/l BA ความเข้มข้น 0.1 mg/l (ง) 0.5 mg/l (จ) 1.0 mg/l (ฉ) และ 2.0 mg/l (ช) TDZ ความเข้มข้น 0.1 mg/l (ซ) 0.5 (ฌ) mg/l 1.0 mg/l (ญ) และ 2.0 mg/l (ฎ) อาหารสูตรควบคุมไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ฏ) เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์



ภาพ 6 (ก–ฏ) แสดงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีใบเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kn ความเข้มข้น 0.1 mg/l (ก) 0.5 mg/l (ข) 1.0 mg/l และ 2.0 mg/l BA ความเข้มข้น 0.1 mg/l (ง) 0.5 mg/l (จ) 1.0 mg/l (ฉ) และ 2.0 mg/l (ช) TDZ ความเข้มข้น 0.1 mg/l (ซ) 0.5 (ฌ) mg/l 1.0 mg/l (ญ) และ 2.0 mg/l (ฎ) อาหารสูตรควบคุมไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ฏ) เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์



ภาพ 7 (ก-ฏ) แสดงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีใบเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kn ความเข้มข้น 0.1 mg/l (ก) 0.5 mg/l (ข) 1.0 mg/l และ 2.0 mg/l BA ความเข้มข้น 0.1 mg/l (ง) 0.5 mg/l (จ) 1.0 mg/l (ฉ) และ 2.0 mg/l (ช) TDZ ความเข้มข้น 0.1 mg/l (ซ) 0.5 (ฌ) mg/l 1.0 mg/l (ญ) และ 2.0 mg/l (ฎ) อาหารสูตรควบคุมไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ฏ) เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปการทดลอง

อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการทดลองเพาะเลี้ยงต้นไก่แดงที่มีชิ้นส่วนเริ่มต้น คือ ใบ นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Kn BA และ TDZ ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดการชักนำให้เกิดแคลลัส การเพิ่มจำนวนราก ยอด ใบ และต้นใหม่ ซึ่งชิ้นส่วนเริ่มต้นจากใบ สูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดเฉลี่ย 1.12 ยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ในความเข้มข้นต่าง ๆ เพียงชนิดเดียว สามารถเพิ่มจำนวนยอดพืชที่เพาะเลี้ยงได้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน จะช่วยในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเร่งการชักนำให้เกิดยอด แต่การใช้ฮอร์โมนพืชลงในอาหารทั้งกลุ่มออกซินและไซโตไคนินในอาหารที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมักจะมีการเจริญเป็นแคลลัสและเกิดการกลายพันธุ์สูง (รัชนี เพ็ชร์ช้าง, 2554) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของกาพย์แก้ว แก้วนาบอน และคณะ(2560) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วน ใบเลี้ยง ใบ และปล้องของต้นลินเดอร์เนียร์บนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าใบเลี้ยง ใบ และ ปล้อง ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 17.91 19.41 และ 18.67 ต่อชิ้นส่วนตามลำดับ พบว่าสูตรอาหารที่มีการเติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อปริมาณของ BA เพิ่มสูงขึ้น อัตราการเกิดจำนวนยอดและการขยายขนาดของแคลลัสเพิ่มขึ้น สูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสขนาดสูงสุดเฉลี่ย 0.33 มิลลิเมตรต่อชิ้นส่วนใบ และมีอัตราการเกิดแคลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของพันทิพา ลิ้มสงวน,สนธิชัย จันทร์เปรม และเสริมศิริ จันทร์เปรม สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากกลีบดอกเบญจมาศทั้ง 5 สายพันธุ์ คือสูตรที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ 2,4-D ร่วมกัน สูตรอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและสูตรที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพียงชนิดเดียวไม่ว่าจะเป็น BA หรือ 2,4-D ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ สำหรับสูตรที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้นั้นพบว่าการเจริญเติบโตของแคลลัสมีความแตกต่างกัน สูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ส่งผลให้แคลลัสมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล ซึ่ง George

and Sherrington (1984) อธิบายว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีความสัมพันธ์ระหว่างสารในกลุ่มออกซินและไซโทไคนินต่อการพัฒนาไปเป็นอวัยวะของพืช การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเพียงชนิดเดียวอาจทำให้การพัฒนาเนอวัยวะของพืชเกิดขึ้นได้น้อยหรืออาจไม่มีการพัฒนาเลย จากการทดลองนี้สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากกลีบดอกเบญจมาศทั้ง 5 พันธุ์ ได้ดีโดยเกิดแคลลัสมีน้ำหนักมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ สูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5-1 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งผลนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Thangmanee and Kanchanaoom (2011) ที่เพาะเลี้ยงกลีบดอกเบญจมาศ [*Chrysanthemum x grandiflorum* (Ramat.) Kitam.] บนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA และ 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ประสิทธิภาพการเกิดแคลลัสสูงสุดอย่างไรก็ตาม จากการทดลองนี้ยังพบวา สูตรอาหารที่เติม BA และ 2,4-D ความเข้มข้นสูง ๆ มียอดเกิดขึ้นด้วยเล็กน้อย แต่ยอดที่ได้นี้มีขนาดเล็กและฉ่ำน้ำ

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบต่อของต้นไก่แดง พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่สูงสุดเฉลี่ย 1.12 ยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น สูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่และใบสูงสุดเฉลี่ย 4.35 ต้นต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น และ 4.62 ใบต่อชิ้นส่วนตามลำดับ สูตรอาหาร MS ที่เติม Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุดเฉลี่ย 0.07 รากต่อชิ้นส่วน และสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุดเฉลี่ย 0.33 มิลลิเมตรต่อชิ้นส่วน

ข้อเสนอแนะ

1.การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นใหม่ ควรขยายระยะเวลาในการทำการทดลองเป็น 7-8 สัปดาห์

2.ควรศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีผลต่อการพัฒนาเป็นแคลลัส ราก ยอด จากเนื้อเยื่อส่วนใบของต้นไก่แดง

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กนกวรรณ เสรีภาพ. (2554). **คู่มือประกอบการสอนวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย วิชาชีววิทยา เรื่อง ออกซิน.** สำนักงานคณะกรรมการการศึกษาขั้นพื้นฐานและ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

กรรณิกา โพธิ์สามต้น. (2555). **ผลของ BA ต่อการเจริญเติบโตของว่านน้ำทองในสภาพปลอดเชื้อ.** วิทยานิพนธ์ กษ.บ., มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ, นนทบุรี

กสานต์ หาญชนะ, ปิยะพร แสนสุข และสุรพล แสนสุข. (2557). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะตูม. วารสารมหาวิทยาลัยขอนแก่น,** 19(4), 585-595

ขวัญเดือน รัตนา. (2561).) **การศึกษาอิทธิพลของ BA และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ.** การศึกษาค้นคว้าด้วยตนเอง,มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี, อุบลราชธานี.

ณัฏฐา พงศ์ปภาวี. (2547). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านมหาเมฆและว่านไก่แดง.** วิทยานิพนธ์ วท.บ., มหาวิทยาลัยเกษตรศษสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2563, จาก http://www.lib.kps.ku.ac.th/SpecialProject/Agronomy/2547/Bs/NatthaPo/NatthaPoAll.pdf

ธนภรณ์ อิ่นถา และศิริรัตน์ กิติคู้. (2561). **ผลของออกซินและไซโตไคนินต่อการเพิ่มจำนวนยอดของพุทธรักษา (*Conna indica* L.) ในสภาพปลอดเชื้อ.** วิทยานิพนธ์ วท.บ., มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา.

ปิยังกูร ภัทรมงคลเขตต์. (2561). **การชักนำการออกดอกในหลอดทดลองของเอื้องจิ๋ว.** วิทยานิพนธ์ วท.บ., มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา.

พรพิมล สุริยจันทราทอง. (2545). **หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** อุบลราชธานี: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ สถาบันมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

พันทิวา ทีรวม และ ขวัญเดือน รัตนา. (2560). **การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นใหม่ของข้าวเจ้าหอมนิล.** วารสารมหาวิทยาลัยขอนแก่น, 1(45), 1053-1059

พันธิตรา กมล, ปวีร์รฐา วรดิลกพิพัฒน์, คงศักดิ์ พร้อมเทพ และ ปรียานันท์ แสนโภชน์. (2555). **ผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มจำนวนยอดของ *Zingiber mekongense* Gagnep.** สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2653, จาก http://tar.thailis.or.th/handle/123456789/538

ภพเก้า พุทธรักษ์, รัฐพร จันทร์เดช และวารุต อยู่คง. (2555). **การขยายพันธุ์บอนสี กุหลาบหินและคว่ำตายหงายเป็นโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง, 21(2), 1-15

เมธินี ตีฆาอายุ. (2560). **ผลของสูตรอาหารต่อการขยายพันธุ์โปรโตครอมในหลอดทดลองกล้วยไม้เอื้องสายน้ำครั่ง.** วิทยานิพนธ์ วท.บ., มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา.

เยาวมาลย์ น้อยใหม่. (2555). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวลูกผสมพันธุ์ฉลองขวัญ.** วิทยานิพนธ์ วท.บ., มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, ปทุมธานี. สืบค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2563, จาก http://www.repository.rmutt.ac.th/bitstream/handle/123456789/938/131878.pdf

รณฤทธิ์ พุ่มพฤกษ. (2557). **ผลของ Kinetin และ IBA ต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสจากกลีบดอกเบญจมาศ.** วิทยานิพนธ์ กษ.บ., มหาวิทยาลัยเกษตรศษสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. ชลบุรี สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2563,
จาก http://www.lip.kps.ku.ac.th/Specialproject/Horticulture/2557/Bs/Ronnaritph/abst.pdf

สมปอง เตชะโต, สุรีรัตน์ เย็นช้อน และวราภรณ์ หีดฉิม. (2555). **การถ่ายทอดเทคโนโลยีชีวภาพการขยายพันธุ์พืชอย่างง่ายแก่โรงเรียนมัธยมในจังหวัดสงขลาที่อนุรักษ์พันธุกรรมพืชในรูปของสวนพฤษศาสตร์.** สืบค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2563, จาก
http://natres.psu.ac.th/office/foreign/res/2017_June_TransferBiotechSchool.pd

อนุพันธ์ กงบังเกิด. (2556). **การขยายส่วนการผลิตต้นพันธุ์พืชสกุลไก่แดงในหลอดทดลองเพื่อการค้าและใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน.** สาขาวิทยาศาสตร์เคมีและเภสัชศาสตร์ชีวเคมี., มหาวิทยาลัยนเรศวร. สืบค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2563, จาก http://stdb.most.go.th/research_detail

อรุณี ม่วงแก้วงาม. (2559). **การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นพันธุ์ดาหลา ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** ยะลา: คณะวิทยาสาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร สถาบันราชภัฏยะลา.

อัศวิน ธะนะบัด. (2553). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดและใบอ่อนมะลิ(Jasminum spp.)** การศึกษาค้นคว้าด้วยตนเอง วท.บ., มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา.

อุบล สมทรง. (2556). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส้มซ่า.**วิทยานิพนธ์ วท.บ., มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี, เพชรบุรี. สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2563, จาก http://paj.rmu.ac.th/journal_file/64.pdf

Claudia A, Cesar A. (2018). **In vitro plant tissue culture:means for production of biological active compound.** Planta, 248, 1-18

Ikeuchi, M., K. Sugimoto, and A. Iwase. 2013. **Plant callus mechanisms of induction and repression.** Planta Cell, 25, 3159-73.

Murashige, T. and F. skoog. 1962. Arevised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue.Physiol. plant. 15: 473-479

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962)

ชื่อสารเคมี	ชื่อสูตรเคมี	ปริมาณสาร (g/l)
Stock 1 (100X)		
Potasium Dihydrogen Phosphate	KH_2PO_4	17
Boric Acid	H_3BO_3	0.62
Sodium Molybdate Dehydrate	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.025
Stock 2 (50X)		
Ammonium Nitrate	NH_4NO_3	165
Copper Sulphate pentahydrate	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.0025
Potassium Nitrate Chloride	KNO_3	
Dihydrate		
Stock 3 (100X)		
Potassium Iodide	KI	0.083
Cobalt Chloride	$COCl_2 \cdot 6H_2O$	0.0025
Calcium Chloride Dihydrate	$CaCl_22H_2O$	44
Stock 4 (100X)		
Manganese Sulphate Tetrahydrate	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	1.69
Zinc Sulphate Heptahydrate	$ZnSO_4.7H_2O$	0.86
Magnesium Sulphate	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	37
Stock 5 (100X)		
Sodium EDTA	$Na_2EDTA \cdot 2H_2O$	3.73
Ferrous Sulphate	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	2.73
Stock 6 (100X)		
MyO-inositol	–	10
Nicotinic Acid	–	0.05

ชื่อสารเคมี	ชื่อสูตรเคมี	ปริมาณสาร (g/l)
Pyridoxie-HCl	-	0.05
Thiamine-HCl	-	0.01
Glycine	-	0.2
น้ำตาลทราย	-	30
ผงวุ้น	-	7
ชื่อฮอร์โมน	**ชื่อสูตรเคมี**	**ปริมาณสาร (mg/l)**
Knetin (Kn)	$C_{10}H_9N_5O$	0.1 0.5 1.0 และ 2.0
Benzylaminopurine (BA)	$C_{12}H_{11}N_5$	0.1 0.5 1.0 และ 2.0
Thidiazuron (TDZ)	$C_9H_8N_4OS$	0.1 0.5 1.0 และ 2.0

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล นายกุลวัฒน์ บัวป้อม

วันเดือนปีที่เกิด 10 ธันวาคม 2540

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2553–2555 ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนสุโขทัยวิทยาคม อำเภอเมือง จังหวัดสุโขทัย ปีที่จบ 2555

พ.ศ. 2556–2558 ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสุโขทัยวิทยาคม อำเภอเมือง จังหวัดสุโขทัย ปีที่จบ 2558

พ.ศ. 2559–ปัจจุบัน ระดับปริญญาตรีการศึกษาบัณฑิต สาขาวิชาการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

ที่อยู่ปัจจุบัน 146/10 หมู่ 1 ตำบลแม่กา อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา 56000

เบอร์โทรติดต่อ 091-8760222

จีเมล์ feel.4920@gmail.com

ชื่อ-สกุล	นางสาวศศิธร ปัญญาสิทธิ์
วันเดือนปีเกิด	23 กรกฎาคม 2540
ประวิติการศึกษา	
พ.ศ. 2553-2555	ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนกุมภวาปี อำเภอกุมภวาปี จังหวัดอุดรธานี ปีที่จบ 2555
พ.ศ. 2556-2558	ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนกุมภวาปี อำเภอกุมภวาปี จังหวัดอุดรธานี ปีที่จบ 2555
พ.ศ. 2559-ปัจจุบัน	ระดับปริญญาตรีการศึกษาบัณฑิต สาขาวิชาการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	10 หมู่ 2 ตำบลตาดทอง อำเภอศรีธาตุ จังหวัดอุดรธานี 41230
เบอร์ติดต่อ	062-1714468
จีเมล์	nickbio59@gmail.com