การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.)

โดย

นางสาวนันท์นภัส เทพสำราญ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

TISSUE CULTURE OF PHYSIC NUT (*Jatropha Curcas* L.)

By

Nannapat Thepsamran

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Department of Biology

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2006

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.) ” เสนอโดย นางสาวนันท์นภัส เทพสำราญ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

…….....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตังกูร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา
2. รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ทองภักดี

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

..... ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ)
...../...../.....

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา)
...../...../.....

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ทองภักดี)
...../...../.....

..... กรรมการ
(ดร.ชบา จำปาทอง)
...../...../.....

48303202 : สาขาวิชาชีววิทยา
คำสำคัญ : สบู่ดำ/การขยายพันธุ์/การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
นันท์นภัส เทพสำราญ : การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.).
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร. โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา และ รศ.ดร. อารีย์ ทองภักดี. 72 หน้า.

การศึกษาการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณในหลอดทดลองของสบู่ดำจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้าง ก้านใบ และใบของสบู่ดำ โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม N^6-benzyladenine (BA) เพียงชนิดเดียวหรือร่วมกับ indole-3-butyric acid (IBA) ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอด ขนาด 0.7 เซนติเมตร ที่เกิดจากตาข้างได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.049 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดเท่ากับ 5.88 ยอด ในระยะเวลา 6 สัปดาห์ สำหรับการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบ ขนาด 0.5×0.5 ตารางเซนติเมตร ของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 และจากชิ้นส่วนใบ ขนาด 0.5×0.5 ตารางเซนติเมตร จากข้อที่ 2 และ 3 โดยชักนำให้เกิดแคลลัสในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 และชักนำการเกิดยอดในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 ซึ่งมีรอบการเพาะเลี้ยงรอบละ 30 วัน พบว่าความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดจากชิ้นส่วนก้านใบและใบคือ BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ และ BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ โดยชิ้นส่วนก้านใบและใบจากข้อที่ 2 มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณมากที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดจากชิ้นส่วนก้านใบและชิ้นส่วนใบเท่ากับ 70 และ 83.3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เกิดจำนวนยอด 5.4 และ 3.33 ยอด ตามลำดับ สำหรับการชักนำให้เกิดรากจากยอด ขนาด 1.5-2.0 เซนติเมตร ของต้นสบู่ดำที่ปลูกในแปลง สูตรอาหารที่เหมาะสมคือ สูตร basal rooting medium (BRM) ที่ประกอบด้วย อาหารครึ่งสูตรของ MS และ Phloroglucinol (PG) ความเข้มข้น 793 ไมโครโมลาร์ ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46 ไมโครโมลาร์ เลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 วัน แล้วย้ายลงบนอาหารสูตร BRM ที่ปราศจาก IBA โดยเกิดรากจากยอดหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9-10 วัน โดยให้เปอร์เซ็นต์ยอดที่เกิดราก 80 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ยและความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 13.40 รากต่อยอด และ 2.13 เซนติเมตร ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2549
ลายมือชื่อนักศึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ 1. ..... 2. .....

48306202 : MAJOR : PHYSICS
KEY WORD : DIRECT NORMAL RADIATION/SOLAR THERMAL POWER PLANT
PARINYA SRISAVAT : POTENTIALS OF CONCENTRATING SOLAR POWER TECHNOLOGIES : A CASE STUDY FOR ROI ET PROVINCE . THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SERM JANJAI, Ph. D. 99 pp.

The objective of this project is to investigate the potentials of employing concentrating solar power (CPS) technologies for a case study of Roi Et Province. The location of Roi Et Province was selected for this study because the area receives a high amount of direct solar radiation, and in addition, there is measured direct radiation data available. The performance of three 10-MW concentrating solar power technologies namely, the parabolic trough system, the tower system and the dish/stirling engine system was investigated. The computer programs based on the TRNSYS software with the STEC library were developed to simulate these systems, employing 10-minute direct normal radiation measured at Roi Et Province (16.07 ^{O}N, 103 ^{O}E) between 1/05/2006 to 30/04/2007. Result show that the yearly production of electricity from the parabolic trough system, the tower system and the dish/stirling engine system are 18.4, 25.4 and 11.2 GWh/yr, respectively. An economic analysis of the three systems was done based on the yearly production of electricity obtained from the simulation and cost estimation of each system. The values of levelized electricity costs (LEC) of the three systems were compared, and it was found that the parabolic trough system gave the lowest LEC value of 8.53 baht/kWh.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Department of Physics Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2006
Student's signature .....
Thesis Advisor's signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา และรองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ทองภักดี ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือ ตลอดจนแก้ไขปรับปรุงข้อผิดพลาดในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. กุลนาถ อบสุวรรณ และ ดร. ชบา จำปาทอง ที่ได้กรุณาแนะนำและตรวจแก้ไข พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะ ทำให้งานวิจัยนี้สมบูรณ์

ขอขอบคุณ คุณแสนสุข รัตนผล กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ บางเขน กรุงเทพฯ ที่ให้ความอนุเคราะห์ต้นสบู่ดำสำหรับใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณคณาจารย์ คุณสุลักษณ์ อยู่คง คุณณรงค์ สามงามนิ่ม และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาชีววิทยาทุกคนที่ให้ความสะดวกในด้านต่างๆ ตลอดจนพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจเป็นอย่างดี

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนการศึกษามาโดยตลอด ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		จ
กิตติกรรมประกาศ		ฉ
สารบัญตาราง		ญ
สารบัญรูป		ฏ
คำอธิบายคำย่อ		ฑ
บทที่		
1	บทนำ	1
	1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	2. ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
	3. ขอบเขตของการศึกษา	3
	4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
	1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสบู่ดำ	4
	2. สมบัติของน้ำมันสบู่ดำ	7
	3. ประโยชน์ของสบู่ดำ	8
	4. การรวบรวมพันธุ์ของสบู่ดำ	11
	5. การขยายพันธุ์สบู่ดำ	11
	6. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	12
	7. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสกุล *Jatropha*	12
	8. การเกิดรากแขนง	16
3	อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการทดลอง	21
	1. อุปกรณ์และสารเคมี	21
	2. วิธีการทดลอง	23
	2.1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ	23
	2.2 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ	25

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์

บทที่		หน้า
	2.3 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ.....	27
	2.4 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ.....	29
4	ผลการทดลอง.....	31
	1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เ ตาข้างของสบู่ดำ.....	31
	2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้การเกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ.....	35
	3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ.....	43
	4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ.....	51
5	อภิปรายผลการทดลอง.....	56
	1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ.....	56
	2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้การเกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ.....	57
	3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ.....	58
	4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ....	59
6	สรุปผลการทดลอง.....	62
	1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ.....	62
	2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้การเกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ.....	62
	3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ.....	62

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

บทที่ หน้า
4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ... 63
5. การเปรียบเทียบการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของสบู่ดำ..... 63
ข้อเสนอแนะ..... 64
บรรณานุกรม..... 65
ภาคผนวก..... 70
ภาคผนวกองค์ประกอบของอาหารสูตร Murashige and Skoog..... 71
ประวัติผู้วิจัย..... 72

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมีของน้ำมันสบู่ดำ.....	7
2	สมบัติของสบู่ดำที่สกัดจากเมล็ดในการเป็นยาฆ่าแมลง.....	9
3	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ในอาหารสูตร MS สำหรับการชักนำการเกิดยอดทวีคูณจากยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ.....	23
4	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ในอาหารสูตร MS สำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ.....	26
5	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ในอาหารสูตร MS สำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ.....	28
6	วิธีการและความเข้มข้นของ IBA ในอาหารแข็งสูตร BRM สำหรับการชักนำให้เกิดรากของยอดสบู่ดำ.....	29
7	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากยอดที่เกิดจากตาข้างสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	32
8	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเกิดยอดทวีคูณจากก้านใบสบู่ดำที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบ การเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน.....	37
9	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเกิดยอดทวีคูณจากใบสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน.....	45
10	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร basal rooting medium (BRM) ที่ประกอบด้วย อาหารครึ่งสูตร MS ที่เติม PG ความเข้มข้น 793 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 วัน.....	53

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะที่สำคัญในแต่ละส่วนของสบู่ดำ.....	6
2	แสดงการเกิดรากของพืชเมื่อได้รับออกซิน.....	16
3	ผลของ BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการเกิดยอดทวีคูณจากยอดที่แตกจากตาข้างของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์	34
4	การเจริญเติบโตและการพัฒนาของแคลลัสและยอดจากชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 ของสบู่ดำ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน.....	40
5	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสที่เกิดจากก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 ของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน.....	42
6	ผลของ BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของแคลลัสและยอดจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน.....	48
7	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสของชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 ของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA และ IBA หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน.....	50
8	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร basal rooting medium (BRM) ที่ประกอบด้วย อาหารครึ่งสูตร MS ที่เติม PG ความเข้มข้น 793 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 วัน.....	55

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ศูนย์วิทยทรัพยากร

คำอธิบายคำย่อ

คำย่อ		**คำเต็ม**
$^{\circ}C$	=	Degree celsius
µM	=	Micromolar
$\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$.	=	Micromole per square meter per second
2, 4-D	=	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
BA	=	N^6-benzyladenine
BAP	=	6-Benzylaminopurine
BRM	=	Basal Rooting Medium
cm.	=	centrimeter
GA_3	=	Gibberellic acid
HCl	=	Hydrochloric acid
HF	=	Hydrofluoric acid
IAA	=	Indole-3-acetic acid
IBA	=	Indole-3-butyric acid
J. curcas	=	*Jatropha curcas*
J. integerrima	=	*Jatropha integerrima*
J. podagrica	=	*Jatropha podagrica*
Kn	=	Kinetin
KOH	=	Potassium hydroxide
LS	=	Linsmaier and Skoog (1965)
MS	=	Murashige and Skoog (1962)
NAA	=	α - Naphthalene acetic acid
PG	=	Phloroglucinol
TDZ	=	Thidiazuron
v/v	=	Volume per volume

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลิขสิทธิ์

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.) เป็นพืชน้ำมันชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae มีถิ่นกำเนิดแถบอเมริกากลาง (Latin America) และมีการแพร่กระจายทั่วไปในแอฟริกาและเอเชีย เนื่องจากสบู่ดำเป็นพืชที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่แห้งแล้งและทนทานต่อโรคพืช จึงสามารถกระจายพันธุ์ได้ดี ปัจจุบันสบู่ดำเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยเป็นเป้าหมายสำคัญสำหรับการผลิตพลังงานทดแทนในหลายประเทศทั่วโลกเช่น ประเทศอินเดีย มาลี บราซิล และออสเตรีย เป็นต้น ซึ่งในเมล็ดสบู่ดำมีน้ำมัน 33-60 เปอร์เซ็นต์ (Heller 1996; Trabi และคณะ 1997; Winkler และคณะ 1997) น้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดสบู่ดำสามารถนำมาใช้แทนน้ำมันดีเซลกับเครื่องยนต์ดีเซลได้ทันที โดยไม่จำเป็นต้องนำไปผสมกับน้ำมันดีเซลเหมือนกับพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ เช่น น้ำมันมะพร้าวซึ่งต้องนำไปผสมกับน้ำมันดีเซลในอัตราส่วนที่เหมาะสมก่อนจึงนำไปใช้ได้ (ระพีพันธุ์ และสุขสันต์ 2544)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปัจจุบันประเทศไทยมีความจำเป็นต้องนำเข้าน้ำมันปิโตรเลียมคิดเป็นมูลค่าหลายแสนล้านบาท ในขณะเดียวกันราคาน้ำมันมีราคาเพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก (ทวีศักดิ์ 2548) โดยในปี พ.ศ. 2547 ปริมาณการนำเข้าน้ำมันในเดือนมกราคม-กรกฎาคม มีปริมาณรวม 30,275 ล้านลิตร มีมูลค่า 263,961 ล้านบาท ส่วนปี 2548 ปริมาณการนำเข้าน้ำมันในเดือนมกราคม-กรกฎาคม มีปริมาณรวม 30,368 ล้านลิตร มีมูลค่า 374,100 ล้านบาท ซึ่งพบว่ามูลค่าการนำเข้าน้ำมันของปี พ.ศ. 2548 มีมูลค่าสูงกว่าปี พ.ศ. 2547 ถึง 110,139 ล้านบาท ทำให้หลายหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนเร่งแสวงหาพลังงานอื่น ๆ เพื่อทดแทนน้ำมัน สบู่ดำซึ่งเป็นพืชที่ปลูกง่าย ทนแล้ง ทนโรค และน้ำมันที่สกัดได้สามารถนำมาใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้โดยตรง ทำให้สบู่ดำกลายเป็นพืชน้ำมันอีกชนิดหนึ่งที่มีความน่าสนใจ จากสมบัติของสบู่ดำข้างต้นทำให้มีการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกสบู่ดำ เพื่อเป็นพลังงานทดแทน ในต่างประเทศตระหนักถึงปัญหาราคาน้ำมันที่สูงขึ้นเช่นกัน จึงมีการปลูกสบู่ดำเพื่อเป็นพลังงานทดแทน สำหรับต่างประเทศที่มีการปลูกสบู่ดำ เช่น อินเดีย มาลี นิคารากัว แทนซาเนีย และ บราซิล เป็นต้น (Heller 1996)

ประโยชน์ของสบู่ดำมีหลายประการคือ ปลูกเป็นรั้วป้องกันสัตว์ รักษาสภาพดิน เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านสำหรับคนและสัตว์ ใช้เป็นสารชีวภาพสำหรับกำจัดแมลงและศัตรูพืช ใช้ใน

อุตสาหกรรมผลิตสบู่ การผลิตเครื่องสำอาง การทำหมึกพิมพ์ และประโยชน์ด้านพลังงานโดยน้ำมันที่ได้จากเมล็ด (curcas oil) สามารถเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ (Bio fuel หรือ Bio diesel) สำหรับเครื่องยนต์ ตะเกียง การหุงต้ม และเป็นน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ นอกจากนี้กากที่เหลือจากการผลิตน้ำมันสามารถนำไปพัฒนาเป็นปุ๋ยอินทรีย์ และอาหารสัตว์ได้ (Heller 1996; Wiesenhütler 2003)

จากประโยชน์ของสบู่ดำทำให้ทั้งภาครัฐ และภาคเอกชน ต้องการส่งเสริมให้เกษตรกรขยายพื้นที่ปลูกสบู่ดำเป็นจำนวนมาก เพื่อใช้ในการวิจัยพัฒนาในการผลิตต้นพันธุ์ เมล็ด และน้ำมันสำหรับใช้เป็นพลังงานทดแทนเพื่อการค้า การขยายพันธุ์ของสบู่ดำโดยทั่วไปทำได้โดยการเพาะเมล็ดและปักกิ่งชำ แต่เนื่องจากเมล็ดต้องนำไปใช้ในการสกัดน้ำมัน และกิ่งที่ใช้ปักชำต้องเป็นกิ่งจากต้นที่มีลำต้นสีน้ำตาลปนเขียวจึงเหมาะสมในการปักกิ่งชำ นอกจากนี้สบู่ดำเป็นพืชไม่สามารถผสมตัวเองได้ จึงทำให้เมล็ดที่ได้มีความแปรปรวนและไม่ตรงตามพันธุ์ ดังนั้นการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการผลิตต้นพันธุ์สบู่ดำ ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น ตรงตามสายพันธุ์ที่ต้องการ ต้นพันธุ์ปลอดโรคและสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตที่ดีที่สุด รวมทั้งการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ลิขสิทธิ์

สำหรับการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อผลิตต้นสบู่ดำ ได้มีการวิจัยและพัฒนาจากห้องปฏิบัติการในหลายประเทศ เช่น อินเดีย บราซิล และออสเตรีย เป็นต้น (Rajore และคณะ 2002; Plestsch และ Charlwood 1997; da Câmara Machado และคณะ 1997) เพื่อให้เกิดศักยภาพในการผลิตต้นสบู่ดำในปริมาณมากตามต้องการและสามารถนำออกปลูกได้ในสภาพธรรมชาติ

2. ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้าง
2. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบ และชิ้นส่วนใบ
3. เพื่อศึกษาหาตำแหน่งที่เหมาะสมของก้านใบ และใบในการนำไปใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณ
4. เพื่อศึกษาสูตรอาหารและวิธีการที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอด

3. ขอบเขตของการศึกษา

1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้าง โดยทำการคัดเลือกจากสูตรอาหาร 10 สูตร
2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบและตำแหน่งที่เหมาะสมของก้านใบ โดยทำการคัดเลือกจากสูตรอาหาร 36 สูตร
3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบและตำแหน่งที่เหมาะสมของใบ โดยทำการคัดเลือกจากสูตรอาหาร 36 สูตร
4. ศึกษาสูตรอาหารและวิธีการที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอด โดยทำการคัดเลือกจากสูตรอาหาร 7 สูตร และวิธีการ 16 วิธีการ

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้าง
2. ทราบถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบและตำแหน่งที่เหมาะสมของก้านใบในการนำไปใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น
3. ทราบถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบและตำแหน่งที่เหมาะสมของใบในการนำไปใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น
4. ทราบถึงสูตรอาหารและวิธีการที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอด

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สบู่ดำเป็นพืชน้ำมันชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Jatropha curcas* L. มีชื่อสามัญคือ barbadose nut, physic nut และ purging nut พืชที่อยู่ในสกุล *Jatropha* นี้มีมากกว่า 470 ชนิด (species) จัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae ซึ่งเป็นพืชกลุ่มเดียวกับยางพารา โป๊ยเซียน มันสำปะหลัง มะยม น้ำนมราชสีห์ และมะไฟ เป็นต้น (พรชัย 2549) มีถิ่นกำเนิดที่อเมริกากลาง (Latin America) การแพร่กระจายทั่วไปในแอฟริกาและเอเชีย สบู่ดำเป็นพืชที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่แห้งแล้ง และทนทานต่อโรคพืช จึงสามารถกระจายพันธุ์ได้ดีในหลายเขตภูมิอากาศทั้งในเขตร้อน เขตกึ่งร้อน เขตอบอุ่น และเขตที่มีปริมาณน้ำฝนต่ำ (Heller 1996)

การปลูกสบู่ดำในประเทศไทยนั้น เริ่มจากชาวโปรตุเกสนำเข้ามาในช่วงปลายกรุงศรีอยุธยา เพื่อนำเมล็ดไปบีบอัดเอาน้ำมันสำหรับทำสบู่ และใช้น้ำมันจากเมล็ดของสบู่ดำมาจุดตะเกียง โดยเฉพาะสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 ซึ่งเวลานั้นขาดแคลนน้ำมันเชื้อเพลิงอย่างมาก จึงมีการปลูกสบู่ดำแพร่กระจายไปทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย ทำให้พืชนี้มีชื่อเรียกที่แตกต่างกันไปตามท้องถิ่น โดยภาคกลางเรียกว่า สบู่ดำ ภาคเหนือเรียก มะหุ่งฮั้ว ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียก มะเยาหรือสีหลอด ภาคใต้เรียก มะหงเทศหรือยาเคาะ แม้สบู่ดำจะเป็นพืชที่ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยมากกว่า 300 ปี มาแล้ว แต่ประเทศไทยยังมีความรู้เกี่ยวกับสบู่ดำน้อยมาก เนื่องจากไม่ค่อยมีคนให้ความสนใจ เพียงปลูกเป็นพืชริมรั้วเท่านั้น (พรชัย 2549)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสบู่ดำ

สบู่ดำมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือเป็นไม้พุ่มขนาดใหญ่ ทรงพุ่มมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เมตร มีอายุไม่ต่ำกว่า 50 ปี (พรชัย 2549; Heller 1996)

1. ราก (root)

สบู่ดำที่เพาะจากเมล็ดจะมีรากแก้ว โดยมีการเจริญเติบโตในทางลึกแนวดิ่งลงดิน แล้วมีการแตกรากแขนง เมื่อต้นสบู่ดำมีอายุมากขึ้นจะมีรากฝอยกระจายทั่วไป

2. ลำต้น (stem)

สบู่ดำเป็นไม้เนื้ออ่อน ไม่มีแก่น ลำต้นมีลักษณะลำต้นอวบเกลี้ยง ไม่มีขน ลำต้นอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลปนเขียว ลำต้นและกิ่งจะมียาง (latex)

3. ใบ (leaf)

สบู่ดำเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ เมล็ดที่โผล่พ้นดินมีใบเลี้ยง 2 ใบ มีลักษณะกลมรี ขอบใบเรียบ ต่อจากนั้นจึงจะแตกใบจริงขึ้นมา โดยใบเป็นใบเดี่ยว แบบฝ่ามือ (palmate) เรียงตัวแบบสลับ (alternate) รูปร่างใบเป็นรูปหัวใจกว้างถึงรูปโล่ คล้าย ๆ ใบฝ้าย ใบพุดตาล หรือใบละหุ่ง แต่หนากว่า เพราะมีไข (cutin) เคลือบอยู่ที่ผิว แผ่นใบเรียบ ขอบใบหยักเป็นพู มี 5-7 แฉก พูข้างปลายมน พูปลายหรือพูกลางรูปหัวใจปลายแหลม การจัดเรียงตัวของเส้นใบเป็นแบบร่างแห (palmately netted venation) โดยมีเส้นใบเกิดจากจุดตำแหน่งของโคนใบ สีของโคนใบเป็นสีเขียวเข้ม เส้นใบของสบู่ดำ มีเส้นหลักเกิดจากจุดเดียวกันที่ตำแหน่งก้านใบ โดยมีเส้นหลัก 7 เส้น แยกออกจากตำแหน่งก้านใบ ใบมีขนาดกว้างประมาณ 6.0-10.0 เซนติเมตร และยาวประมาณ 15.0 เซนติเมตร ยอดและใบอ่อนมีสีม่วงแกมเขียว

4. ดอก (flower)

ดอกออกบริเวณซอกใบใกล้ปลายกิ่ง ลักษณะเป็นช่อคล้ายช่อเชิงหลั่น มักออกเป็นคู่ ๆ ช่อยาวได้ถึง 12 เซนติเมตร ก้านช่อยาวประมาณ 6 เซนติเมตร เป็นช่อกระจุกที่ส่วนปลายของยอด ดอกมีขนาดเล็กสีเหลืองมีกลิ่นหอมอ่อนๆ โดยดอกจะเริ่มบานจากล่างขึ้นบน ในต้นเดียวกันมีทั้งดอกเพศผู้และดอกเพศเมีย (monoecious plant) ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียมักอยู่แยกกัน แต่อยู่ภายในช่อเดียวกัน เป็นดอกไม่สมบูรณ์เพศ (imperfect) ดอกเพศผู้มีกลีบเลี้ยงเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็นแฉก รูปไข่ แกมขอบขนาน สีเหลืองแกมเขียว กว้าง 1.5 มิลลิเมตร ยาว 3.0 มิลลิเมตร โดยประมาณ ปลายกลม ด้านในมีขนยาวห่าง มีต่อมน้ำหวานที่โคนกลีบด้านใน เกสรเพศผู้มี 10 อัน แบ่งออกเป็น 2 วง วงนอกแยกจากกัน วงในเชื่อมติดกัน อับเรณูยาว 1.5 มิลลิเมตร สีเหลือง ดอกเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าดอกเพศผู้ อยู่กลางของช่อย่อย กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็นแฉกยาวประมาณ 4.0 มิลลิเมตร ลักษณะอื่นคล้ายดอกเพศผู้ กลีบดอกมีลักษณะเป็นรูปขอบขนานแกมรี สีเขียวอ่อน มีเกสรเพศผู้ที่เป็นหมัน 10 อัน สีขาว รังไข่รูปกระสวยมี 3 พู ปลายก้านมียอดเกสรเพศเมียแยกเป็น 2 แฉก ดอกเพศผู้มีประมาณร้อยละ 70 และดอกเพศเมียมีประมาณร้อยละ 30 อยู่บนต้นเดียวกัน บางครั้งอาจพบดอกที่มีเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียอยู่ภายในดอกเดียวกัน (Dehgan and Webster 1979) แต่ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ จำเป็นต้องอาศัยแมลงในการช่วยผสมพันธุ์

5. ผล (fruit)

ผลมีรูปร่างค่อนข้างป้อมหรือรูปกระสวย กว้าง 2.0-3.0 เซนติเมตร ยาว 2.5-3.5 เซนติเมตร ลักษณะเป็นแบบเปลือกแข็ง (capsule) เป็นพู (lobes) เกลี้ยงเกลา ผลอ่อนมีสีเขียวอ่อน ส่วนมากมี 3 พู ผลแก่จัดหรือสุกจะมีสีเหลืองและเปลี่ยนเป็นสีดำ ผลสดหนึ่งผลมีน้ำหนักประมาณ 15.0 กรัม

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ผลแห้งน้ำหนักจะลดลงเหลือ 2.6 กรัม หนึ่งผลมีจำนวนเมล็ด 2-3 เมล็ด แต่ส่วนมากพบว่ามีจำนวน 3 เมล็ด ระยะเวลาตั้งแต่ออกดอกจนผลแก่ใช้เวลาประมาณ 60-90 วัน

6. เมล็ด (seed)

เมล็ดจากผลแก่มีสีดำผิวเรียบเป็นมัน แต่เมื่อเมล็ดแห้งผิวจะหยาบ ไม่เรียบ เมล็ดมีรูปร่างป้อมยาวรูปกระสวยแกมขอบขนาน (oblong) แบนข้าง มีขนาดประมาณ 1.0x2.0 เซนติเมตร เปลือกสีดำแข็งหนาหุ้ม เมื่อกะเทาะเปลือกออกจะพบเนื้อในสีขาว (kernel) ซึ่งเป็นส่วนที่จะนำไปสกัดน้ำมัน โดยมีน้ำมันเป็นส่วนประกอบประมาณ 33.0-60.0 เปอร์เซ็นต์ต่อเมล็ด น้ำหนักเมล็ดเมื่อผลสุกพอดีจะมีประมาณ 1,000 เมล็ดต่อกิโลกรัม แต่เมื่อนำเมล็ดสดมาตากแห้งให้มีความชื้นประมาณ 11.0-12.0 เปอร์เซ็นต์ จะมีจำนวนเมล็ด 1,200-1,400 เมล็ดต่อกิโลกรัม โดยน้ำหนักในเมล็ดมีสารเคอร์ซิน (curcin) กรดไซยานิค (cyanic acid) และโพโบเลสเตอร์ (phorbolester) ซึ่งเป็นสารพิษพวกหนึ่ง โดยที่สารเคอร์ซินบริสุทธิ์มีความเป็นพิษสูงมาก (พรชัย 2549; Heller 1996; Trabi และคณะ 1997; Winkler และคณะ 1997)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

รูปที่ 1 ลักษณะที่สำคัญในแต่ละส่วนของสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.): a = ช่อดอก b = เปลือกc = ใบ d = ดอกเพศผู้ e = ดอกเพศเมีย f = ผล ด้านตัดตามขวาง g = ผล h = ผล ด้านตัดตามยาว และ i = เมล็ด (ที่มา: Heller 1996)

2. สมบัติของน้ำมันสบู่ดำ

สำหรับน้ำมันสบู่ดำที่สกัดจากเมล็ดนั้น คณะนักวิทยาศาสตร์ของกองเกษตรและเคมี กรมวิชาการเกษตร ได้วิเคราะห์คุณสมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมีของน้ำมันสบู่ดำ ด้วยวิธีมาตรฐาน AOCS ยกเว้นค่าความหนืดวิเคราะห์โดยวิธี Garder ปรากฏผลดังตารางที่ 1 (ระพีพันธุ์ และสุขสันต์ 2544)

ตารางที่ 1 สมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมีของน้ำมันสบู่ดำ

คุณสมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมี	ร้อยละ
ความชื้น	7.13
น้ำมันทั้งเมล็ด	34.96
น้ำมันเนื้อในเมล็ด	54.68
กรดไขมันอิ่มตัว	21.28
- palmitic (C 18:0)	16.7
- stearic (C 18:0)	5.11
กรดไขมันไม่อิ่มตัว	78.72
- oleic (C 18:1)	44.88
- linoleic (C 18:2)	33.83
ความถ่วงจำเพาะที่ 25 °C	0.9136
ดัชนีหักเหที่ 25 °C	1.4670
ค่ากรด (กรดไขมันอิสระโอเลอิก)	4.8
ค่าสปอนนิฟิเคชั่น	197.13
ค่าไอโอดีน	97.08
ปริมาณน้ำและสิ่งระเหยได้ที่ 105 °C	0.107
ความหนืดที่ 25 °C	50GS

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

3. ประโยชน์ของสบู่ดำ

ประโยชน์ของสบู่ดำมีหลายประการ (ระพีพันธุ์ และสุขสันต์ 2544; รังษี และอมรรัชฎ์ 2548; กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน 2549; Reinhard 2005; Heller1996) คือ

1. เป็นแหล่งพลังงานทดแทนใหม่

เมล็ดนำมาสกัดน้ำมัน โดยสามารถใช้น้ำมันของสบู่ดำแทนน้ำมันดีเซลกับเครื่องยนต์ทางการเกษตร เนื่องจากสามารถนำน้ำมันสบู่ดำมาใช้ได้โดยไม่ต้องผสมกับน้ำมันดีเซลและมีราคาไม่แพง ต่างจากน้ำมันชีวภาพอื่น ๆ เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม จะต้องผสมกับน้ำมันดีเซลในอัตราส่วนที่เหมาะสมก่อนนำไปใช้ นอกจากนี้การใช้น้ำมันสบู่ดำยังให้ผลดีกว่า น้ำมันแก๊ส (gas oil) เพราะน้ำมันสบู่ดำมีค่าออกซิเจนสูงและมีสารหล่อลื่นให้เครื่องยนต์ทำงานได้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

2. ประโยชน์จากลักษณะของการปลูกสบู่ดำ

2.1 เป็นรั้วล้อมรอบพื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจหลัก ๆ เพื่อป้องกันสัตว์เลี้ยง เข้ามาทำความเสียหายต่อพืชชนิดนั้น เนื่องจากมีกรดไฮโดรไซยานิค (hydrocyanic) มีกลิ่นเหม็นเขียว นอกจากนี้ในประเทศอินเดียปลูกสบู่ดำเป็นรั้วป้องกันลมร้อนในฤดูร้อนที่ทำให้มีการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็วในแปลงปลูกผัก

2.2 การปลูกสบู่ดำช่วยลดการกัดเซาะของหน้าดินจากลมและน้ำ รากของสบู่ดำช่วยยึดเกาะผิวดิน เปรียบเสมือนสมอเรือ และยังทำให้อัตราการไหลของน้ำลดลงอีกด้วย เมื่อเกิดภาวะน้ำท่วม

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

2.3 ปลูกเป็นเสาค้างของพืชวนิลลาในประเทศมาดากัสการ์ของทวีปแอฟริกา

2.4 ปลูกพืชอื่นแซมในแปลงปลูกสบู่ดำ สารเคมีจากต้นสบู่ดำจะปลดปล่อยออกมาขับไล่แมลงศัตรูของพืชนั้น

3. การใช้เป็นอาหารของคน

3.1 ส่วนของใบอ่อนหรือยอดอ่อนเมื่อนำไปนึ่งด้วยไอน้ำร้อน เพื่อทำลายกรดไฮโดรไซยานิค ซึ่งเป็นสารพิษ แล้วสามารถนำไปรับประทานได้อย่างปลอดภัย

3.2 บางพื้นที่ของประเทศเม็กซิโกนำเมล็ดสบู่ดำมาต้มและคั่วด้วยความร้อนสามารถนำไปรับประทานได้

4. การใช้เป็นอาหารสัตว์

กากสบู่ดำ (press cake) ที่เหลือจากการสกัดน้ำมันมีคุณค่าทางอาหารสูง แต่ประกอบไปด้วยสารพิษมากมายได้แก่ เคอร์ซิน (curcin), โฟโบลิค เอสเตอร์ (phorbolic ester), แซฟโพนิน (saponin), โปทิเอส (protease) และไฟเทท (phytates) จำเป็นต้องนำกากสบู่ดำมาผ่านความร้อนร่วมกับการสกัดด้วยสารเคมี หรือการหมักกากน้ำมันสบู่ดำด้วยเชื้อรา *Rhizopus oryzae* เพื่อทำลายพิษของสบู่ดำออกเสียก่อนนำไปผสมเป็นอาหารสัตว์

5. การใช้เป็นยาสมุนไพรในการรักษาโรค

5.1 ต้น ใช้เป็นยาถ่าย

5.2 ลำต้น ใช้เป็นยารักษาโรคซางหรือตาลขโมย

5.3 เปลือก ใช้เป็นยาถ่าย ขับพยาธิ แก้ปวดท้อง

5.4 กิ่งก้าน ใช้ห้ามเลือด รักษาโรคฟัน โรคผิวหนัง

5.5 ใบ ใช้เป็นยารักษาอาการไอและมีฤทธิ์เป็นสารต้านจุลินทรีย์ แก้พิษตานซาง แก้ปากและลิ้นพุพอง แก้ลิ้นเป็นฝ้าละออง ถอนพิษที่ทำให้ตัวร้อน

5.6 เมล็ด ใช้เป็นยาระบาย ยาถ่ายชนิดรุนแรง แก้ปวดตามข้อ แก้โรคผิวหนัง

5.7 น้ำมัน ใช้เป็นยารักษาโรคผิวหนัง บรรเทาอาการเจ็บปวดจากโรคไขข้อหรือโรคปวดกล้ามเนื้อ และใช้เป็นยาถ่าย ซึ่งมีฤทธิ์รุนแรง

5.8 น้ำยาง ใช้เป็นยารักษาอาการของโรคปากนกกระจอก ห้ามเลือด ต่อต้านการติดเชื้อ แก้ปวดฟัน แก้ปากเปื่อย พุพอง และผสมกับน้ำนมมารดากวาดป้ายลิ้นเด็กที่มีฝ้าขาวหรือคอเป็นตุ่ม

6. การใช้เป็นสารป้องกันกำจัดโรค แมลงศัตรูพืช และหอย

6.1 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช (insecticides) โดยมีรายงานการใช้สารสกัดพืชจากสบู่ดำป้องกันดังตารางที่ 2

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 2 สมบัติของสบู่ดำที่สกัดจากเมล็ดในการเป็นยาฆ่าแมลง (รังษี และอมรรัชฎ์ 2548)

Insect	Pest of	Preparation
Helicoverpa armigera	cotton	Acetone extract of seed; Aqueous extract from oil; seed oil
Aphis gossypii	cotton	Aqueous extract from oil; seed oil
Pectinophra gossypiella	cotton	Aqueous extract from seed oil
Empoasca biguttula (syn. *Amrasca biguttula*)	cotton	Seed oil
Phthorimaea operculella	Potato	Seed oil
Callosobruchus maculatus	Pulse	Seed oil

6.2 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา (fungicides)

6.2.1 น้ำสกัดจากใบสบู่ดำสามารถควบคุมโรคพืชของ *Azolla* ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotium* sp.

6.2.2 สารสกัดจากสบู่ดำที่ความเข้มข้น 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Collectotrichum musae* สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของกล้วยได้ 100 เปอร์เซ็นต์

6.2.3 สาร β1, 3-glucanase จากเมล็ดสบู่ดำสามารถฆ่าเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และ *Gibberelle zeae* ได้

6.3 สารป้องกันกำจัดหอย (molluscicides)

6.3.1 ในประเทศฟิลิปปินส์ใช้สารสกัดจากสบู่ดำกำจัดหอยที่เป็นพาหะของพยาธิในตับ (liver fluke)

6.3.2 ในประเทศเซเนกัลใช้สารสกัดจากสบู่ดำกำจัดหอยที่เป็นพาหะของพยาธิ *Fasciola gigantea*

7. การใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์

7.1 ส่วนต่าง ๆ ของสบู่ดำจากต้นสด ๆ สามารถนำมาทำเป็นปุ๋ยพืชสดได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.2 กากของสบู่ดำที่เหลือจากการสกัดน้ำมันสามารถนำมาทำปุ๋ยอินทรีย์สำหรับบำรุงดินได้เป็นอย่างดีและราคาไม่แพงเมื่อเทียบกับปุ๋ยเคมี เนื่องจากกากสบู่ดำมีอินทรียวัตถุคือ ไนโตรเจน 4.44 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส 2.09 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียม 1.68 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกากเมล็ดสบู่ดำที่เหลือจากการสกัดน้ำมันกับปุ๋ยคอกมูลกระบือ มูลไก่ มูลเป็ด ปุ๋ยหมักจากฟางข้าว ผักตบชวา พบว่ากากสบู่ดำมีปริมาณไนโตรเจนมากกว่า แม้จะมีฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมน้อยกว่าปุ๋ยมูลไก่ แต่ยังคงมากกว่าปุ๋ยอื่นๆ

8. ประโยชน์ด้านอื่น ๆ ดังนี้

8.1 ใช้น้ำมันสบู่ดำทำเป็นหมึกพิมพ์โรเนียว แต่น้ำมันสบู่ดำมีคุณสมบัติแห้งช้า จึงต้องปรับปรุงของผงถ่านดำละเอียดที่ใช้เป็นสีในหมึกพิมพ์ให้พอเหมาะ

8.2 ใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้น้ำมันสบู่ดำข้น เหนียว และไม่แห้ง เพื่อทำกาวบนเทปกระดาษ หรือกาวบนแผ่นเซลโลเฟน หรือกาวบนเทปผ้าได้

8.3 ใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้น้ำมันสบู่ดำแห้งเร็ว เพื่อใช้เป็นสีทาบ้าน (ไม้ เหล็ก) โดยใช้สีเป็นส่วนผสม

8.4 ใช้น้ำมันเป็นส่วนผสมในการทำสบู่

8.5 ใช้ส่วนเปลือกและรากของสบู่ดำเป็นวัตถุดิบในการผลิตสีธรรมชาติ โดยส่วนเปลือกให้สีน้ำเงิน และส่วนรากให้สีเหลือง

4. การรวบรวมพันธุ์ของสบู่ดำ

มีการรวบรวมพันธุ์สบู่ดำ เพื่อเป็นแหล่งพันธุกรรมโดยรวบรวมท่อนพันธุ์จาก 4 ภาคของประเทศได้แก่ ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ได้ทั้งสิ้น 83 accessions นำมาปลูกและทำการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ รวมทั้งผลผลิต (แอนนา และคณะ 2546) จากการศึกษาลักษณะของผลสบู่ดำจากแหล่งต่าง ๆ สามารถแบ่งออกเป็น 3 พันธุ์ (ทวีศักดิ์ 2548) คือ

1. พันธุ์ของสบู่ดำที่มีผลทรงกลม ขนาดของผลปานกลาง มีเปลือกปานกลาง

2. พันธุ์ของสบู่ดำที่มีผลทรงกลมหรือรูปทรงของผลยาวกว่าพวกแรกเล็กน้อย ส่วนผลนั้นมีขนาดเท่ากัน แต่มีเปลือกหนากว่า

3. พันธุ์ที่มีผลกลมแต่มีขนาดผลเล็กกว่าสองพวกแรก

5. การขยายพันธุ์สบู่ดำ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

จากประโยชน์ของสบู่ดำทำให้ทั้งภาครัฐ และภาคเอกชน ต้องการส่งเสริมให้เกษตรกรขยายพื้นที่ปลูกสบู่ดำเป็นจำนวนมาก เพื่อใช้ในการวิจัยพัฒนาในการผลิตต้นพันธุ์ เมล็ด และน้ำมัน เป็นพลังงานทดแทน เพื่อการค้า โดยการขยายพันธุ์สามารถแบ่งออกเป็น 3 วิธี (พรชัย 2549; ทวีศักดิ์ 2548; สมบัติ 2548) ดังนี้

1. การเพาะเมล็ด เมล็ดสบู่ดำไม่มีระยะพักตัว ควรเก็บผลขณะที่มีสีเหลืองแก่แกมน้ำตาล แล้วนำเมล็ดที่ได้มาเพาะทันที เพราะจะมีความงอกดีกว่าเมล็ดที่ทิ้งไว้นาน โดยนำเมล็ดมาเพาะในถุงเพาะหรือกระบะทราย อย่างน้อย 45-60 วัน จึงย้ายปลูก สำหรับต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดจะให้ผลผลิตหลังการย้ายปลูกประมาณ 8-10 เดือน

2. การปักชำ โดยคัดเลือกท่อนพันธุ์ที่มีสีน้ำตาลปนเขียว ไม่อ่อนหรือแก่เกินไป ตัดเป็นท่อนยาวประมาณ 15-20 เซนติเมตร เพาะในถุงดำ หรือ 45-50 เซนติเมตร สำหรับเพาะในแปลง ใช้เวลาปักชำประมาณ 2 เดือน จึงนำไปปลูก โดยจะให้ผลผลิตหลังการย้ายปลูกประมาณ 6-8 เดือน

3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยนำส่วนต่าง ๆ ของสบู่ดำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น ใบ ก้าน ข้อ และยอด เป็นต้น

6. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นวิธีการขยายพันธุ์วิธีหนึ่ง โดยการนำชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ยอด ลำต้น กิ่ง ตาข้าง ใบ และก้านใบ เป็นต้น มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารสังเคราะห์ภายใต้สภาวะควบคุมและปลอดเชื้อ จากนั้นชิ้นส่วนต่าง ๆ จะมีการเจริญพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ (กรมส่งเสริมการเกษตร 2546)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่สามารถผลิตต้นพันธุ์ได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น ตรงตามสายพันธุ์ที่ต้องการ และต้นพันธุ์ปลอดโรค นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังมีประโยชน์ด้านอื่น ๆ อีกนั่นคือ การเก็บรักษาพันธุ์พืช การปรับปรุงพันธุ์พืช และการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ ชีวเคมี และสรีรวิทยาของพืช เป็นต้น (รังสฤษฎ์ 2540)

7. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสกุล *Jatropha*

สำหรับการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชผลิตต้นสบู่ดำและพืชในสกุล *Jatropha* ได้มีการวิจัยและพัฒนาจากห้องปฏิบัติการในหลายประเทศ เช่น อินเดีย บราซิล และออสเตรีย เป็นต้น (Rajore และคณะ 2002; Pletsch และ Charlwood 1997; da Câmara Machado และคณะ 1997) เพื่อให้เกิดศักยภาพในการผลิตต้นสบู่ดำในปริมาณมากตามต้องการและสามารถนำออกปลูกได้ในสภาพธรรมชาติ โดยการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนต่าง ๆ คือ ส่วนของใบ (leaf segment) ก้านใบ (petiole) ลำต้น (stem) ส่วนใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ส่วนเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) ก้านช่อดอก (peduncle) เอ็มบริโอ (embryo) ราก (root) และ ส่วนข้อ (nodal segment) ซึ่งมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับสบู่ดำและพืชในวงศ์ Euphorbiaceae พอสรุปได้ดังนี้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ศิริวรรณ และรุ่งทิพย์ (2550) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำ (*J. curcas*) โดยใช้ชิ้นส่วนตายอด ตาข้าง ใบอ่อน ก้านใบ และไฮโปคอทิล เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Marashige and Skoog 1962) ที่เติม Thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 0.01-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.045-0.45 ไมโครโมลาร์) พบว่าเนื้อเยื่อของชิ้นส่วนต่าง ๆ สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดี โดยแคลลัสที่ได้เป็นแบบเอ็มบริโอจีนิคแคลลัส (embryogenic callus) ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นต้นจำนวนมากต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อเยื่อของใบอ่อนที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.45 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ โพรลีน (proline) ความเข้มข้น 300-500 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเคซีน (Casein hydrolysate) ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมากโดยไม่ผ่านการเกิดแคลลัส

Thepsamran และคณะ (2006) ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณในหลอดทดลองของสบู่ดำ (*J. curcas*) จากยอด (ขนาด 0.7 เซนติเมตร) ที่ได้จากตาข้าง โดยพบว่าอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม

N^6-benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ indole-3-butyric acid (IBA) ความเข้มข้น 0.049 ไมโครโมลาร์ ให้ผลในการเกิดยอดทวีคูณดีที่สุด 5.9 ยอด ในเวลา 6 สัปดาห์ และทำการชักนำยอดให้เกิดรากโดยการย้ายยอดลงเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 5 สัปดาห์ แล้วย้ายลงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

Rajore และ Batra (2005) ศึกษาการเพิ่มจำนวน *J. curcas* โดยใช้ส่วนปลายยอด (shoot tip) เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรดัดแปลงของ MS ที่เติม 6-Benzylaminopurine (BAP), kinetin (Kn) และ indole-3-aceticacid (IAA) ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำปลายยอดให้เกิดยอดคือ อาหารแข็งสูตรดัดแปลงของ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (8.88 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.85 ไมโครโมลาร์) และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดให้เกิดรากคือ อาหารแข็งครึ่งสูตรของ MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (14.70 ไมโครโมลาร์) หลังจากนั้นนำต้นที่ได้มาปลูกในแปลงทดลอง พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์

นันท์นภัส และคณะ (2549) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำ (*J. curcas*) โดยใช้ชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 เป็นชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นในการชักนำให้เกิดแคลลัสในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 และการชักนำให้เกิดยอดในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 โดยมีรอบการเพาะเลี้ยง 30 วัน เลี้ยงชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.44-17.76 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.049-9.80 ไมโครโมลาร์ พบว่าสารเร่งการเติบโตที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสและเกิดยอดจากก้านใบคือ BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ โดยแคลลัสจากก้านใบจากข้อที่ 2 มีการพัฒนาเป็นยอดได้ดีที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนก้านใบที่เกิดยอดเท่ากับ 70, 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอด 5.4, 4.1 และ 2.2 ยอด ในชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

Qin และคณะ (2004) ศึกษาการเพิ่มจำนวนของ *J. curcas* โดยใช้ชิ้นส่วน อิพิคอทิล มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำอิพิคอทิลให้เกิดยอดได้ดีที่สุดคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.22 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.49 ไมโครโมลาร์) และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.22 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (4.90 ไมโครโมลาร์)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

Rajore และคณะ (2002) ศึกษาการเพิ่มจำนวนของ *J. curcas* โดยใช้ชิ้นส่วนข้อ (node) พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากข้อมากที่สุดคือ อาหารแข็งสูตรดัดแปลงของ MS ที่เติม Kn ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (9.30 ไมโครโมลาร์) และ IBA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (7.30 ไมโครโมลาร์) โดยการให้ ascorbic acid ความเข้มข้น 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร citric acid ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร adenine sulphate ความเข้มข้น 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และglutamine ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลในการชักนำและการพัฒนาการเกิดยอดของ *J. curcas* ส่วนสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดให้เกิดรากคือ อาหารแข็งครึ่งสูตรของ MS ที่เติม α - Naphthalene acetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.70 ไมโครโมลาร์) หลังจากนั้นนำต้นที่ได้มาปลูกในแปลงโดยผสมดินต่อเวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) อัตราส่วน 3 ต่อ 1 พบว่าพืชมีอัตราการรอด 70 เปอร์เซ็นต์

Catapan และคณะ (2001) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Phyllanthus stipulatus* โดยใช้ยอดที่แตกจากข้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.5-5.0 ไมโครโมลาร์) พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดทวีคูณได้มากที่สุด 8-9 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และเมื่อนำยอดที่ได้มาชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ พบว่ายอดสามารถเกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Sujatha และ Reddy (2000) ศึกษาการตอบสนองของชิ้นเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของ *J. integerrima* ต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนิน โดยใช้ชิ้นส่วน ไฮโปคอทิล ลำต้น ก้านช่อดอก และใบ เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA, Kn และ zeatin ความเข้มข้น 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินประเภท BA ให้ผลดีที่สุดในการชักนำชิ้นส่วน ไฮโปคอทิล ลำต้น ก้านช่อดอก และใบ ให้เกิดยอดได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเท่ากับ 19.0-100.0 เปอร์เซ็นต์ โดยชิ้นส่วนที่เกิดยอดได้มากที่สุดคือ ลำต้นและใบ แต่ในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Kn และ zeatin ไม่สามารถชักนำให้ใบเกิดยอดได้

Sardana และ Batra (2000) ศึกษาวิธีการชักนำให้เกิด somatic embryos จากชิ้นส่วนใบของ *J. curcas* โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS-Gamborg's ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำใบให้เกิดเป็น embryogenic callus และ globular embryos คือ อาหารแข็งสูตร MS-Gamborg's ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (13.32 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (17.1 ไมโครโมลาร์) แล้วชักนำให้เกิดต้นโดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม gibberellic acid (GA_3) ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (8.67 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (5.7 ไมโครโมลาร์) และ

ชักนำต้นให้เกิดรากบนอาหารแข็งครึ่งสูตรของ MS ที่เติมน้ำตาล ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย้ายลงปลูกในแปลงพบว่ามีการเจริญเติบโตเป็นปกติ

Spera และคณะ (1997) ศึกษาผลของ Kn และ 2, 4-dichlorophenoxy acetic acid (2, 4-D) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *J. podagrica* Hook. โดยใช้ส่วนราก เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Kn ร่วมกับ 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Kn ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (4.6 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ 2, 4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (9.1 ไมโครโมลาร์)

Spera และคณะ (1996) ศึกษาประสิทธิภาพและความเข้มข้นของผงถ่าน (activated charcoal) และสารควบคุมการเจริญเติบโต GA_3 ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากชิ้นส่วนของเอ็มบริโอที่ยังเจริญไม่เต็มที่ (immature embryos) ของ *J. podagrica* บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม GA_3 ที่เติมและไม่เติมผงถ่านความเข้มข้นต่างๆ พบว่าอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดตายอดได้ดีที่สุดคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.29 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับผงถ่าน ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ส่วนสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดเกิดรากคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.90 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับผงถ่าน ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

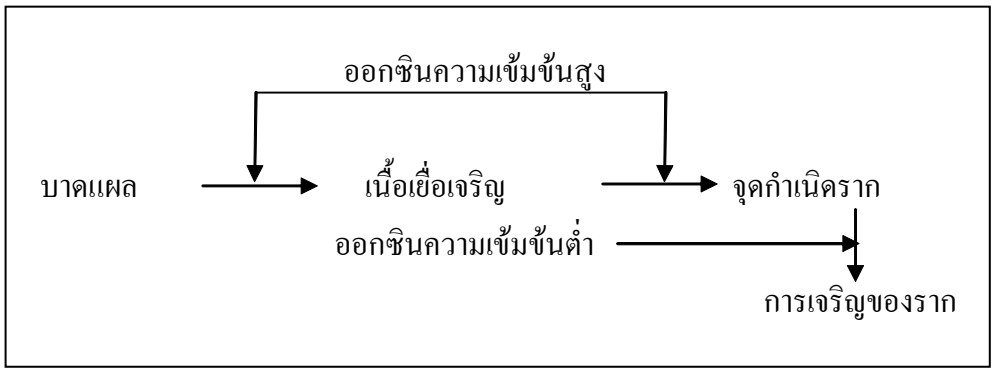
Sujatha และ Mukta (1996) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนต่างๆ ของ *J. curcas* พบว่าอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดตายอดจากไฮโปคอทิลและก้านใบคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ โดยสามารถชักนำให้เกิดตายอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในขณะที่การใช้ zeatin ความเข้มข้น 9.12 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดตายอดได้ 100 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Kn ความเข้มข้น 4.65 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ ชักนำการเกิดตายอดได้ 0 และ 55 เปอร์เซ็นต์ จากไฮโปคอทิลและก้านใบตามลำดับ สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้แคลลัสจากไฮโปคอทิลเกิดยอดคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.49 ไมโครโมลาร์ โดยชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นยอดได้ 43 เปอร์เซ็นต์ และเกิดจำนวนยอด 7.0 ยอด สำหรับอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.49 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้แคลลัสจากก้านใบพัฒนาเป็นยอดได้ 67 เปอร์เซ็นต์ และเกิดจำนวนยอด 2.7 ยอด และอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้แคลลัสจากชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 3 พัฒนาเป็นยอด

ได้ 67 เปอร์เซ็นต์ และเกิดจำนวนยอด 10.7 ยอด ส่วนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากออกซินสามารถชักนำให้ยอดเกิดรากได้ 88 เปอร์เซ็นต์

Sujatha และ Dhingra (1993) ศึกษาการเพิ่มจำนวนของ *J. integerrima* โดยใช้ชิ้นส่วน ไฮโปคอทิล ใบ และก้านช่อดอก เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนต่าง ๆ ให้เกิดตายอดได้ดีที่สุดคืออาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.22 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (4.90 ไมโครโมลาร์) และสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากออกซินสามารถชักนำให้เกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 8-10 วัน

8. การเกิดรากแขนง

รากแขนงมีหน้าที่สำคัญคือ ดูดน้ำและแร่ธาตุ เพื่อนำไปเลี้ยงต้นพืช โดยการเกิดรากแขนงมี 2 กรณี คือกรณีที่หนึ่งเกิดจากจุดกำเนิดรากที่มีอยู่แล้ว กรณีที่สองเกิดจากเนื้อเยื่อเจริญที่เกิดบาดแผล (นพดล 2537; พีระเดช 2529) โดยมีออกซินเป็นตัวกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของพืชอย่างรวดเร็ว ซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์แบบขนานกับผิวของเพอริไซเคิล (pericycle) ต่อจากนั้นเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นใหม่จะแบ่งตัวแบบขนานและแบบตั้งฉากกับผิวของเพอริไซเคิล ทำให้มีกลุ่มเซลล์ที่เกิดขึ้นจำนวนมากเป็นจุดกำเนิดราก (พวงผกา 2548; เทียมใจ 2546) ในการทำให้เกิดจุดกำเนิดรากนั้นพืชต้องการออกซินความเข้มข้นสูง นอกจากนี้ยังต้องมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมคือ ความชื้นสูง ออกซิเจนเพียงพอ อุณหภูมิและแสงที่เหมาะสม จึงทำให้เกิดจุดกำเนิดรากได้ (พีระเดช 2529) ซึ่งจากขั้นตอนการทำให้เกิดบาดแผลจนกระทั่งเกิดรากสามารถสรุปได้ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงการเกิดรากของพืชเมื่อได้รับออกซิน (ที่มา: พีระเดช 2529)

ออกซินที่นิยมใช้ในการกระตุ้นการออกราก คือ IBA และ NAA ซึ่งโดยทั่วไปมีประสิทธิภาพสูงกว่า IAA เนื่องจากไม่ถูกทำลายด้วยเอนไซม์ IAA oxidase หรือเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง IBA เป็นสารที่มีฤทธิ์ของออกซินค่อนข้างต่ำ เคลื่อนย้ายได้ช้ามากและสลายตัวได้เร็วพอประมาณ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่เหมาะสมในการเร่งราก ส่วน NAA มีฤทธิ์ของออกซินสูงกว่า เคลื่อนย้ายได้ดีและสลายตัวช้า การใช้ในปริมาณที่เหมาะสมจะกระตุ้นการเกิดราก แต่ถ้าความเข้มข้นของ NAA สูงเกินไปจะเป็นพิษต่อพืชได้ (สมบุญ 2544)

สำหรับพืชที่ชักนำให้ออกรากได้ยาก จำเป็นต้องมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น ๆ ที่นอกเหนือจากออกซินมาช่วยกระตุ้นการออกราก ซึ่งสาร Phluroglucinol (1, 3, 5-trihydroxybenzene, PG) เป็นสารในกลุ่มฟีนอล (phenolic compound) ได้จากการแตกตัวของ phloridzin มีสมบัติในการเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโต ช่วยในการชักนำการเกิดรากของพืชบางชนิด เช่น ไม้ผลยืนต้นในวงศ์ Rosaceae องุ่น และมันฝรั่ง เป็นต้น (Reddy และคณะ 2001; Modgil และคณะ 1998; Jame 1983; Whittington 1969)

Reddy และคณะ (2001) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากของ *Decalepis hamiltonii* Wight & Arn. โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตออกซิน และ PG พบว่าเมื่อนำยอดของ *D. hamiltonii* จุ่มในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม PG ความเข้มข้น 69 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

Sarkar และ Naik (2000) ศึกษาการใช้ PG ในการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) สายพันธุ์ KJ พบว่าอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม PG ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ (800.0 ไมโครโมลาร์) และน้ำตาลความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ช่วยส่งเสริมการเกิดรากของมันฝรั่งได้ดีที่สุดคือ 11.1 รากต่อยอด แต่ถ้าให้ PG ความเข้มข้น 1.2-1.6 มิลลิโมลาร์ (1200.0-1600.0) จะยับยั้งการเกิดรากของมันฝรั่ง โดยเกิดราก 4.1 และ 3.6 ราก ตามลำดับ

Ruseva (1999) ศึกษาการชักนำให้ออกรากในองุ่น สายพันธุ์ Roussalka 1 พบว่าการให้ PG ความเข้มข้น $6x10^{-3}$ โมลาร์ (600.0 ไมโครโมลาร์) ชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดคือ เกิดราก 5.4 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ รากมีความยาว 58.1 มิลลิเมตร นอกจากนี้การให้ PG ยังทำให้น้ำหนักสดของพืชเพิ่มขึ้น 0.119 กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่ได้ใส่ PG

Modgil และคณะ (1998) ศึกษาการชักนำตาข้างให้เกิดยอดทวีคูณของแอปเปิ้ล สายพันธุ์ Tydeman's Early Worcester โดยเลี้ยงตาข้างบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ GA_3 ความเข้มข้น 2.8 ไมโครโมลาร์ และ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.46 ไมโครโมลาร์) หลังจากนั้นนำยอดที่ได้มาชักนำให้เกิดราก โดยเลี้ยงบนสูตรอาหารเหลวที่เติม IBA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (9.16ไมโครโมลาร์) น้ำตาล ความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ใน

ที่มืดเป็นเวลา 9 วัน แล้วจึงย้ายมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร ¼MS ที่เติม thiamine ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร IBA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (12.26 ไมโครโมลาร์) น้ำตาล ความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร และผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มทดลองที่ 1 ไม่ให้ PG ทั้งในช่วงที่เลี้ยงลงบนอาหารเหลวและอาหารแข็ง กลุ่มทดลองที่ 2 ไม่ให้ PG ในช่วงที่เลี้ยงลงบนอาหารเหลว แต่ให้ PG ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง และกลุ่มทดลองที่ 3 ให้ PG ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งในช่วงที่เลี้ยงลงบนอาหารเหลว และอาหารแข็ง พบว่ายอดของแอปเปิ้ล สายพันธุ์ Tydeman's Early Worcester สามารถออกรากได้ดีที่สุด ในกลุ่มทดลองที่ 2 รองลงมาเป็นกลุ่มทดลองที่ 3 และกลุ่มทดลองที่ 1 โดยมีเปอร์เซ็นต์การออกรากดังนี้ 68, 64 และ50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Malagón และคณะ (1997) ศึกษาการเพิ่มจำนวนของ fraser photinia (*Photinia* x *fraseri*) ซึ่งเป็นพืชที่ออกรากยาก โดยชักนำส่วนยอดให้เกิดรากได้ดีที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 442.9 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 634.4 ไมโครโมลาร์ ภายในเวลา 6 วัน สามารถเกิดรากได้ 7.2 รากต่อยอด

Hammatt และ Grant (1997) ศึกษาการเพิ่มจำนวนของ British wild cherry (*Prunus avium* L.) จากต้นที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วโดยใช้ชิ้นส่วนยอดมาชักนำให้เกิดราก พบว่าอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.49 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์) สามารถชักนำการเกิดรากได้ดีกว่าสูตรอาหารชนิดเดียวกันแต่ไม่เติม PG โดยเกิดราก 98 และ 80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

Wang (1991) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการออกรากของต้นแพร์ (rootstock PB 10030) พบว่าการให้ PG ความเข้มข้นระหว่าง 20.3 ถึง 162.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (160.98-1284.86 ไมโครโมลาร์) ส่งเสริมการเกิดราก โดยทำการเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 5 วัน

Bhojwani และคณะ (1984) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากของ *Pyrus pyriforia* Burm. f. โดยนำชิ้นส่วนยอดเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (10.7 ไมโครโมลาร์) เป็นเวลา 7-10 วัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 58 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเติม PG ความเข้มข้น 162 มิลลิกรัมต่อลิตร (1284.86 ไมโครโมลาร์) ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ และลดการเกิดแคลลัส เมื่อนำต้นที่สมบูรณ์ย้ายปลูกทำให้มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงขึ้น

Jame (1983) ศึกษาผลของออกซินที่มีต่อการเกิดรากของแอปเปิ้ล (*Malus pumila* Mill.; root stock M.9) พบว่าส่วนยอดเกิดรากได้ดีที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Hydrofluoric acid (HF) ที่เติม IAA ความเข้มข้น $2.8x10^{-5}$ โมลาร์ (22.8 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ (1000.0 ไมโครโมลาร์) เป็นเวลา 6 วัน สามารถชักนำให้เกิดราก 8 รากต่อยอด และ IBA ความ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

เข้มข้น $1.5x10^{-5}$ โมลาร์ (15 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ (1000.0 ไมโครโมลาร์) เป็นเวลา 4 วัน สามารถชักนำให้เกิดราก 12 รากต่อยอด ส่วนการใช้ IAA, IBA หรือ PG เพียงชนิดเดียวสามารถชักนำให้เกิดรากได้น้อยกว่าการใช้ออกซินร่วมกับ PG แต่การใช้ PG ในการส่งเสริมการชักนำให้เกิดรากนั้นขึ้นอยู่กับ ชนิดของพืช ความเข้มข้นของออกซินและPG อีกด้วย

Jame และThurbon (1981) ศึกษาผลของ PG ต่อการส่งเสริมการเกิดยอดและรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของแอปเปิ้ล rootstock M.9 โดยใช้ชิ้นส่วนยอดเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Linsmaier and Skoog, 1965 (LS) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (4.44-8.88 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.49-2.15 ไมโครโมลาร์) และ PG ความเข้มข้น 162 มิลลิกรัมต่อลิตร (1284.86 ไมโครโมลาร์) สามารถทำให้เกิดยอดได้ 2-4.5 เท่า ในเวลา 1 เดือน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับสูตรอาหารเดียวกันที่ไม่เติม PG ส่วนการชักนำให้เกิดรากจาก rootstock M.9/24 พบว่า อาหารแข็งสูตร LS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (14.7 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 162 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด 44 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนราก 4.9 รากต่อยอด ภายในเวลา 38 วัน ขณะที่สูตรเดียวกันแต่ไม่เติม PG มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 23.4 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนราก 4.1 รากต่อยอด ส่วนการชักนำรากจาก rootstock M.9/35 บนสูตรอาหารเดียวกันกับ rootstock M.9/24 ที่เติม PG ความเข้มข้น 162 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเพียง 23.4 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนราก 3.2 รากต่อยอด

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

Jame และคณะ (1980) ศึกษาผลของการเพิ่มจำนวนของ red raspberry สายพันธุ์ Malling Jewel โดยชิ้นส่วนยอดจากต้นกล้าเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร LS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (4.44 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.49 ไมโครโมลาร์) และ PG ความเข้มข้น 162 มิลลิกรัมต่อลิตร (1284.86 ไมโครโมลาร์) สามารถชักนำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้น 1.7 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ภายในเวลา 1 เดือน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า PG ชักนำให้เกิดยอดทวีคูณ 6 เท่าจากเริ่มต้น ในขณะที่สูตรอาหารที่ไม่มี PG เกิดยอดทวีคูณ 4 เท่าจากเริ่มต้น ส่วนในการชักนำให้เกิดรากจากยอด พบว่าอาหารแข็งสูตร LS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (4.90 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 162 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 20 รากต่อยอด ภายในเวลา 38 วัน ขณะที่สูตรอาหารเดียวกันแต่ไม่มี PG สามารถชักนำเกิดราก 12 รากต่อยอด ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดรากไม่มีความแตกต่างกัน

Jone และ Hopgood (1979) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากของยอด Plum rootstock Pixy (*Prunus insititia*) และ Cherry rootstock F12/1 (*P. avium*) โดยนำชิ้นส่วนยอดเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 3 พีพีเอ็ม และ PG เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ยอดของ Plum

rootstock Pixy มีจำนวนราก 12 ราก ความยาวราก 243 มิลลิเมตร และน้ำหนักสดของราก 426 มิลลิกรัม ในอาหารที่เติม PG ขณะที่สูตรอาหารเดียวกันแต่ไม่มี PG สามารถชักนำให้เกิดจำนวนราก 6 ราก ความยาวราก 54 มิลลิเมตร และน้ำหนักสดของราก 222 มิลลิกรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และสำหรับยอดของ Cherry rootstock F12/1 ที่เลี้ยงบนสูตรเดียวกันที่เติม PG และ ไม่เติม PG เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าให้ผลของการเกิดราก ความยาวราก และน้ำหนักสดของราก ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการทดลอง

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 พืชทดลอง

ต้นสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.) สายพันธุ์ พัทลุง โดยใช้ชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้าง ก้านใบ ใบ และยอดจากต้น

1.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

1.2.1 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร

- MS (Murashige and Skoog, 1962)
- Agar Powder, Bacteriological (Himedia, India)
- น้ำตาลซูโครส (sucrose)

1.2.2. สารควบคุมการเจริญเติบโต

- N^6-benzyladenine (BA)
- Indole-3-butylric acid (IBA)
- Phluroglucinol (PG)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

1.3 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ

- คลอรอกซ์ [Clorox (5.25% NaOCl)]
- Tween 20

1.4 อุปกรณ์

1.4.1 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับใช้ในการเตรียมอาหาร

- หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียดและหยาบ
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- เตาไฟฟ้า (hot plate)
- ตู้อบไมโครเวฟ (microwave)
- ช้อนตักสารเคมี
- บีกเกอร์ขนาดต่าง ๆ

- ขวดแก้วรูปชมพู่ขนาดต่าง ๆ
- แท่งแก้ว
- กระบอกตวง
- ปิเปตต์
- ขวดใส่อาหารขนาด 4 ออนซ์ พร้อมฝาปิด

1.4.2 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับตัดถ่ายเนื้อเยื่อ

- ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อพืช (lamina air flow)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ขวดแช่เครื่องมือ
- เครื่องแก้ว: จานแก้ว ขวดรูปชมพู่ และขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์
- เครื่องมือผ่าตัด: ด้ามมีด (เบอร์ 4 และ7) ใบมีด (เบอร์ 11 และ24) ปากคีบ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2. วิธีการทดลอง

2.1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ

นำข้อของสบู่ดำจากต้นที่มีอายุ 2 ปี มาทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยล้างข้อด้วยน้ำยาล้างจานและล้างน้ำไหลเป็นเวลา 30 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์ (Clorox) ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ (v/v) และ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ที่มี Tween 20 ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เป็นเวลา 15 และ10 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แล้วนำข้อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาตัดให้มีขนาดประมาณ 1.0-1.5 เซนติเมตร เลี้ยงลงบนอาหารแข็งสูตร MS ประมาณ 7 วัน จนเกิดยอดจากตาข้างและมีใบประมาณ 1-2 ใบ ตัดยอดให้มีขนาดความสูงประมาณ 0.7 เซนติเมตร นำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA เพียงชนิดเดียวหรือร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ รวมทั้งหมด 10 สูตร (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ในอาหารแข็งสูตร MS สำหรับการชักนำการเกิดยอดทวีคูณจากยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

สูตรMS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (μM)	
	BA	IBA
1	0	0
2	0.44	0
3	2.22	0
4	2.22	0.049
5	4.44	0
6	4.44	0.049
7	4.44	0.49
8	8.88	0
9	8.88	0.049
10	8.88	0.49

อาหารสูตรทดลองทั้งหมดเติมวุ้น 6.2 กรัมต่อลิตร (Agar of Himedia, India) น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.7±0.01 [ปรับด้วย Potassium hydroxide (KOH)

ความเข้มข้น 1 นอร์มอล หรือ Hydrochloric acid (HCl) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล] นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ทำการทดลอง 8 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวด เพาะเลี้ยงในสภาพที่ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงประมาณ 30-35 μmol. m^{-2}. s^{-1}. เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

บันทึกการเจริญเติบโตของยอดจากตาข้างโดยการนับจำนวนยอดและจำนวนใบที่เกิดขึ้นหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2.2 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ

นำก้านใบจากข้อที่ 2, 3 และ4 ของต้นสบู่ดำที่มีอายุ 2 ปี มาทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยล้างก้านใบด้วยน้ำยาล้างจาน และล้างน้ำไหลเป็นเวลา 30 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ (v/v) และ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ที่มี Tween 20 ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เป็นเวลา 15 และ10 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แล้วนำก้านใบที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาตัดให้มีขนาดประมาณ 0.5x0.5 ตารางเซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด คือ BA ความเข้มข้น 0-17.76 μM ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-9.80 μM รวมทั้งหมด 36 สูตร (ตารางที่ 4) โดยแบ่งรอบการเพาะเลี้ยงออกเป็น 2 รอบการเพาะเลี้ยงคือ รอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 การชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนก้านใบ เป็นเวลา 30 วัน รอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 การชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสของชิ้นส่วนก้านใบ เป็นเวลา 30 วัน

อาหารสูตรทดลองทั้งหมดเติมวุ้น 6.2 กรัมต่อลิตร (Agar of Himedia, India) น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.7±0.01 (ปรับด้วย KOH ความเข้มข้น 1 นอร์-มอล หรือ HCl ความเข้มข้น 1 นอร์มอล) นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวด เพาะเลี้ยงในสภาพที่ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงประมาณ 30-35 μmol. m^{-2}. s^{-1}. เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

บันทึกการเจริญเติบโตของก้านใบที่ 2, 3 และ 4 ในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 หลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน และในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 หลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน โดยรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1: วัดเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดขึ้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อและนับจำนวนตายอดที่เกิดขึ้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ รอบการเพาะเลี้ยงที่ 2: นับจำนวนยอดที่เกิดขึ้นและจำนวนใบที่เกิดในแต่ละยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.10$) สำหรับการเกิดแคลลัส และที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$) สำหรับการเกิดยอดของก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ในอาหารแข็งสูตร MS สำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ

สูตรMS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (μM)	
	BA	IBA
1	0	0
2	0	0.049
3	0	0.49
4	0	2.46
5	0	4.90
6	0	9.80
7	0.44	0
8	0.44	0.049
9	0.44	0.49
10	0.44	2.46
11	0.44	4.90
12	0.44	9.80
13	2.22	0
14	2.22	0.049
15	2.22	0.49
16	2.22	2.46
17	2.22	4.90
18	2.22	9.80
19	4.44	0
20	4.44	0.049
21	4.44	0.49
22	4.44	2.46
23	4.44	4.90
24	4.44	9.80
25	8.88	0
26	8.88	0.049
27	8.88	0.49
28	8.88	2.46
29	8.88	4.90
30	8.88	9.80
31	17.76	0
32	17.76	0.049
33	17.76	0.49
34	17.76	2.46
35	17.76	4.90
36	17.76	9.80

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2.3 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ

นำใบจากข้อที่ 2 และ3 ของต้นสบู่ดำที่มีอายุ 2 ปี มาทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยล้างใบด้วยน้ำยาล้างจาน และล้างน้ำไหลเป็นเวลา 30 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (v/v) และ ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ที่มี Tween 20 ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เป็นเวลา 15 และ10 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แล้วนำใบที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาตัดให้มีขนาดประมาณ 0.5x0.5 ตารางเซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด คือ BA และ IBA ความเข้มข้น 0-17.76 μM ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-9.80 μM รวมทั้งหมด 36 สูตร (ตารางที่ 5) โดยแบ่งรอบการเพาะเลี้ยงออกเป็น 2 รอบการเพาะเลี้ยงคือ รอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 การชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ เป็นเวลา 30 วัน รอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 การชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสของชิ้นส่วนใบ เป็นเวลา 30 วัน

อาหารสูตรทดลองทั้งหมดเติมวุ้น 6.2 กรัมต่อลิตร (Agar of Himedia, India) น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.7±0.01 (ปรับด้วย KOH ความเข้มข้น 1 นอร์-มอล หรือ HCl ความเข้มข้น 1 นอร์มอล) นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ทำการทดลอง 18 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวดจากชิ้นส่วนใบที่ 2 และทำการทดลอง 20 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวดจากชิ้นส่วนใบที่ 3 เพาะเลี้ยงในสภาพที่ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงประมาณ 30-35 μmol. m^{-2}. s^{-1}. เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

บันทึกการเจริญเติบโตของใบจากข้อที่ 2 และ 3 ในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน และในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน โดยรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1: วัดเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดขึ้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อและนับจำนวนตายอดที่เกิดขึ้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ รอบการเพาะเลี้ยงที่ 2: นับจำนวนยอดที่เกิดขึ้นและจำนวนใบที่เกิดในแต่ละยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ (P = 0.10) สำหรับการเกิดแคลลัส และที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P = 0.05) สำหรับการเกิดยอดของใบจากข้อที่ 2 และ3

ตารางที่ 5 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ในอาหารแข็งสูตร MS สำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ

สูตรMS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (μM)	
	BA	IBA
1	0	0
2	0	0.049
3	0	0.49
4	0	2.46
5	0	4.90
6	0	9.80
7	0.44	0
8	0.44	0.049
9	0.44	0.49
10	0.44	2.46
11	0.44	4.90
12	0.44	9.80
13	2.22	0
14	2.22	0.049
15	2.22	0.49
16	2.22	2.46
17	2.22	4.90
18	2.22	9.80
19	4.44	0
20	4.44	0.049
21	4.44	0.49
22	4.44	2.46
23	4.44	4.90
24	4.44	9.80
25	8.88	0
26	8.88	0.049
27	8.88	0.49
28	8.88	2.46
29	8.88	4.90
30	8.88	9.80
31	17.76	0
32	17.76	0.049
33	17.76	0.49
34	17.76	2.46
35	17.76	4.90
36	17.76	9.80

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

2.4 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ

นำยอดของสบู่ดำจากต้นที่มีอายุ 2 ปี มาทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยล้างข้อด้วยน้ำยาล้างจานและล้างน้ำไหลเป็นเวลา 30 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ (v/v) และ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ที่มี Tween 20 ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เป็นเวลา 15 และ10 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แล้วนำยอดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาตัดให้มีขนาดประมาณ 1.0-2.0 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Basal Rooting Medium (BRM) ซึ่งประกอบด้วย อาหารแข็งครึ่งสูตรของ MS ที่มี PG ความเข้มข้น 793 ไมโครโมลาร์ และเติม IBA ความเข้มข้น 0-490.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 วัน ซึ่งมีอาหารทั้งหมด 7 สูตร และ16 วิธี โดยที่ระยะเวลาในการเลี้ยงบนสูตรอาหาร BRM แตกต่างกัน (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 วิธีการและความเข้มข้นของ IBA ในอาหารแข็งสูตร BRM สำหรับการชักนำให้เกิดรากของยอดสบู่ดำ

วิธีที่	สูตร	ความเข้มข้น IBA (µM)	เวลาที่ใช้ในการเลี้ยงบน BRM+IBA	เวลาที่เลี้ยงบน BRM
1	1	0	30	0
2	2	2.46	30	0
3	3	4.90	30	0
4	4	9.80	30	0
5	5	24.46	1	29
6	5	24.46	3	27
7	5	24.46	6	24
8	5	24.46	15	15
9	6	49.00	1	29
10	6	49.00	3	27
11	6	49.00	6	24
12	6	49.00	15	15
13	7	490.00	1	29
14	7	490.00	3	27
15	7	490.00	6	24
16	7	490.00	15	15

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

อาหารสูตรทดลองทั้งหมดเติมวุ้น 6.2 กรัมต่อลิตร (Agar of Himedia, India) น้ำตาลซูโครส 15 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.7±0.01 (ปรับด้วย KOH ความเข้มข้น 1 นอร์-มอล หรือ HCl ความเข้มข้น 1 นอร์มอล) นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวด เพาะเลี้ยงในสภาพที่ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงประมาณ 30-35 μmol m^{-2}. s^{-1}. เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

บันทึกระยะเวลาเริ่มต้นที่เกิดราก จำนวนราก และความยาวรากที่เกิดขึ้น หลังการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 30 วัน แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.01$)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ

การศึกษาการเกิดยอดทวีคูณจากยอดของตาข้างของสบู่ดำ โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลาประมาณ 7-10 วัน เมื่อยอดจากตาข้างแตกขึ้นมาและมีใบ 1-2 ใบ ทำการตัดยอดจากตาข้างให้มีขนาด 0.7 เซนติเมตร แล้วเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-0.49 ไมโครโมลาร์ รวม 10 สูตร (ตารางที่ 3) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.049 ไมโครโมลาร์ (MS4) สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดและใบได้ดีที่สุดเท่ากับ 5.88 ยอด และ 9.13 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 7, รูปที่ 3D) ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของ BA ร่วมกับ IBA (MS5-MS10) ทำให้เกิดจำนวนยอดและใบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยให้จำนวนยอดในช่วง 2.00-4.44 ยอด และมีจำนวนใบ ระหว่าง 1.63-7.38 ใบ (ตารางที่ 7, รูปที่ 3E-3J) ส่วนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 0.44-2.22 ไมโครโมลาร์ (MS2-MS3) มีการชักนำให้เกิดจำนวนยอดและจำนวนใบน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน โดยให้จำนวนยอด 2.25-2.88 ยอด และจำนวนใบ 2.38-2.50 ใบ (ตารางที่ 7, รูปที่ 3B และ 3C) สำหรับอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (MS1) ไม่มีการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณเลย (ตารางที่ 7, รูปที่ 3A)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ตารางที่ 7 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากยอดที่เกิดจากตาข้างสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตร	สารควบคุมการเจริญเติบโต (μM)		การเจริญเติบโตของยอดจากตาข้าง[1/]	
MS	BA	IBA	จำนวนยอด[2/]	จำนวนใบ[3/]
1	0	0	1.00±0.00 a	1.00±0.00 a
2	0.44	0	2.25±0.45 ab	2.38±1.41 ab
3	2.22	0	2.88±0.95 ab	2.50±1.04 ab
4	2.22	0.049	5.88±0.93 c	9.13±1.65 d
5	4.44	0	2.00±0.33 ab	1.25±0.45 a
6	4.44	0.049	3.50±1.69 b	5.25±1.70 bc
7	4.44	0.49	4.44±1.96 b	7.38±1.87 cd
8	8.88	0	3.00±2.07 ab	5.13±1.03 bc
9	8.88	0.049	2.50±0.76 ab	1.88±0.52 ab
10	8.88	0.49	2.38±2.07 ab	1.63±0.50 ab

[1/] ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$) วิเคราะห์โดย Duncan's New Multiple Rang Test ทำการทดลอง 8 ซ้ำ

[2/] ค่าเฉลี่ยจำนวนของการเกิดยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

[3/] ค่าเฉลี่ยจำนวนของการเกิดใบต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รูปที่ 3 ผลของ BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการเกิดยอดทวีคูณจากยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์

A= MS (MS1)

B = MS + BA 0.44 μM (MS2)

C = MS + BA 2.22 μM (MS3)

D = MS + BA 2.22 μM + IBA 0.049 μM (MS4)

E = MS + BA 4.44 μM (MS5)

F = MS + BA 4.44 μM + IBA 0.049 μM (MS6)

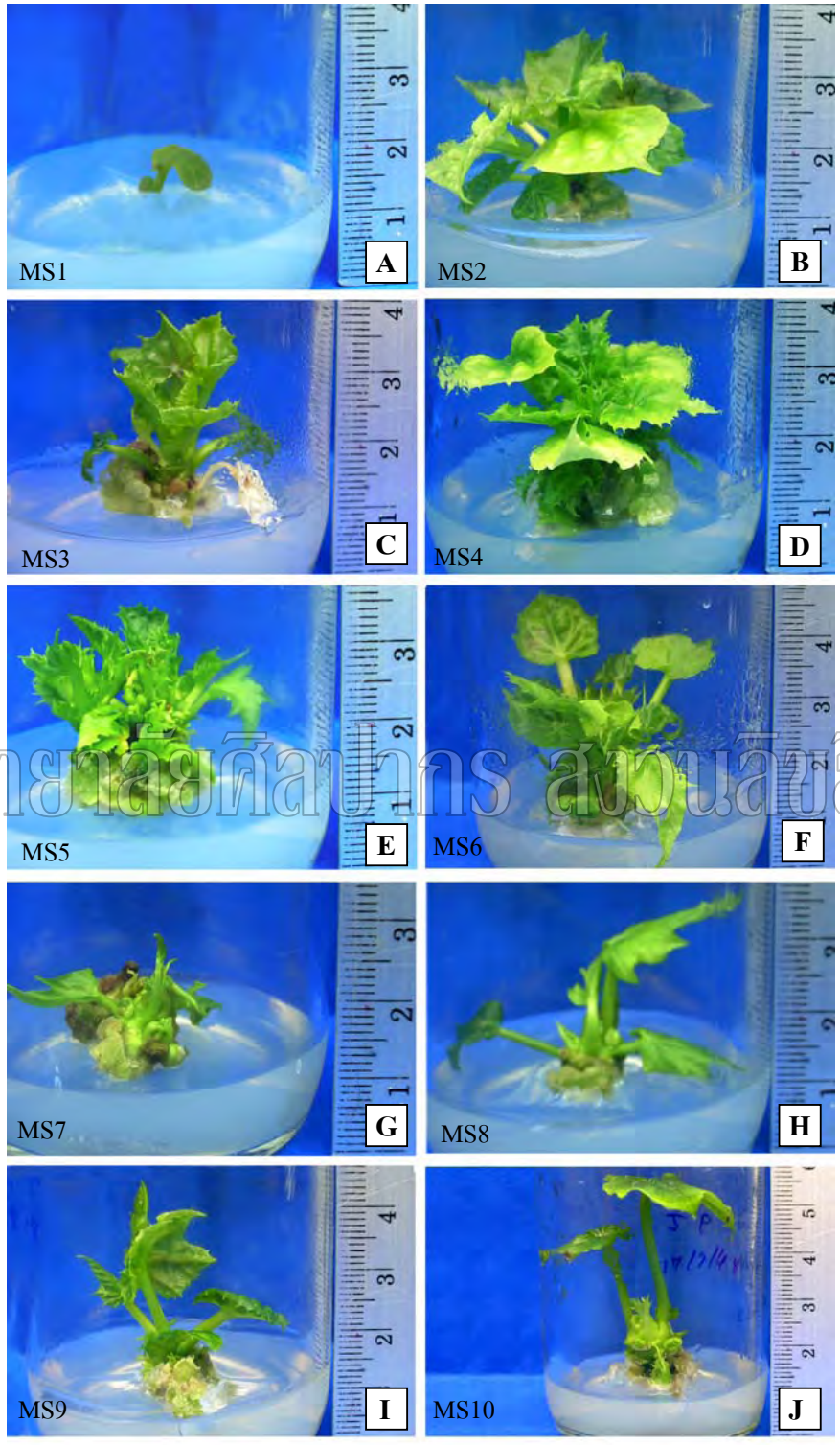
G = MS + BA 4.44 μM + IBA 0.49 μM (MS7)

H = MS + BA 8.88 μM (MS8)

I = MS + BA 8.88 μM +IBA 0.049 μM (MS9)

J = MS + BA 8.88 μM + IBA 0.49 μM (MS10)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลิขสิทธิ์



มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้การเกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ

การนำชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 มาฟอกฆ่าเชื้อ แล้วตัดให้มีขนาดประมาณ 0.5x0.5 ตารางเซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-17.76 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-9.80 ไมโครโมลาร์ รวมทั้งหมด 36 สูตร (ตารางที่ 4) โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 แบ่งออกเป็น 2 รอบการเพาะเลี้ยงคือ รอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เพื่อชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสของชิ้นส่วนก้านใบสบู่ดำ เป็นเวลา 30 วัน

การเจริญเติบโตและการพัฒนาของชิ้นส่วนก้านใบ จากการทดลองพบว่าชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดย มีการขยายขนาดและบวมขึ้นหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน (รูปที่ 4A) แล้วจึงเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10-15 วัน (รูปที่ 4B) หลังจากการเพาะเลี้ยงรอบที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน แคลลัสจากชิ้นส่วนก้านใบมีการขยายขนาดขึ้นในอาหารบางสูตรโดยแคลลัสที่ปลายด้านหนึ่งใหญ่กว่าที่ปลายอีกด้านหนึ่ง (รูปที่ 4D, 4E และ 4F) แต่ในอาหารบางสูตรชิ้นส่วนก้านใบไม่มีการพัฒนาไปเป็นแคลลัส (รูปที่ 4C) และหลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน พบการเจริญที่แตกต่างกันของแคลลัส โดยในอาหารบางสูตรไม่มีการพัฒนาของแคลลัส หรือแคลลัสมีการเจริญเพิ่มขึ้นน้อยมาก (รูปที่ 4G และ 4H) แต่ในอาหารบางสูตรแคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้นมาก (รูปที่ 4I) และในบางสูตรอาหารมีการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นยอด (รูปที่ 4J) ทั้งนี้การเกิดแคลลัส ขนาดของแคลลัส และการเกิดยอดขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยง

สูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัสในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 และยอดทวีคูณในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 คืออาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ (MS22) จากชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 (ตารางที่ 8, รูปที่ 5G, 5H และ 5I)

ในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 ของการชักนำชิ้นส่วนก้านใบให้เกิดแคลลัสพบว่า ชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.44-17.76 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46-9.80 ไมโครโมลาร์ (MS10-MS36) และสำหรับเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสบนชิ้นส่วนก้านใบ พบว่า BA ความเข้มข้น 2.22-8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46-9.80 ไมโครโมลาร์ (MS16-MS18, MS22-MS24, และ MS28-MS30) ชักนำให้เกิดแคลลัส 37.0-82.0, 33.0-89.0 และ 29.0-76.0 เปอร์เซ็นต์ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ จากชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ (ตารางที่ 8) ส่วนอาหารแข็งสูตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ลิขสิทธิ์

MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0-0.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-0.49 ไมโครโมลาร์ (MS1-MS9) ส่วนใหญ่ไม่มีการเกิดแคลลัสเลย และมีการเกิดแคลลัสที่น้อยมากในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.49 ไมโครโมลาร์ (MS9) (ตารางที่ 8)

ในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 ของการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนก้านใบให้เกิดยอดทวีคูณ พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดคืออาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ (MS22) โดยแคลลัสจากก้านใบที่ 2 มีการพัฒนาเป็นยอดได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนก้านใบที่เกิดยอดเป็น 70, 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอด 5.4, 4.1 และ 2.2 ยอด ในชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ (ตารางที่ 8, รูปที่ 5G, 5H และ 5I) สำหรับในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ (MS16) ชักนำให้แคลลัสจากชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 เกิดยอด 0.4, 0.3 และ 0 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 8, รูปที่ 5D, 5E และ 5F) ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ (MS29) ชักนำให้แคลลัสจากชิ้นส่วนก้านใบจากใบที่ 2, 3 และ 4 เกิดยอด 3.2, 0.4 และ 0.5 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 8, รูปที่ 5J, 5K และ 5L) และสำหรับอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ (MS36) ชักนำให้แคลลัสจากชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2 เกิดยอด 0.5 ยอด ส่วนในชิ้นส่วนก้านใบจากใบของข้อที่ 3 และ 4 ไม่เกิดยอด แต่มีการพัฒนาของแคลลัสเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 8, รูปที่ 5M, 5N และ 5O)

ขณะที่การเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 ลงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-0.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-9.80 ไมโครโมลาร์ (MS1-MS12) อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 และ 4.44 ไมโครโมลาร์ (MS13 และ MS19) (รูปที่ 5A-5C) และอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 17.76 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-0.049 ไมโครโมลาร์ (MS31-MS32) พบว่า ชิ้นส่วนก้านใบหรือแคลลัสจากชิ้นส่วนก้านไม่มีการพัฒนาไปเป็นยอดเลย ส่วนอาหารสูตรอื่นๆนอกเหนือจากที่กล่าวข้างต้นมีการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นยอดได้ 0.1-2.1 ยอด ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ BA และ IBA แต่โดยส่วนใหญ่ยอดเกิดจากชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2 (ตารางที่ 8)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ตารางที่ 8 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเกิดยอดทวีคูณจากก้านใบสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

สูตร MS	สารควบคุมการเจริญเติบโต(μM)		การเจริญของชิ้นส่วนก้านใบ [1/]											
	BA	IBA	ก้านใบของใบจากข้อที่ 2				ก้านใบของใบจากข้อที่ 3				ก้านใบของใบจากข้อที่ 4			
			การเกิดแคลลัส[2/]		การเกิดยอด[3/]		การเกิดแคลลัส[2/]		การเกิดยอด[3/]		การเกิดแคลลัส[2/]		การเกิดยอด[3/]	
			%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[5/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[5/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[3/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]
1	0.00	0.00	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
2	0.00	0.049	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
3	0.00	0.49	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
4	0.00	2.46	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
5	0.00	4.90	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
6	0.00	9.80	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
7	0.44	0.00	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
8	0.44	0.049	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
9	0.44	0.49	20.0 b	1.0±0.67 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	20.0 b	2.5±1.71 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	20.0 b	3.0±2.13 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
10	0.44	2.46	100.0 c	5.7±0.78 ab	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 c	15.0±8.82 bcd	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	16.0±2.63 bc	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
11	0.44	4.90	100.0 c	33.5±2.48 f	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 c	22.5±1.71 def	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	31.0±2.96 cd	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
12	0.44	9.80	100.0 c	23.5±2.48 e	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 c	21.5±3.42 de	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	7.2±3.08 e	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a

[1/] ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ วิเคราะห์โดย Duncan's New multiple Rang Test

[2/] การเกิดแคลลัส - วิเคราะห์ทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.1$); [3/] การเกิดยอด - วิเคราะห์ทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$)

[4/] % ชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของชิ้นเนื้อเยื่อที่เกิดแคลลัสหรือยอด; [5/] %ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์ของการเกิดแคลลัสต่อชิ้นเนื้อเยื่อ;

[6/] จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยจำนวนของการเกิดยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลงนามลิขสิทธิ์

ตารางที่ 8 (ต่อ) ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเกิดยอดทวีคูณจากก้านใบสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

สูตร MS	สารควบคุมการเจริญเติบโต(μM)		การเจริญของชิ้นส่วนก้านใบ[1/]											
	BA	IBA	ก้านใบของใบจากข้อที่ 2				ก้านใบของใบจากข้อที่ 3				ก้านใบของใบจากข้อที่ 4			
			การเกิดแคลลัส[2/]		การเกิดยอด[3/]		การเกิดแคลลัส[2/]		การเกิดยอด[3/]		การเกิดแคลลัส[2/]		การเกิดยอด[3/]	
			%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[5/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[5/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[5/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]
13	2.22	0.00	100.0 c	12.5±3.30 bcd	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 c	20.0±7.42 d	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	64.0±5.36 ab	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
14	2.22	0.049	100.0 c	65.5±3.20 jkl	10.0±10.00 ab	0.1±0.10 a	100.0 c	58.5±6.33 ijk	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	64.0±5.36 i	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
15	2.22	0.49	100.0 c	38.0±3.28 fg	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 c	36.0±6.36 g	20.0±13.33 abc	0.6±0.40 ab	100.0 e	35.5±6.77 ef	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
16	2.22	2.46	100.0 c	62.5±6.11 jk	20.0±13.33 ab	0.4±0.31 ab	100.0 c	56.0±4.88 ij	10.0±10.00 ab	0.3±0.30 a	100.0 e	37.5±5.39 ef	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
17	2.22	4.90	100.0 c	61.5±8.23 jk	20.0±13.33 ab	0.1±0.10 a	100.0 c	89.0±3.14 n	40.0±16.33 cd	0.4±0.16 a	100.0 e	63.0±6.16 i	40.0±16.36 c	0.5±0.22 a
18	2.22	9.80	100.0 c	37.0±2.00 fg	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 c	49.5±3.37 hi	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	52.0±2.26 gh	10.0±10.00 a	0.1±0.10 a
19	4.44	0.00	100.0 c	5.0±0.65 ab	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 c	4.8±0.99 ab	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	80.0 d	2.4±0.54 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
20	4.44	0.049	100.0 c	58.5±8.20 jk	10.0±10.00 ab	0.3±0.30 ab	100.0 c	58.5±8.20 ijk	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	59.5±5.44 hi	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
21	4.44	0.49	100.0 c	4.9±2.52 ab	20.0±13.33 ab	0.4±0.31 ab	100.0 c	49.0±3.14 hi	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	36.0±3.71 ef	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
22	4.44	2.46	100.0 c	66.5±7.30 kl	70.0±15.28 e	5.4±1.42 d	100.0 c	87.5±3.96 n	60.0±16.33 d	4.1±1.45 d	100.0 e	74.5±8.21 j	40.0±16.33 c	2.2±1.01 b
23	4.44	4.90	100.0 c	75.0±7.75 lm	50.0±16.67 cde	1.4±0.58 b	100.0 c	81.5±4.48 mn	40.0±16.33 cd	0.8±0.36 ab	100.0 e	76.0±7.88 j	10.0±10.00 a	0.2±0.20 a
24	4.44	9.80	100.0 c	82.0±3.82 m	20.0±13.33 abc	0.2±0.13 ab	100.0 c	74.0±8.52 lm	30.0±15.28 bc	2.1±1.32 c	100.0 e	45.5±8.31 fg	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a

[1/] ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ วิเคราะห์โดย Duncan's New multiple Rang Test

[2/] การเกิดแคลลัส - วิเคราะห์ทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.1$); [3/] การเกิดยอด - วิเคราะห์ทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$)

[4/] % ชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของชิ้นเนื้อเยื่อที่เกิดแคลลัสหรือยอด; [5/] %ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์ของการเกิดแคลลัสต่อชิ้นเนื้อเยื่อ;

[6/] จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยจำนวนของการเกิดยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์หนังสือกลาง

ตารางที่ 8 (ต่อ) ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเกิดยอดทวีคูณจากก้านใบสบู่ดำที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรMS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

สูตร MS	สารควบคุมการเจริญเติบโต (µM)		การเจริญของชิ้นส่วนก้านใบ[1/]											
	BA	IBA	ก้านใบของใบจากข้อที่ 2				ก้านใบของใบจากข้อที่ 3				ก้านใบของใบจากข้อที่ 4			
			การเกิดแคลลัส[2/]		การเกิดยอด[3/]		การเกิดแคลลัส[2/]		การเกิดยอด[3/]		การเกิดแคลลัส[2/]		การเกิดยอด[3/]	
			%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[5/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[5/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[5/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[4/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]
25	8.88	0.00	100.0 c	4.2±0.42 ab	10.0±10.00 ab	0.2±0.20 ab	100.0 c	5.2±1.84 ab	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	70.0 cd	2.7±0.70 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
26	8.88	0.049	100.0 c	55.0±4.05 hij	30.0±15.28 abcd	0.4±0.22 ab	100.0 c	74.0±3.40 lm	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	78.0±4.90 j	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
27	8.88	0.49	100.0 c	19.5±3.37 de	50.0±16.67 cde	1.2±0.47 ab	100.0 c	16.0±2.87 cd	20.0±133.3 abc	0.5±0.34 ab	100.0 e	14.0±2.45 bc	20.0±13.33 ab	0.4±0.31 a
28	8.88	2.46	100.0 c	16.5±2.11 cde	40.0±16.33 bcd	0.6±0.31 ab	100.0 c	33.0±3.43 efg	10.0±10.00 ab	0.1±0.10 ab	100.0 e	29.0±3.79 de	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
29	8.88	4.90	100.0 c	50.0±6.37 hi	70.0±15.28 e	3.2±0.88 c	100.0 c	53.0±7.57 ij	20.0±13.33 abc	0.4±0.31 ab	100.0 e	46.0±6.20 fg	20.0±13.33 ab	0.5±0.50 a
30	8.88	9.80	100.0 c	64.0±5.89 jk	30.0±15.28 abcd	1.0±0.63 ab	100.0 c	68.0±8.40 kl	40.0±16.33 cd	1.4±0.58 ab	100.0 e	64.5±6.47 i	30.0±15.78 bc	0.7±0.37 a
31	17.76	0.00	100.0 c	5.2±0.61 ab	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 c	4.2±0.42 ab	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	60.0 c	2.2±0.70 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
32	17.76	0.049	100.0 c	46.5±2.99 gh	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 c	62.5±1.54 jk	10.0±10.00 ab	0.1±0.10 a	100.0 e	54.0±5.15 hi	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
33	17.76	0.49	100.0 c	9.0±1.63 abc	30.0±15.28 abc	0.4±0.22 ab	100.0 c	7.0±0.82 abc	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	18.0±2.13 bc	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
34	17.76	2.46	100.0 c	16.0±2.33 cde	10.0±10.00 ab	0.2±0.20 ab	100.0 c	24.0±2.08 def	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	13.5±1.50 bc	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
35	17.76	4.90	100.0 c	17.8±3.15 cde	60.0±16.33 de	1.2±0.36 ab	100.0 c	31.5±1.67 efg	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	17.5±2.01 bc	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
36	17.76	9.80	100.0 c	38.0±6.29 fg	30.0±15.28 abcd	0.5±0.27 ab	100.0 c	39.5±6.34 gh	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	30.5±3.20 de	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a

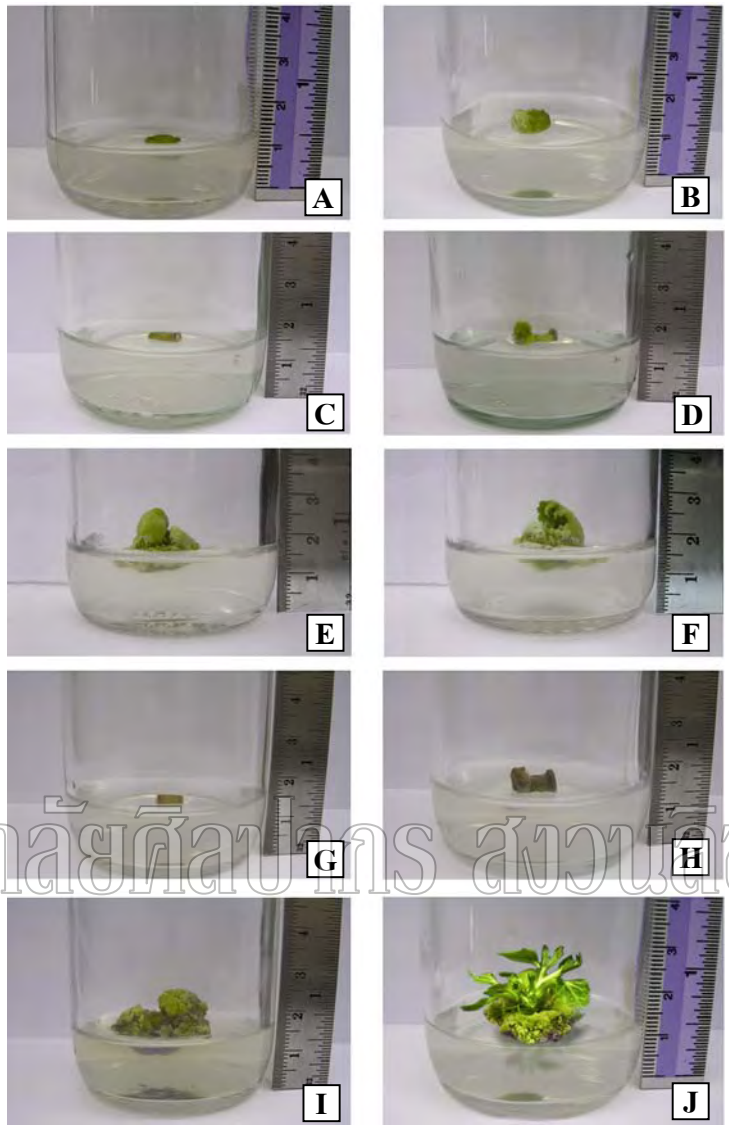
[1/] ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ วิเคราะห์โดย Duncan's New multiple Rang Test

[2/] การเกิดแคลลัส - วิเคราะห์ทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.1$); [3/] การเกิดยอด - วิเคราะห์ทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$)

[4/] % ชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของชิ้นเนื้อเยื่อที่เกิดแคลลัสหรือยอด; [5/] %ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์ของการเกิดแคลลัสต่อชิ้นเนื้อเยื่อ;

[6/] จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยจำนวนของการเกิดยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

รูปที่ 4 การเจริญเติบโตและการพัฒนาของแคลลัสและยอดจากชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 ของสบู่ดำ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

A = ลักษณะของเนื้อเยื่อเริ่มมีการบวม หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน

B = ลักษณะของเนื้อเยื่อบริเวณรอยตัดเริ่มเกิดแคลลัส หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10-15 วัน

C, D, E, F = ลักษณะการเจริญแบบต่าง ๆ ของแคลลัสจากชิ้นส่วนก้านใบ หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน

G, H, I, J = ลักษณะการเจริญและพัฒนาในการเกิดยอดจากแคลลัสของชิ้นส่วนก้านใบ หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

รูปที่ 5 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสที่เกิดจากก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 ของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

A = ก้านในของใบจากข้อที่ 2 บน MS + BA 2.22 μM (MS13)

B = ก้านในของใบจากข้อที่ 3 บน MS + BA 2.22 μM (MS13)

C = ก้านในของใบจากข้อที่ 4 บน MS + BA 2.22 μM (MS13)

D = ก้านในของใบจากข้อที่ 2 บน MS + BA 2.22 μM + IBA 2.46 μM (MS16)

E = ก้านในของใบจากข้อที่ 3 บน MS + BA 2.22 μM + IBA 2.46 μM (MS16)

F = ก้านในของใบจากข้อที่ 4 บน MS + BA 2.22 μM + IBA 2.46 μM (MS16)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

G = ก้านในของใบจากข้อที่ 2 บน MS + BA 4.44 μM + IBA 2.46 μM (MS22)

H = ก้านในของใบจากข้อที่ 3 บน MS + BA 4.44 μM + IBA 2.46 μM (MS22)

I = ก้านในของใบจากข้อที่ 4 บน MS + BA 4.44 μM + IBA 2.46 μM (MS22)

J = ก้านในของใบจากข้อที่ 2 บน MS + BA 8.88 μM + IBA 4.90 μM (MS29)

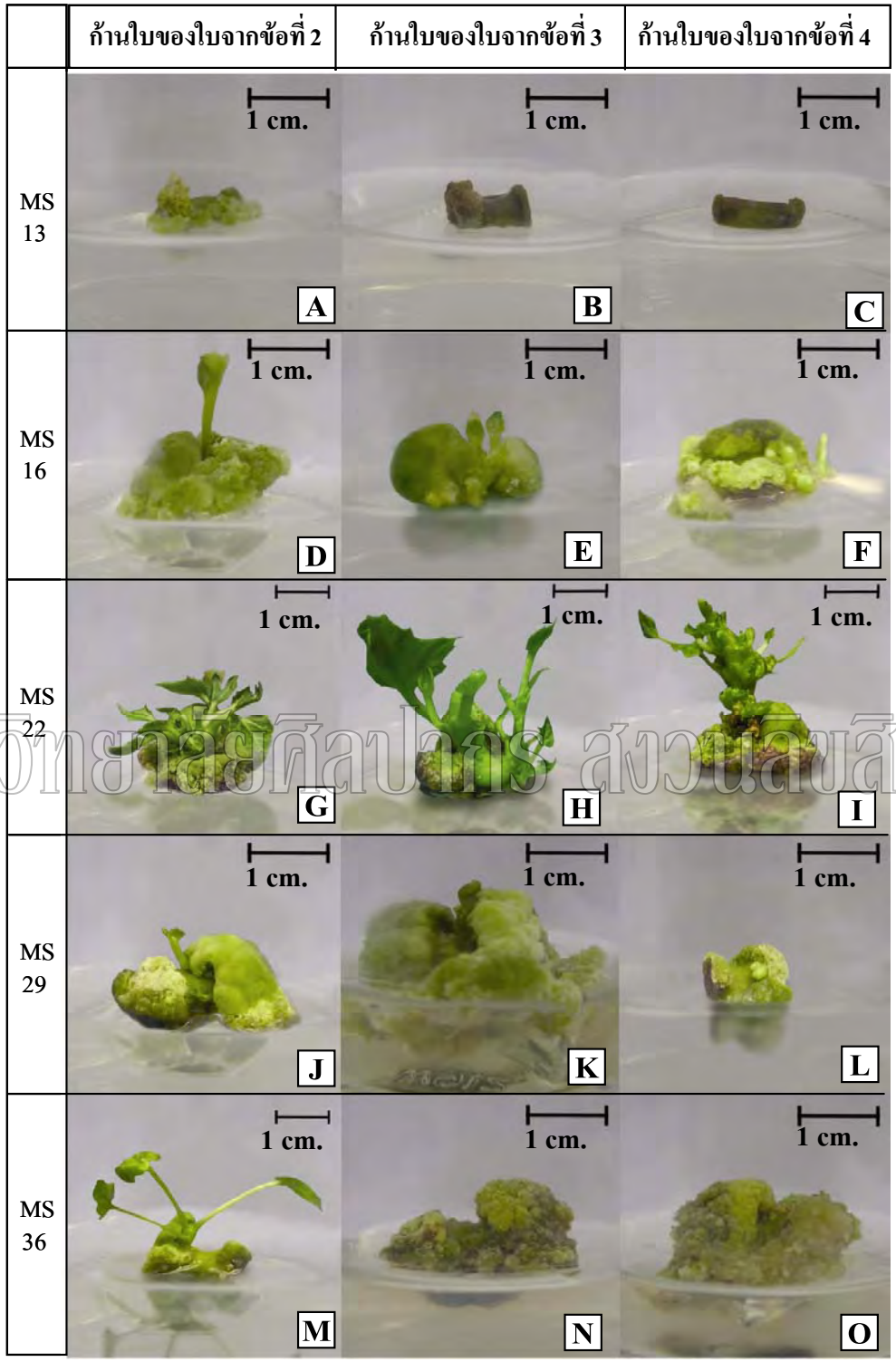
K = ก้านในของใบจากข้อที่ 3 บน MS + BA 8.88 μM + IBA 4.90 μM (MS29)

L = ก้านในของใบจากข้อที่ 4 บน MS + BA 8.88 μM + IBA 4.90 μM (MS29)

M = ก้านในของใบจากข้อที่ 2 บน MS + BA 17.76 μM + IBA 9.80 μM (MS36)

N = ก้านในของใบจากข้อที่ 3 บน MS + BA 17.76 μM + IBA 9.80 μM (MS36)

O = ก้านในของใบจากข้อที่ 4 บน MS + BA 17.76 μM + IBA 9.80 μM (MS36)



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ

การนำชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 ของสบู่ดำ มาฟอกฆ่าเชื้อ แล้วตัดให้มีขนาดประมาณ 0.5x0.5 ตารางเซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-17.76 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-9.80 ไมโครโมลาร์ รวมทั้งหมด 36 สูตร (ตารางที่ 5) โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 แบ่งออกเป็น 2 รอบการเพาะเลี้ยงคือ รอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เพื่อชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสของชิ้นส่วนใบสบู่ดำ เป็นเวลา 30 วัน

การเจริญเติบโตและการพัฒนาของชิ้นส่วนใบ จากการทดลองพบว่าชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดย แผ่นใบมีการขยายขนาดและบวมขึ้นหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน (รูปที่ 6A) แล้วจึงเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10-15 วัน (รูปที่ 6B) หลังจากการเพาะเลี้ยงรอบที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน แคลลัสจากชิ้นส่วนใบมีการขยายขนาดขึ้นในอาหารแต่สูตรแตกต่างกันไป (รูปที่ 6D, 6E และ 6F) แต่ในอาหารบางสูตรชิ้นส่วนใบไม่มีการพัฒนาไปเป็นแคลลัส (รูปที่ 6C) และหลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน พบการเจริญที่แตกต่างกันของแคลลัส โดยในอาหารบางสูตรไม่มีการพัฒนาของแคลลัส (รูปที่ 6G) หรือแคลลัสมีการเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (รูปที่ 6H) แต่ในอาหารบางสูตรแคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้นมาก (รูปที่ 6I) และในบางสูตรอาหารมีการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นยอด (รูปที่ 6J) ทั้งนี้การเกิดแคลลัส ขนาดของแคลลัส และการเกิดยอดขึ้นกับชนิด และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยง

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

สูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัสในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 และยอดทวีคูณในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 คืออาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ จากชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 (ตารางที่ 9, รูปที่ 7G และ 7H)

ในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 ของการชักนำชิ้นส่วนใบให้เกิดแคลลัสพบว่า ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 เกิดแคลลัสได้ 90-100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46-9.80 ไมโครโมลาร์ (MS10-MS12) และ BA ความเข้มข้น 2.22-17.76 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.049-9.80 ไมโครโมลาร์ (MS14-MS18, MS20-24, MS26-MS30 และ MS32-36) และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่อชิ้นของชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 เท่ากับ 9.44-23.06 และ 12.30-32.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ส่วนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0-9.80 ไมโครโมลาร์ (MS1-MS6) และ BA ความเข้มข้น 0.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-0.049 ไมโครโมลาร์ (MS7-MS8) ไม่พบการเกิดแคลลัส

ในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 ของการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนใบให้เกิดยอดทวีคูณ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดคืออาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโคโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ (MS29) โดยแคลลัสจากชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 มีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาไปเป็นยอดเท่ากับ 83.3 และ 60.0 เปอร์เซ็นต์ และเกิดยอดทวีคูณเท่ากับ 3.3 และ 3.7 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 9, รูปที่ 7G และ 7H)

สำหรับอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.049-2.46 ไมโครโมลาร์ (MS14-MS16) ชักนำให้แคลลัสจากชิ้นส่วนใบเกิดยอดได้ 0.1-0.7 ยอด (ตารางที่ 9) ส่วน BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.49-9.80 ไมโครโมลาร์ (MS21-MS24) ชักนำให้แคลลัสจากชิ้นส่วนใบเกิดยอดได้ 0.2-1.4 ยอด (ตารางที่ 9, รูปที่ 7E และ 7F) และ BA ความเข้มข้น 8.88 และ 17.76 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 9.80 ไมโครโมลาร์ (MS30 และMS36) ชักนำให้แคลลัสจากชิ้นส่วนใบ เกิดยอด 0.6-1.1 ยอด (ตารางที่ 9, รูปที่ 7I และ 7J)

ขณะที่การเลี้ยงชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-0.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-9.80 ไมโครโมลาร์ (MS1-MS12), BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ (MS13) (รูปที่ 7A และ 7B), BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 9.80 ไมโครโมลาร์ (MS18) (รูปที่ 7C และ 7D), BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-0.049 ไมโครโมลาร์ (MS19-MS20), BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.049-2.46 ไมโครโมลาร์ (MS25-MS28) และ BA ความเข้มข้น 17.76 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-9.80 ไมโครโมลาร์ (MS31-MS35) พบว่าชิ้นส่วนใบหรือแคลลัสจากชิ้นส่วนใบไม่มีการพัฒนาไปเป็นยอดเลย

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ตารางที่ 9 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเกิดยอดทวีคูณจากใบสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

สูตร MS	สารควบคุมการเจริญเติบโต (µM)		การเจริญของชิ้นส่วนใบ[1/]							
	BA	IBA	ใบจากข้อที่ 2[2/]				ใบจากข้อที่ 3[3/]			
			การเกิดแคลลัส[4/]		การเกิดยอด[5/]		การเกิดแคลลัส[4/]		การเกิดยอด[5/]	
			%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[7/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[8/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[7/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[8/]
1	0.00	0.00	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
2	0.00	0.049	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
3	0.00	0.49	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
4	0.00	2.46	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
5	0.00	4.90	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
6	0.00	9.80	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
7	0.44	0.00	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
8	0.44	0.049	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
9	0.44	0.49	100.0 d	5.7±0.50 bc	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	45.0 c	1.3±0.44 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
10	0.44	2.46	100.0 d	7.3±0.84 cd	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	6.3±0.82 b	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
11	0.44	4.90	100.0 d	11.9±0.92 ef	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	7.2±5.48 b	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
12	0.44	9.80	100.0 d	14.7±1.18 fgh	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	18.0±5.48 efgh	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a

[1/] ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ วิเคราะห์โดย Duncan's New multiple Rang Test

[2/] ทำการทดลอง 18 ซ้ำ; [3/] ทำการทดลอง 20 ซ้ำ; [4/] วิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.1$); [5/] วิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$); [6/]%ชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของชิ้นเนื้อเยื่อที่เกิดแคลลัสหรือยอด [7/]%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่อชิ้นเนื้อเยื่อ; [8/] จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 9 (ต่อ) ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเกิดยอดทวีคูณจากใบสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

สูตร MS	สารควบคุมการเจริญเติบโต (µM)		การเจริญของชิ้นส่วนใบ[1/]							
	BA	IBA	ใบจากข้อที่ 2[2/]				ใบจากข้อที่ 3[3/]			
			การเกิดแคลลัส[4/]		การเกิดยอด[5/]		การเกิดแคลลัส[4/]		การเกิดยอด[5/]	
			%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[7/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[8/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[7/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[8/]
13	2.22	0.00	50.0 b	5.3±1.83 bc	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	30.0 b	0.7±0.23 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
14	2.22	0.049	100.0 d	14.4±3.38 fgh	5.6±5.56 ab	0.1±0.06 a	100.0 e	16.0±0.93 def	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
15	2.22	0.49	100.0 d	9.9±4.75 ef	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	90.0 e	5.6±1.00 b	5.0±5.00 a	0.1±0.05 ab
16	2.22	2.46	100.0 d	16.7±7.07 hij	5.56±5.56 ab	0.2±0.00 ab	100.0 e	17.5±1.02 efgh	20.0±9.18 bc	0.7±0.55 cd
17	2.22	4.90	100.0 d	18.9±2.00 ijkl	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	95.0 e	17.4±2.07 efgh	10.0±6.88 ab	0.1±0.07 ab
18	2.22	9.80	100.0 d	17.5±1.01 hijk	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	20.3±0.77 ghij	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
19	4.44	0.00	72.2 c	2.9±0.53 ab	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	30.0 b	0.6±0.21 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
20	4.44	0.049	100.0 d	23.1±0.92 l	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	13.3±1.22 cd	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
21	4.44	0.49	100.0 d	19.2±1.58 ijkl	5.56±5.56 ab	0.2±0.17 ab	100.0 e	19.0±1.06 fghi	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
22	4.44	2.46	100.0 d	18.6±1.93 ijkl	33.3±11.43 de	0.9±0.33 c	95.0 e	15.1±1.58 cde	55.0±11.41 e	1.4±0.41 d
23	4.44	4.90	100.0 d	20.3±2.81 kl	33.3±11.43 de	0.4±0.17 ab	100.0 e	20.4±1.73 hij	35.0±10.94 d	0.9±0.50 cd
24	4.44	9.80	100.0 d	19.7±7.76 jk	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	19.7±1.04 ghi	10.0±6.88 ab	0.2±0.11 ab

[1/] ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ วิเคราะห์โดย Duncan's New multiple Rang Test

[2/] ทำการทดลอง 18 ซ้ำ; [3/] ทำการทดลอง 20 ซ้ำ; [4/] วิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.1$); [5/] วิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$); [6/]%ชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของชิ้นเนื้อเยื่อที่เกิดแคลลัสหรือยอด [7/]%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่อชิ้นเนื้อเยื่อ; [8/] จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลงทุนลิขสิทธิ์

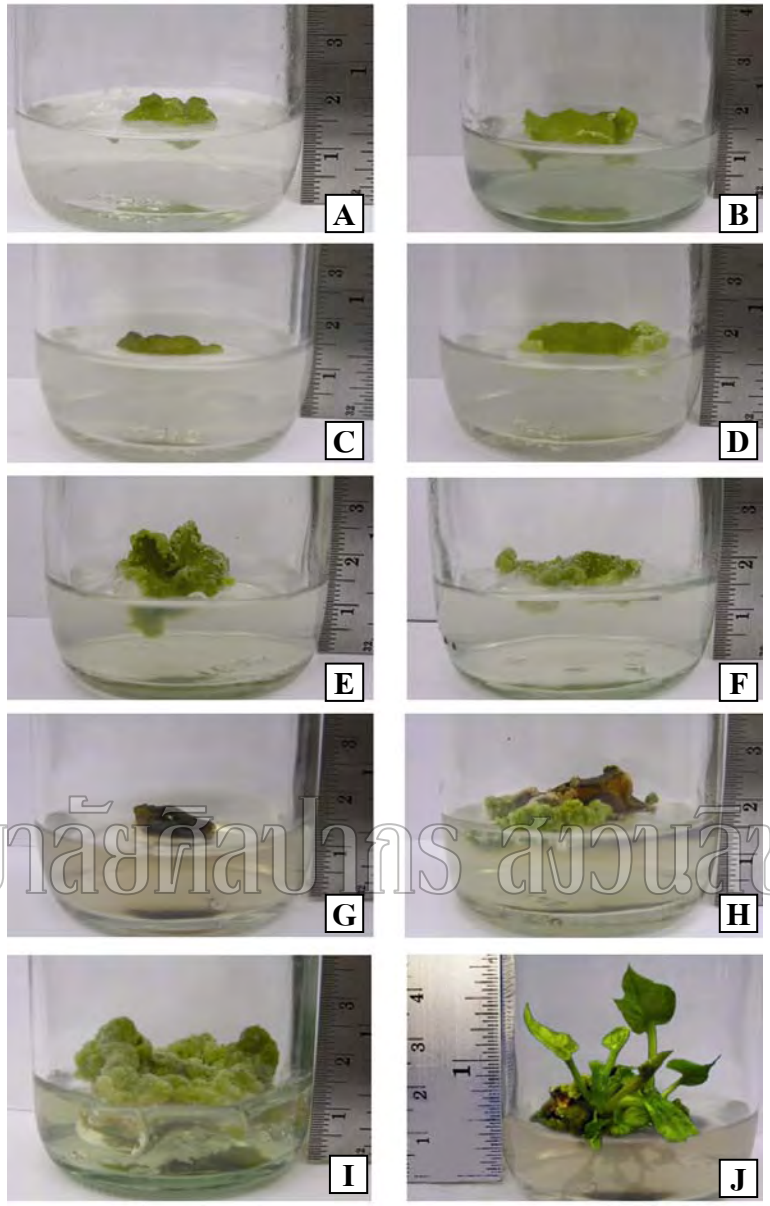
ตารางที่ 9 (ต่อ) ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเกิดยอดทวีคูณจากใบสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

สูตร MS	สารควบคุมการเจริญเติบโต (µM)		การเจริญของชิ้นส่วนใบ[1/]							
	BA	IBA	ใบจากข้อที่ 2[2/]				ใบจากข้อที่ 3[3/]			
			การเกิดแคลลัส[4/]		การเกิดยอด[5/]		การเกิดแคลลัส[4/]		การเกิดยอด[5/]	
			%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[7/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[8/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[7/]	%ชิ้นเนื้อเยื่อ[6/]	จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ[8/]
25	8.88	0.00	77.8 c	6.9±1.22 cd	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	30.0 b	1.1±0.42 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
26	8.88	0.049	100.0 d	16.3±0.96 ghi	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	16.9±1.70 efg	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
27	8.88	0.49	100.0 d	14.4±1.89 fhg	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	21.5±0.82 i jk	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
28	8.88	2.46	100.0 d	15.0±1.21 fgh	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	19.8±1.17 ghi	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
29	8.88	4.90	100.0 d	16.9±1.22 hij	83.3±9.04 f	3.3±5.56 d	100.0 e	21.0±1.72 jk	60.0±11.24 e	3.7±0.94 e
30	8.88	9.80	100.0 d	18.6±1.45 ijkl	38.9±11.82 cd	0.9±0.42 c	100.0 e	23.3±1.46 jkl	30.0±10.51 cd	0.6±0.28 cd
31	17.76	0.00	55.6 d	3.0±0.80 ab	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	15.0 b	0.6±0.31 a	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
32	17.76	0.049	100.0 d	13.1±1.08 fg	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	19.8±1.06 ghi	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
33	17.76	0.49	100.0 d	8.1±0.59 cd	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	26.0±1.00 l	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
34	17.76	2.46	100.0 d	9.4±1.27 de	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	24.3±1.37 kl	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
35	17.76	4.90	100.0 d	7.2±0.92 cd	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a	100.0 e	32.0±2.19 m	0.0±0.00 a	0.0±0.00 a
36	17.76	9.80	100.0 d	13.1±1.22 fg	22.2±10.08 cd	0.6±0.27 bc	100.0 e	12.3±1.03 c	30.0±10.51 cd	1.1±0.48 cd

[1/] ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ วิเคราะห์โดย Duncan's New multiple Rang Test

[2/] ทำการทดลอง 18 ซ้ำ; [3/] ทำการทดลอง 20 ซ้ำ; [4/] วิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.1$); [5/] วิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$); [6/]%ชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของชิ้นเนื้อเยื่อที่เกิดแคลลัสหรือยอด [7/]%ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่อชิ้นเนื้อเยื่อ; [8/] จำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ = ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

รูปที่ 6 ผลของ BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของแคลลัสและยอดจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน และรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

A = ลักษณะของเนื้อเยื่อเริ่มมีการบวมและขยายขนาด หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน

B = ลักษณะของเนื้อเยื่อบริเวณรอยตัดเริ่มเกิดแคลลัส หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10-15 วัน

C, D, E, F = ลักษณะการเจริญแบบต่าง ๆ ของแคลลัส หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เป็นเวลา 30 วัน

G, H, I, J = ลักษณะการเจริญและพัฒนาในการเกิดยอดจากแคลลัสของชิ้นส่วนใบ หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

รูปที่ 7 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสของชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 ของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA และ IBA หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

A = ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 เลี้ยงบน MS + BA 2.22 μM (MS13)

B = ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 3 เลี้ยงบน MS + BA 2.22 μM (MS13)

C = ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 เลี้ยงบน MS + BA 2.22 μM + IBA 9.80 μM (MS18)

D = ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 3 เลี้ยงบน MS + BA 2.22 μM + IBA 9.80 μM (MS18)

E = ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 เลี้ยงบน MS + BA 4.44 μM + IBA 2.46 μM (MS22)

F = ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 3 เลี้ยงบน MS + BA 4.44 μM + IBA 2.46 μM (MS22)

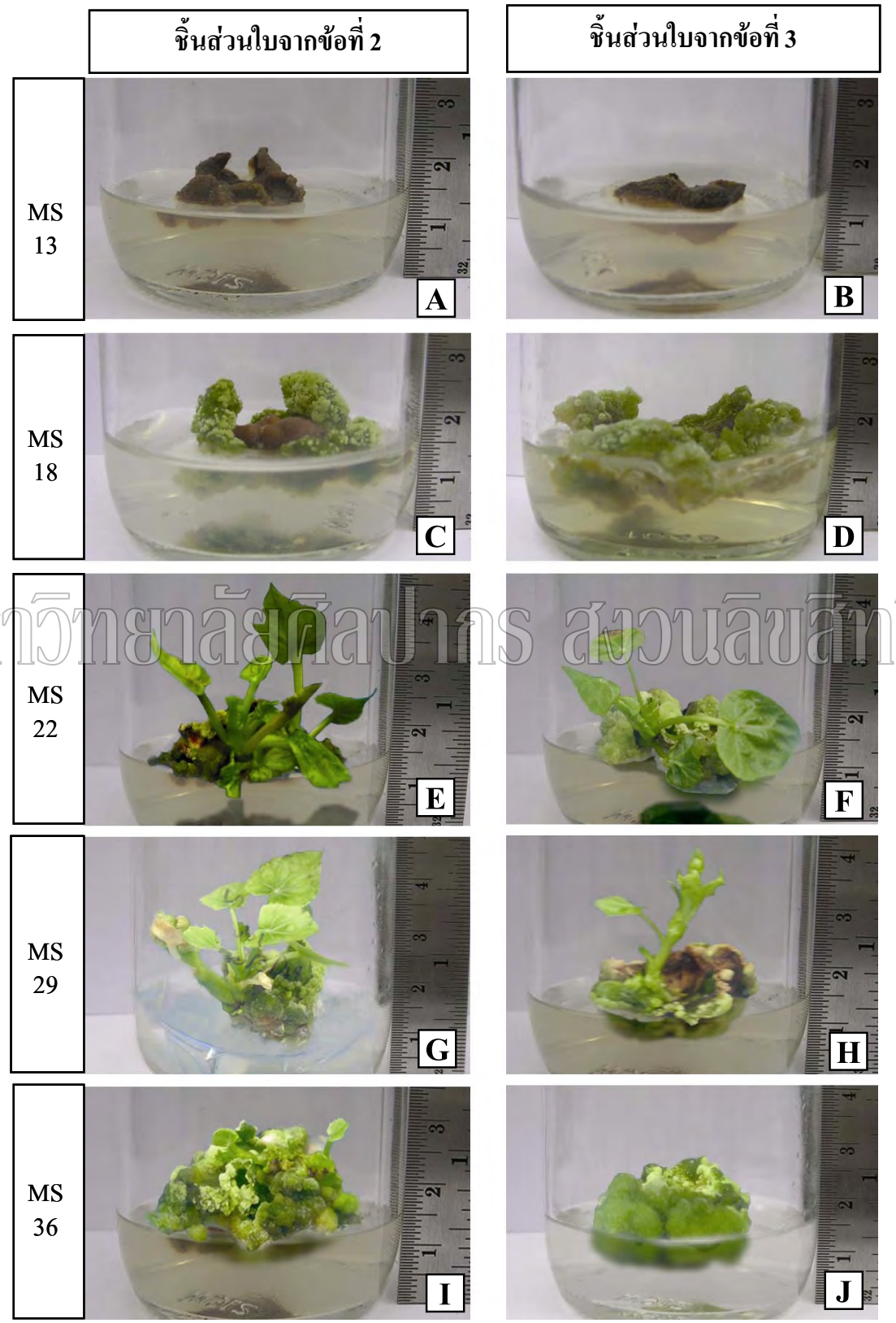
G = ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 เลี้ยงบน MS + BA 8.88 μM + IBA 4.90 μM (MS29)

H = ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 3 เลี้ยงบน MS + BA 8.88 μM + IBA 4.90 μM (MS29)

I = ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 เลี้ยงบน MS + BA 17.76 μM + IBA 9.80 μM (MS36)

J = ชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 3 เลี้ยงบน MS + BA 17.76 μM + IBA 9.80 μM (MS36)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ

นำยอดของสบู่ดำมาฟอกฆ่าเชื้อ แล้วตัดให้มีความยาวประมาณ 1.5-2.0 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Basal Rooting Medium (BRM) ซึ่งประกอบด้วยอาหารครึ่งสูตร MS ที่มี PG ความเข้มข้น 793.0 ไมโครโมลาร์ และเติม IBA ความเข้มข้น 0-9.80 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 วัน (วิธีที่ 1-4) และ เลี้ยงยอดบนอาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46-490.00 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 1, 3, 6 และ 15 วัน แล้วย้ายลงอาหารสูตร BRM ที่ปราศจาก IBA โดยเลี้ยงเป็นเวลาทั้งหมด 30 วัน (วิธีที่ 5-16) (ตารางที่ 6)

หลังการเพาะเลี้ยงยอดของสบู่ดำเป็นเวลา 9-20 วัน พบว่าเริ่มมีการเกิดรากจากยอดที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 2.46-9.80 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 วัน (วิธีที่ 2, 3 และ 4) สูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 วัน (วิธีที่ 6 และ 7) และสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 49.00 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 1, 3 และ 6 วัน (วิธีที่ 9, 10 และ 11) โดยมีเปอร์เซ็นต์ของยอดที่เกิดรากตั้งแต่ 10-90 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10, รูปที่ 8B, 8C, 8D, 8F, 8G, 8I, 8J และ 8K)

สูตรอาหารและวิธีการที่ชักนำการเกิดรากได้ดีที่สุดคือ อาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ เลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (วิธีที่ 3) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 90 เปอร์เซ็นต์ เกิดจำนวนรากเท่ากับ 6 รากต่อยอด และมีความยาวรากเฉลี่ย 2.65 เซนติเมตร (ตารางที่ 10, รูปที่ 8C) รองลงมาคือ IBA ความเข้มข้น 24.46 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน (วิธีที่ 7) ให้เปอร์เซ็นต์ของยอดที่เกิดราก 80 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเท่ากับ 13.40 รากต่อยอด และมีความยาวรากเฉลี่ย 2.13 เซนติเมตร (ตารางที่ 10, รูปที่ 8G) ซึ่งวิธีการทั้ง 2 วิธีดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและความยาวราก

ขณะที่อาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้นอื่นๆ ในวิธีการที่ 2, 9, 10 และ 11 ให้เปอร์เซ็นต์ของยอดที่เกิดรากไม่แตกต่างกันคือ 10-30 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการที่ 4 และ 6 ให้เปอร์เซ็นต์ของยอดที่เกิดราก 40-50 เปอร์เซ็นต์ โดยทุกวิธีการให้ผลของการเกิดจำนวนราก (0.4-1.5 ราก) และความยาวราก (1.50-2.06 เซนติเมตร) ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 10, รูปที่ 8B, 8D, 8F, 8I, 8J และ 8K)

เมื่อพิจารณาลักษณะรากที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46-49.0 ไมโครโมลาร์ แล้วย้ายลงบนอาหารสูตร BRM ที่ปราศจาก IBA (วิธีที่ 6-7 และ 9-11) โดยรากที่เกิดขึ้นมีลักษณะผอมและเรียวกว่ารากที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 2.46-9.80 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 วัน (วิธีที่ 2-4) ซึ่งรากที่เกิดขึ้นมีลักษณะ อวบอ้วน ดังนั้นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดได้ดีที่สุดคือ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

อาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน แล้วย้ายลงอาหาร BRM ที่ปราศจาก IBA (วิธีที่ 7)

ส่วนการเลี้ยงส่วนยอดของสบู่ดำลงบนอาหารแข็งสูตร BRM ที่ปราศจาก IBA (วิธีที่ 1) (รูปที่ 8A) อาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 1 และ 15 วัน แล้วย้ายลงอาหารแข็งสูตร BRM (วิธีที่ 5 และ 8) (รูปที่ 8E และ 8H) อาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 49.00 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน แล้วย้ายลงอาหารแข็งสูตร BRM (วิธีที่ 12) (รูปที่ 8L) และอาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 490.00 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 1-15 วัน แล้วย้ายลงอาหารแข็งสูตร BRM (วิธีที่ 13-16) (รูปที่ 8M, 8N, 8O และ8P) พบว่าไม่สามารถชักนำการเกิดรากได้ (ตารางที่ 10) นอกจากนี้การชักนำให้เกิดรากจากยอดบนอาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 490.0 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 3-15 วัน แล้วย้ายลงอาหารแข็งสูตร BRM (วิธีที่ 14-16) พบว่าเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดอีกด้วย (รูปที่ 8N, 8O และ 8P)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 10 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร basal rooting medium (BRM) ที่ประกอบด้วย อาหารครึ่งสูตร MS ที่เติม PG ความเข้มข้น 793 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 วัน

วิธีที่	ความเข้มข้น IBA (µM)	เวลาที่ใช้ในการเลี้ยงบน BRM+IBA	เวลาที่เลี้ยงบน BRM	การเจริญของชิ้นส่วนยอด[1/]				
				วันที่เริ่มเกิดราก (วัน)	% การเกิดราก	จำนวนราก	ความยาวราก (ซม.)	การเกิดแคลลัส
1	0	30	0	-	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	-
2	2.46	30	0	10-14	30.00±15.28 ab	1.20±0.63 a	2.08±0.10 ab	-
3	4.90	30	0	9-14	90.00±10.00 d	6.00±0.70 b	2.65±0.15 c	-
4	9.80	30	0	14-20	40.00±16.33 ab	1.40±0.58 a	2.06±0.07 ab	-
5	24.46	1	29	-	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	-
6	24.46	3	27	10-14	50.00±16.17 bc	1.50±0.52 a	1.80±0.15 ab	-
7	24.46	6	24	9-10	80.00±13.33 cd	13.4±2.27 c	2.13±0.09 c	-
8	24.46	15	15	-	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	-
9	49.00	1	29	20	10.00±10.00 ab	0.40±0.40 a	1.50±0.54 ab	-
10	49.00	3	27	12-13	20.00±13.33 ab	0.50±0.34 a	1.58±0.24 ab	-
11	49.00	6	24	12-14	30.00±15.28 ab	1.00±0.56 a	1.57±0.12 ab	-
12	49.00	15	15	-	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	-
13	490.00	1	29	-	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	-
14	490.00	3	27	-	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	+++
15	490.00	6	24	-	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	+++
16	490.00	15	15	-	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	++

[1/] ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.01$) วิเคราะห์โดย Duncan's New multiple Rang test ทำการทดลอง 10 ซ้ำ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

รูปที่ 8 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดของสบู่ดำ ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร basal rooting medium (BRM) ที่ประกอบด้วย อาหารครึ่งสูตร MS ที่เติม PG ความเข้มข้น 793 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 วัน

A1, A2 = เลี้ยงบน BRM เป็นเวลา 30 วัน (วิธีที่ 1)

B1, B2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 2.46 µM เป็นเวลา 30 วัน (วิธีที่ 2)

C1, C2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 4.90 µM เป็นเวลา 30 วัน (วิธีที่ 3)

D1, D2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 9.80 µM เป็นเวลา 30 วัน (วิธีที่ 4)

E1, E2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 24.46 µM เป็นเวลา 1 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 29 วัน (วิธีที่ 5)

F1, F2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 24.46 µM เป็นเวลา 3 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 27 วัน (วิธีที่ 6)

G1, G2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 24.46 µM เป็นเวลา 6 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 24 วัน (วิธีที่ 7)

H1, H2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 24.46 µM เป็นเวลา 15 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 15 วัน (วิธีที่ 8)

I1, I2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 49.0 µM เป็นเวลา 1 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 29 วัน (วิธีที่ 9)

J1, J2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 49.0 µM เป็นเวลา 3 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 24 วัน (วิธีที่ 10)

K1, K2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 49.0 µM เป็นเวลา 6 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 27 วัน (วิธีที่ 11)

L1, L2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 49.0 µM เป็นเวลา 15 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 15 วัน (วิธีที่ 12)

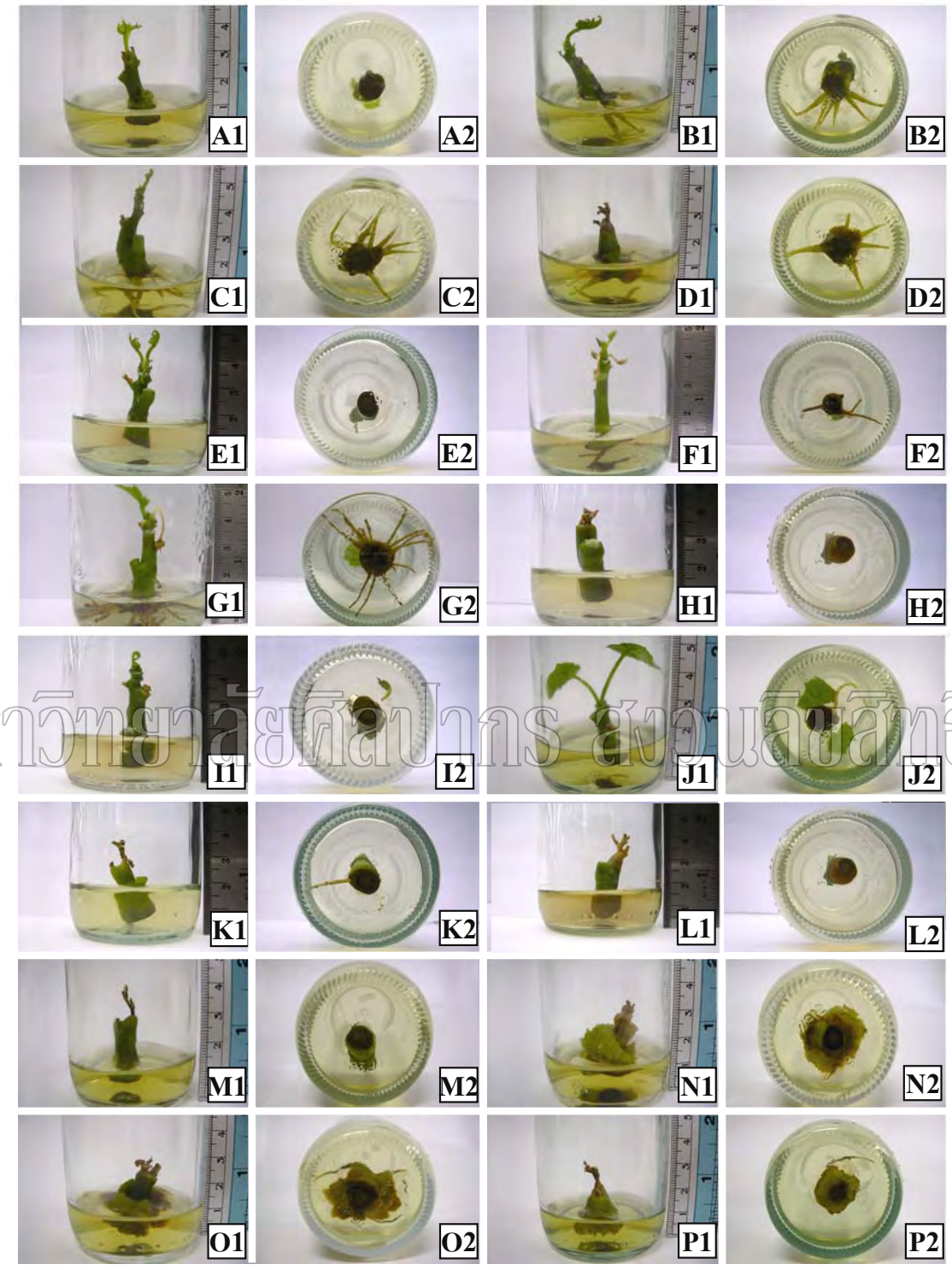
M1, M2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 490.0 µM เป็นเวลา 1 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 29 วัน (วิธีที่ 13)

N1, N2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 490.0 µM เป็นเวลา 3 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 27 วัน (วิธีที่ 14)

O1, O2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 490.0 µM เป็นเวลา 6 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 24 วัน (วิธีที่ 15)

P1, P2 = เลี้ยงบน BRM+IBA 490.0 µM เป็นเวลา 15 วัน แล้วย้ายลงบน BRM เป็นเวลา 15 วัน (วิธีที่16)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์



มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ พบว่าการนำข้อของสบู่ดำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 7-10 วัน ทำให้ตาข้างแตกยอดใหม่ เนื่องจากอาหารแข็งสูตร MS มีธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช และผลของอิทธิพลจากออกซินในการยับยั้งตาข้าง (apical dominance) ลดลง แต่ถ้าไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ยอดใหม่ที่เกิดขึ้นจะไม่มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น จึงจำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (สมบุญ 2544; คำนูญ 2544)

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการทดลองได้แก่ BA และ IBA เนื่องจาก BA เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งช่วยในการควบคุมวงจรเซลล์ (cell cycle) ในระยะ G1/M, G2/M และระยะ S (Davies 2004) ทั้งยังส่งเสริมการสร้าง RNA และเอนไซม์ที่จำเป็นต่อขบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิส (meitosis) ส่งผลให้เกิดการแบ่งและการขยายตัวของเซลล์ พร้อมกับส่งเสริมการสร้างและการเจริญของตาข้าง (นพดล 2537) ส่วน IBA เป็นสารในกลุ่มออกซิน มีผลต่อการจำลอง DNA (replication) การถอดรหัส (transcription) และการถ่ายทอดข้อมูล (translation) รวมทั้งเกี่ยวข้องกับ RNA และการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์พืชด้วย (Leshem 1973) ในการชักนำการเกิดยอดทั่วไปของพืชต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินหรือไซโตไคนินร่วมกับออกซิน โดยสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินสูง จะทำให้มีแนวโน้มการเกิดต้นหรือยอด (บุศราภรณ์ 2548; จิตรีบุล 2549)

เมื่อพิจารณาจากการนำยอดที่เกิดจากตาข้างที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS มาตัดให้มีขนาดประมาณ 0.7 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดยอดทวีคูณคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.049 ไมโครโมลาร์ สามารถเพิ่มจำนวนยอดและใบได้มากที่สุด 5.88 ยอด และ 9.13 ใบ ตามลำดับ ภายในเวลา 6 สัปดาห์ ซึ่งแตกต่างกับการทดลองของ Rajore และ Batra (2005) ที่ใช้ BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2.85 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนปลายยอดจากต้นสบู่ดำได้ดีที่สุด 3.4 เท่า ภายในเวลา 15-20 วัน ใน

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

การเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของสบู่ดำ จากการทดลองแสดงว่าการใช้ชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้มากกว่าการใช้ชิ้นส่วนปลายยอด และการทดลองของ Rajore และคณะ (2002) ที่เติม Kn ความเข้มข้น 9.30 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 7.35 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของสบู่ดำได้ดีที่สุด การเพาะเลี้ยงพืชชนิดเดียวกันแต่ใช้สารควบคุมการเจริญแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากพืชที่นำมาทดลองถูกเลี้ยงมาในสภาวะที่แตกต่างกัน การใช้ตำแหน่งของชิ้นส่วนต่างกัน เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้มีผลต่อการเจริญเติบโต ซึ่งทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากสารพันธุกรรมภายในพืช (สัมพันธ์ 2525; สมพร 2539)

2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ

จากการศึกษาการชักนำการเกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 ของสบู่ดำ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดทวีคูณคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดทวีคูณได้ดีที่สุดคือ 5.4, 4.1 และ 2.2 ยอด ตามลำดับ คล้ายกับการทดลองของ Sujatha และ Mukta (1996) แต่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตต่ำกว่าคือ เติม BA ความเข้มข้น 0.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.49 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำชิ้นส่วนก้านใบให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 2.7 ยอด การชักนำแคลลัสให้เกิดยอดต้องเลี้ยงในสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งต้องใช้สัดส่วนไซโตไคนินต่อออกซินสูง โดยสารในกลุ่มออกซินและไซโตไคนินมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการพัฒนาของเซลล์ไปเป็นยอดหรือต้น (Qin และคณะ 2004) นอกจากนี้ยังพบว่า BA เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินที่ให้ผลดีที่สุดในการเกิดยอด (คำนูญ 2544) คล้ายกับการทดลองของ Sujatha และ Mukta (1996) ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดตายอดจากชิ้นส่วนก้านใบได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้ Kn ความเข้มข้น 9.12 ไมโครโมลาร์ และ zeatin ความเข้มข้น 4.65 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดตายอดได้ 55 เปอร์เซ็นต์ และไม่เกิดตายอดเลย ตามลำดับ แต่การเพิ่มความเข้มข้นของ BA หรือ IBA หรือ BA และ IBA ไม่สามารถทำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดได้ เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตมีสัดส่วนที่ไม่เหมาะสม

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 การตัดชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้ก้านใบมีลักษณะบวมและเกิดแคลลัส โดยแคลลัสจะเกิดบริเวณรอยตัดทั้ง 2 ข้างก่อน เนื่องจากกลไกการทำงานของพืช เมื่อพืชเกิดบาดแผลจะ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ลิขสิทธิ์

มีการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ ซึ่งถูกกระตุ้นโดยมีฮอร์โมนภายในเนื้อเยื่อพืช (endogenous hormone) และการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (exogenous plant growth regulator) ในกลุ่มออกซินและไซโตไคนินลงในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (บุษราภรณ์ 2548) แคลลัสที่เกิดขึ้นบริเวณรอยตัดมีขนาดไม่เท่ากันคือ บริเวณรอยตัดของก้านที่ติดกับด้านโคนใบสามารถเจริญเป็นแคลลัสได้ดีกว่าด้านที่ติดกับใบ แคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์ที่เกาะกันแน่น (compact callus) สีเขียวปนขาว (รังสฤษฎ์ 2540; Sujatha และ Mukta 1996) ส่วนยอดที่เกิดจากแคลลัสจากชิ้นส่วนก้านใบมักจะเกิดบริเวณด้านในขอบริมของรอยตัด โดยเกิดเป็นตายอดขนาดเล็กประมาณ 0.5-1.0 มิลลิเมตร เมื่อนำแคลลัสจากรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 มาเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม ในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 พบว่าแคลลัสมีการเจริญพัฒนาเป็นยอด การที่ชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2 เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แล้วสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดได้ดีที่สุด เนื่องจากเป็นก้านใบที่มีความอ่อนที่สุดในการทดลอง จึงมีเนื้อเยื่อเจริญที่สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นแคลลัสและพัฒนาเป็นยอดได้ดีกว่าก้านใบของใบจากข้อที่ 3 และ 4

3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 ของสบู่ดำ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดทวีคูณคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดยอดทวีคูณได้ดีที่สุดเท่ากับ 3.3 และ 3.7 ยอดตามลำดับ ซึ่งคล้ายกับการทดลองของ Sujatha และ Dhingra (1993) แต่ใช้ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่ำกว่าคือ เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของชิ้นส่วนใบของ *J. integerrima* ได้ดีที่สุด ส่วนการทดลองของ Sujatha และ Mukta (1996) พบว่า BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของชิ้นส่วนใบของสบู่ดำได้ถึง 10.7 เท่า ภายในเวลา 2 สัปดาห์ และการทดลองของ Sujatha และ Reddy (2000) ซึ่งพบว่าการใช้ BA สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของ *J. integerrima* ให้เกิดยอดได้ดีที่สุด แต่แตกต่างจากการทดลองของ ศิริวรรณและรุ่งทิพย์ (2550) ที่ใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ proline และ casein hydrolysate ในการชักนำใบอ่อนให้เกิดยอดโดยไม่ผ่านขบวนการเกิดแคลลัส ทั้งนี้การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำมีความแตกต่างกันอาจเนื่องจากชนิด สายพันธุ์ และชิ้นส่วนของพืชที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแตกต่างกัน ซึ่งมีผลต่อ

สารพันธุกรรมภายในพืชที่แสดงออกเมื่อได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต (สัมพันธ์ 2527; สมพร 2539)

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 พบว่าเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะทำให้ใบบวมและขยายขนาดใหญ่ขึ้น 2-3 เท่า เนื่องจากการดูดซึมน้ำของเซลล์พืช และการส่งเสริมของ BA ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์และการขยายตัวของเซลล์ (นพดล 2537) หลังจากนั้นจึงเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัด โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์ที่เกาะกันแน่น แคลลัสมีสีเขียวปนขาว (Sujatha และ Dhingra 1993; Sujatha และ Mukta 1996) เมื่อย้ายแคลลัสเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 แคลลัสจึงมีการพัฒนาไปเป็นยอด การที่ชิ้นส่วนใบที่ 2 เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดได้ดีที่สุด 83.33 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นใบที่มีความอ่อนที่สุด จึงมีเนื้อเยื่อเจริญที่สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นแคลลัสและพัฒนาเป็นยอดได้ดีกว่าใบที่ 3 คล้ายกับการทดลองของ Sujatha และ Mukta (1996) ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของใบที่ 3 ดีกว่าใบที่ 4 เท่ากับ 67 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ เมื่อพิจารณาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของสบู่ดำ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ อาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน ก่อนย้ายลงอาหาร BRM ที่ปราศจาก IBA สามารถชักนำการเกิดรากได้ดีที่สุด 13.4 รากต่อยอด ภายในเวลา 9-10 วัน และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวรากเฉลี่ย 2.13 เซนติเมตร โดยรากที่ได้มีลักษณะเรียวยาว ซึ่งคล้ายกับการทดลองของนักวิจัยหลาย ๆ ท่าน เช่น Jame และคณะ (1980) แต่ใช้ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตและสูตรอาหารแตกต่างกันคือ อาหารแข็งสูตร LS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 1284.86 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของ red raspberry ได้ 20 รากต่อยอด ภายในเวลา 38 วัน การทดลองของ Jame และ Thurbon (1981) พบว่าอาหารแข็งครึ่งสูตร LS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 14.70 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 1284.86 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของแอปเปิ้ล rootstock M.9 ได้ 4.90 รากต่อยอด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเท่ากับ 44 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 38 วัน การทดลองของ Malagón และคณะ (1997) พบว่าอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 442.9 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 634.4 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของ fraser photinia ได้ 7.2 รากต่อ

ยอด ภายในเวลา 6 วัน และจากการทดลองของ Reddy และคณะ (2001) พบว่าการจุ่มยอดของ *Decalepis hamiltonii* ในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม PG ความเข้มข้น 69 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าการใช้ PG ช่วยกระตุ้นการเกิดรากของไม้เนื้อแข็ง (woody plant) บางชนิดได้ เช่นพืชในวงศ์ Rosaceae เป็นต้น (Reddy และคณะ 2001; Modgil และคณะ 1998; Whittington 1969; Jame 1983) คล้ายกับการทดลองของ Jone และ Hopgood (1979) พบว่าการใช้ IBA ความเข้มข้น 3 พีพีเอ็ม ที่เติม PG และไม่เติม PG เป็นเวลา 3 สัปดาห์ สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของ Plum rootstock Pixy เท่ากับ 12 รากต่อยอด และ 6 รากต่อยอด ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

การทดลองของ Hammatt และ Grant (1997) พบว่าการใช้ IAA ความเข้มข้น 0.49 ไมโครโมลาร์ ที่เติม PG ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ และไม่เติม PG สามารถชักนำเปอร์เซ็นต์การเกิดรากจากยอดของ British wild cherry ได้ 98 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการทำงานร่วมกันระหว่าง PG กับ ออกซิน โดย PG ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของฟีนอล จะไปควบคุมการทำงานของ IAA oxidase โดยช่วยกดการทำงานของเพอร์ออกซิเดส (peroxidase) จากปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดส-คะตะไลส์ (peroxidase-catalyse oxidation) ช่วยป้องกันไม่ให้ออกซินภายในพืชถูกทำลาย โดยการนำออกซินไปเก็บไว้ในเซลล์ที่มีระดับปฏิกิริยารีดอกซ์ต่ำ (lower redox potential) (De Klerk และคณะ 1999; Stonier 1969; Lee และคณะ 1982; Grambow และ Langenbeck-Schwich 1983) นอกจากนี้ PG ทำให้เกิดแคลลัสลดลง (Bhojwani และคณะ 1984) ส่วน PG จะส่งเสริมหรือยับยั้งการเกิดรากนั้นขึ้นอยู่กับสัดส่วนความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซินและPG ชนิดและสายพันธุ์ของพืช เช่น ในการทดลองของ Jame และ Thurbon (1981) ชักนำการเกิดรากจากยอดของแอปเปิ้ล ต่างสายพันธุ์กัน พบว่า PG ความเข้มข้น 1284.86 ไมโครโมลาร์ ส่งเสริมการเกิดรากของ แอปเปิ้ล rootstock M.9/24 แต่ไม่มีผลกับแอปเปิ้ล rootstock M.9/35 แสดงว่าลักษณะทางพันธุกรรมภายในพืชมีผลต่อการทำงานร่วมกันระหว่างออกซินกับ PG แต่ยังไม่ทราบถึงกลไกลอย่างชัดเจน (Jame 1983) ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Sujatha และ Dhingra (1993) ที่ใช้อาหารแข็งสูตร MS โดยไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำการเกิดรากของ *J. integerrima* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 8-10 วัน การทดลองการชักนำให้เกิดรากจากยอดของ *J. curcas* จากนักวิจัยหลายท่านพบว่า จากการทดลองของ Sujatha และ Mukta (1996) ใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซิน สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 88 เปอร์เซ็นต์ การทดลองของ Rajore และคณะ (2002) สามารถชักนำการเกิดรากโดยใช้อาหารแข็งครึ่งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมลาร์ การทดลองของ Rajore และ Batra (2005) สามารถชักนำให้เกิด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์

รากโดยใช้อาหารแข็งครึ่งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 14.70 ไมโครโมลาร์ และการทดลองของ Thepsamran และคณะ (2006) ชักนำการออกรากโดยใช้อาหารแข็งครึ่งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโม-ลาร์ เป็นเวลา 5 สัปดาห์ แล้วย้ายลงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

ส่วนการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของสบู่ดำบนอาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46-490.00 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 1, 3, 6 และ 15 วัน แล้วย้ายลงอาหารแข็งสูตร BRM ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เนื่องจากในการกระตุ้นให้เกิดรากพืชต้องการออกซินความเข้มข้นสูง แต่ในระยะการเจริญยืดยาวของราก (lateral root) พืชต้องการออกซินความเข้มข้นต่ำ ถ้าพืชได้รับออกซินความเข้มข้นสูงในระยะนี้จะทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของราก เช่น รากอ้วน สั้น เป็นต้น (Evans และคณะ 2003) เช่นเดียวกับในการทดลองคือ การชักนำการเกิดรากจากยอดของสบู่ดำบนอาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 2.46-9.80 ไมโครโมลาร์ ซึ่งสามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นการเกิดราก 30.0-90.0 เปอร์เซ็นต์ แต่รากที่เกิดขึ้นมีลักษณะอวบอ้วน คล้ายการทดลองของ Kooi และคณะ (1999) ที่ชักนำการเกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของ sentang บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 21.6 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดรากได้ 35 เปอร์เซ็นต์ แต่รากมีลักษณะผิดปกติคือ รากอวบอ้วน และสั้น แต่เมื่อชักนำให้เกิดรากในอาหารแข็งครึ่งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.85 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 55 เปอร์เซ็นต์ และรากที่เกิดขึ้นมีลักษณะปกติ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ

การชักนำการเกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-0.49 ไมโครโมลาร์ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.049 ไมโครโมลาร์ สามารถเพิ่มจำนวนยอดและใบได้มากที่สุด 5.88 ยอด และ 9.13 ใบ ตามลำดับ ภายในเวลา 6 สัปดาห์

2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

การชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบสบู่ดำ โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-17.76 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-9.80 ไมโครโมลาร์ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสของชิ้นส่วนก้านใบคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ และก้านที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคือ ก้านใบของใบจากข้อที่ 2 สามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสได้เท่ากับ 70.0 เปอร์เซ็นต์ และเกิดจำนวนยอดเท่ากับ 5.4 ยอด หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ

การชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบสบู่ดำ โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-17.76 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-9.80 ไมโครโมลาร์ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสของชิ้นส่วนใบคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ และใบที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคือ ใบที่ 2 สามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดทวีคูณจากแคลลัสได้เท่ากับ 83.3 เปอร์เซ็นต์ และเกิดจำนวนยอดเท่ากับ 3.3 ยอด หลังรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน

4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ

การชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของสบู่ดำ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร BRM ซึ่งประกอบด้วย อาหารครึ่งสูตร MS ที่เติม PG ความเข้มข้น 793.0 ไมโครโมลาร์ แล้วเติม IBA ความเข้มข้น 0-9.80 ไมโครโมลาร์ และ IBA ความเข้มข้น 24.46-490.00 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 1, 3, 6 และ 15 วัน แล้วย้ายลงอาหารสูตร BRM ที่ปราศจาก IBA พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดรากจากยอดคือ สูตรอาหารแข็ง BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน แล้วย้ายลงอาหารแข็งสูตร BRM ที่ปราศจาก IBA สามารถชักนำการเกิดราก 13.40 รากต่อยอด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 80 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวรากเฉลี่ย 2.13 เซนติเมตร และรากที่เกิดขึ้นมีลักษณะปกติ

5. การเปรียบเทียบการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของสบู่ดำ

จากการเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนต่าง ๆ ของสบู่ดำคือ ชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้าง ชิ้นส่วนก้านใบ และชิ้นส่วนใบ พบว่าชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำสามารถชักนำให้เกิดยอดทวีคูณได้ดีที่สุด และใช้ระยะเวลาสั้นที่สุด

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ข้อเสนอแนะ

1. การชักนำการเกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ ควรทำการศึกษาเปรียบเทียบการเกิดยอดทวีคูณจากยอดที่ได้จากข้อที่ตำแหน่งต่างกันด้วย

2. การชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ ควรศึกษาผลของตำแหน่งของชิ้นส่วนใบที่นำมาทำการทดลอง โดยแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ ด้านฐานใบและปลายใบ

3. การชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้าง ก้านใบ และใบของสบู่ดำ ควรศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นเช่น Thidiazuron

4. การชักนำให้เกิดรากจากยอดของสบู่ดำ ควรปรับปรุงวิธีการและสูตรอาหารที่ใช้ดังนี้

4.1 ทำการชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 5-7 วัน แล้วย้ายมาเลี้ยงในที่มีแสง

4.2 ปรับปรุงวัสดุค้ำจุนโดยเปลี่ยนจากวุ้นเป็นเวอร์มิคูไลท์

4.3 ปรับปรุงสูตรอาหารโดยไม่ใส่น้ำตาลซูโครส เพื่อศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสต่อการชักนำการเกิดราก

4.4 ควรศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่าง ๆ

4.5 ควรศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากยอดทวีคูณที่เกิดจากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของสบู่ดำ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บรรณานุกรม

ภาษาไทย

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. สบู่ดำ พืชพลังงาน: การคัดเลือกพันธุ์สบู่ดำเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง. [Online]. Accessed มีนาคม 2549. Available from http://www.ku-alumni.org/news/JATROPHA/jatropha.html

กรมส่งเสริมการเกษตร. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับงานขยายพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, 2546.

คำนูญ กาญจนภูมิ. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544.

จิตรีบุล พุ่มศิริ. เอกสารประกอบการสอนวิชา 512 521 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์พืช. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2549.

ทวีศักดิ์ อุ่นจิตติกุล. สบู่ดำพืชพลังงานสารพัดประโยชน์. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์วศิระ, 2548.

เทียมใจ คมกฤส. กายวิภาคของพฤกษ์. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546.

บุศราภรณ์ งามปัญญา. เทคโนโลยีเซลล์และเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิคพื้นฐาน. นครปฐม: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2548.

นันท์นภัส เทพสำราญ โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา และอารีย์ ทองภักดี. “การชักนำให้เกิดแคลลัสและเกิดยอดจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.).” การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 6 ณ โรงแรมโลตัส ปางสวนแก้ว เชียงใหม่, 7-10 พฤศจิกายน 2549.

นพดล จรัสสัมฤทธิ์. ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซท, 2537.

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. สบู่ดำ เพื่อไบโอดีเซล. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มติชน, 2549.

พีระเดช ทองอำไพ. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: หจก.ไดนามิคการพิมพ์, 2529.

พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง. กายวิภาคและสัณฐานวิทยาของพืชมีดอก. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ท้อป, 2548.

สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. หลักสรีรวิทยาพืช. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2525.

สมบัติ ชิณะวงศ์. “แปลงปลูกสวนป่าสบู่ดำ.” เกษตรธรรมชาติ 8 (2548): 32-35.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. สรีรวิทยาของพืช. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2544.

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

สมพร ประเสริฐส่งสกุล. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2539.

ศิริวรรณ บุรีคำ และรุ่งทิพย์ กาวิตา. “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช” นิทรรศการงานวิจัย “บนเส้นทางงานวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี 2550” ในงานเกษตรแฟร์ ประจำปี 2550 ณ อาคารจักรพันธ์เพ็ญศิริ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 26 มกราคม-3 กุมภาพันธ์ 2550.

ระพีพันธุ์ ภาสบุตร และสุขสันต์ สุทธิผลไพบูลย์. “พลังงานทดแทนน้ำมันดีเซล ทางเลือกของเกษตรกร น้ำมันจากเมล็ดสบู่ดำ น้ำมันจากมะพร้าว.” ส่วนเครื่องจักรการเกษตร สถาบันพัฒนาและส่งเสริมปัจจัยการผลิต กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544. (อัดสำเนา)

รังสฤษฏ์ กาวีต๊ะ. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์สำนักส่งเสริมและฝึกอบรมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2540.

รังษี เจริญสถาพร และอมรรัชฎ์ คิดใจเดียว. “การใช้ประโยชน์จากสบู่ดำ: นอกจากน้ำมัน.” การประชุมเสนอกิจกรรมสบู่ดำ ณ ห้องประชุม 107 ตึกสถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ, 29 มิถุนายน 2548.

แอนนา สายมณีรัตน์ พิทยาภรณ์ สุภรพัฒน์ และสุปราณี งามประสิทธิ์. “โครงการการรวบรวมพันธุ์สบู่ดำเพื่อใช้เป็นเชื้อพันธุกรรม.” สถาบันอินทรีจันทรสถิตย์เพื่อการค้นคว้าและพัฒนาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ, 2546.

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ภาษาต่างประเทศ

Bhojwani, S.S, Mullins, K. and Cohen, D. “*In vitro* propagation of Pyrus pyrifolia.” Scientia Horticutural 23 (1984): 247–254.

Catapan, E., Otuki, M.F. and Viana, A.M. “*In vitro* culture of *Phyllanthus stipulatus* (Euphorbiaceae).” Revista Brasileira de Botânica 24 (2000): 25-34.

da Câmara Machado, A., Frick, N.S., Kremen, R., Katinger, H. and Laimer da Câmara Machado, M. “Biotechnological approaches to the improvement of *Jatropha curcas*.” In: *Proceeding* ‘*Jatropha* 97’: Biofuels and industrial products from *Jatropha curcas*, Gübitz GM, Mittelbach M, Trabi M (Eds), Managua, Nicaragua, 23-27 February 1997.

Davies, P.J. Plant hormones biosynthesis signal transduction, action. Netherland: Kluwer Academic Publishers, 2004.

Dehgan, B. and Webster, G.L. “Morphology and infargeneric relationships of the genus *Jatropha* (Euphorbiaceae).” University of California Plublication in Botany 74 (1979): 1-73.

De Klerk, G.J., vander Krieken, W. and de Jong, J.C. “The formation of adventitious roots: new

concepts, new possibilities." In vitro Cell Develomental Biology, Plant 35 (1999): 189-199.

Evans, D.E., Coleman J.O.D. and Kearns, A. Plant cell culture. London: Bios Scientific Publishers, 2003.

Grambow, H.J. and Langenbeck-Schwich, B. "The relationship between oxidase activity, peroxidase activity, hydrogen peroxide, and phenolic compounds in the degradation of indole-3-acetic acid in vitro." Plantarum 157 (1983): 131-137.

Hammatt, N. and Grant, N.J. "Micropropagation of mature British wild cherry." Plant Cell, Tissue and Organ Culture 47 (1997): 103-110.

Heller, J. Physic nut *Jatropha curcas* L. IPGRI, 1996.

Jame, D.J. "Adventitious root formation 'in vitro' in apple rootstocks (*Malus pumila*) I. Factors affecting the length of the auxin-sensitive phase in M.9." Journal of Physiology Plantarum 57 (1983): 149-153.

Jame, D. J., Knight, V.H. and Thrbon, I.J. "Micropropagation of red raspberry and the influence of phloroglucinal." Scientia Horticulture 12 (1980): 313-319.

Jame, D.J. and Thurbon I.J. "Shoot and root initiation *in vitro* in the apple rootstock M.9 and the promotive effects of phloroglucinol." Journal of Horticultural Science 56 (1981): 15-20.

Jone, O.P. and Hopgood, M.E. "The successful propagation *in vitro* of two rootstock of *Prunus:* the plum rootstock Pixy *(P. insititia)* and the cherry rootstock F12/1 *(P. avium).*" Journal of Horticultural Science 54 (1979): 63-66.

Kooi, L.T., Keng, C.L. and Hoe C.T. K. "In vitro rooting of sentang shoots (*Azadirachta excelsa* L.) and acclimatization of the plantlets." In vitro cellular & developmental biology Plant 35 (1999): 396-400.

Lee, T.T., Starratt, A.N. and Jevnikar, J.J. "Regulation of enzyme oxidation of indole-3-acetic acid by phenol: structure-activity relationships." Phytochemistry 21 (1982): 517-523.

Leshem, Y. The Molecular and Hormonal Basis of plant-growth regulation. New York: Pergamon press, 1973.

Malagón, R.R., Borodanenko, A., Guerra, J.L.B. and Alejo, N.O. "Micropropagation for faser photinia (*Photinia* x *fraseri*)." Plant Cell, Tissue and Organ Culture 48 (1997): 219-222.

Modgil, M., Sharma, D.R. and Bhardwaj, S.V. "Micropropagation of apple cv. Tydeman's Early

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์

Worcester." Journal Scientia Horticulture 81 (1998): 179-188.

Murashige, T. and Skoog, F. "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures." Physiologia Plantarum 15 (1962): 473-479.

Plestsch, M. and Charlwood, B.V. "Accumulation of diterpenoids in cell and root-organ culture of Jatropha species." Journal of Plant Physiology 150 (1997): 37-45.

Qin, W., Wei-Da, L., Yi, L., Shu-Lin, P., Ying, X., Ling, T. and Fang, C. "Plant regeneration from epicotyl explant of *Jatropha curcas*." Journal of Plant Physiology and Molecular Biology 30 (2004): 475-478.

Rajore, S. and Batra, A. "Efficient plant regeneration via shoot tip explant in *Jatropha curcas* L." Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 14 (2005): 73-75.

Rajore, S., Sardana, J. and Batra, A. "*In vitro* cloning of *Jatropha curcas* L." Journal Plant Biology 29 (2002): 195-198.

Reddy, B.O., Giridhar, P. and Ravishankar, G.A. "*In vitro* rooting of *Decalepis hamiltonii* Wight & Arn., an endangered shrub, by auxins and root-promoting agents." Current Science 81 (2001): 1479-1482.

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

Reinhard, K.H. "Fighting desertification by integrated utilization of the *Jatropha* Plant." Unpublished project report. Project *Jatropha*, GTZ, 2005.

Ruseva, R. "Stimulation of the root formation process in plantlets of the grapevine cultivar Roussalka 1 in vitro plantlets by phloroglucinol." Lozarstvo i Vinarstvo Bulgaria 2 (1999): 34-36.

Sardana, J. and Batra, A. "An expeditious method for regeneration of somatic embryos in *Jatropha curcas* L." Phytomorphology 50 (2000): 239-242.

Sarkar, D. and Naik, P.S. "Phloroglucinol enhances growth and rate of axillary shoot proliferation in potato shoot tip culture *in vitro*." Plant Cell, Tissue and Organ Culture 60 (2000): 139-149.

Stonier, T. "Studies on auxin protectors. VII. Association stem." Physiologia Plantalum 44 (1969): 1169-1174.

Spera, M.R.N., Pasqual, M., Macial, A.L.R. and Salvador, E.D. "Effect of different concentrations of activated charcoal and GA_3 on *in vitro* culture of *Jatropha podagrica* embryos." Clënciae Agrotechnologia 20 (1996): 446-451.

Spera, M.R.N., Pasqual, M., Macial, A.L.R. and Salvador, E.D. “Effect of different concentrations of kinetin and 2, 4-D on the *in vitro* cultivation of *Jatropha podagrica* Hook. roots.” Clënciae Agrotechnologia 21 (1997): 386-389.

Sujatha, M. and Dhingra, M. “Rapid plant regeneration from various explants of *Jatropha integerima.* ” Plant Cell, Tissue and Organ Culture 35 (1993): 293-296.

Sujatha, M. and Mukta, N. “Morphologenesis and plant regeneration from tissue culture of *Jatropha curcas.*” Plant Cell, Tissue and Organ Culture 44 (1996): 135-141.

Sujatha, M. and Reddy, T.P. “Morphogenic responses of *Jatropha integerima* explants to cytokinins.” Biologia, Bratislava 55 (2000): 99-104.

Thepsumran, N., Thepsithar, C. and Thongpukdee, A. “In vitro multiple shoot induction of physic nut (*Jatropha curcas*).” Proceeding: 32nd Congress on Science and Technology of Thailand – Science and Technology for Sufficiency Economy to Celebrate the 60th Anniversary of the Majesty the King’s Accession to the Throne. Sirikit Convention Hall, Bangkok, Thailand, 9-11 September 2006.

Trabi, M., Gübitz, G.M., Steiner, W. and Foidl, N. “Toxicity of *Jatropha curcas* seeds.” In: Proceeding “*Jatropha* 97”: Biofuels and industrial products from *Jatropha curcas*. Gübitz GM, Mittelbach M, Trabi M (Eds), Managua, Nicaragua, 23-27 February 1997.

Wang, Q. “Factors affecting rooting of microcuttings of the pear rootstock BP 10030.” Sciencetia Horticulturae 45 (1991): 209-213.

Whittington, W.J. Root growth. New York: Plenum press, 1969.

Wiesenhütler, J. “Use of physic nut (*Jatropha curcas* L.) to combat desertrification and reduce poverty.” Deutsche Gesellschaff für Technische, Zusammenarbeit (GTZ) and Convention project to combat Dessertification ZCCD project), Bonn, Germany, 2003: 13.

Winkler, E., Gübitz, G.M., Foidl, N., Staubmann, R. and Steiner, W. “Use of enzymes for oil extraction from *Jatropha curcas* seeds.” In: *Proceeding “Jatropha curcas”* Gübitz GM, Mittelbach M, Trabi M (eds), Managua, Nicaragua, 23-27 February 1997.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางภาคผนวก องค์ประกอบของอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)

องค์ประกอบ	มิลลิกรัมต่อลิตร
ธาตุอาหารหลัก (macronutrients)	
$MgSO_4.7H_2O$	370
$CaCl_2.2H_2O$	440
KNO_3	1,900
NH_4NO_3	1,650
$KHPO_4$	170
ธาตุอาหารรอง (micronutrients)	
$FeSO_4.7H_2O$	27.8
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
KI	0.83
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
$ZnSO_4.5H_2O$	8.6
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
H_3BO_3	6.2
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
สารอินทรีย์ (organic constituents)	
Glycine	2
Myo-inositol	100
Thiamine HCl (Vitamin B1)	0.1
Pyridoxine HCl (Vitamin B2)	0.5
Nicotinic acid	0.5
EDTA (disodium salt)	37.3
IBA	0 -100
BA	0-2
PG	100
Sucrose	30,000 (30 g/l)
Agar	6,200 (6.2 g/l)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวนันท์นภัส เทพสำราญ

ที่อยู่ 54 หมู่ 1 ตำบล ดอนแฝก อำเภอ นครชัยศรี จังหวัด นครปฐม 73120

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2542 สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากการศึกษานอกโรงเรียนสภอ. พุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม

พ.ศ. 2545 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา จากมหาวิทยาลัยศิลปากร
การศึกษารายบุคคลเรื่อง “การใช้ไคโตซานเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและยับยั้งเชื้อรา *Collectotrichum* sp. ของมะละกอพันธุ์ฮาวาย”

พ.ศ. 2546 ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
วิทยานิพนธ์เรื่อง “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.)”

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ผลงานที่ตีพิมพ์เผยแพร่

Thepsamran N, Thepsithar C, Thongpukdee A. (2006) Callus induction and shoot regeneration from petiole segments of physic nut (*Jatropha curcas*). *The Sixth National Horticulture Congress,* Lotus Hotel Pang Suan Kaew, Chaingmai, Thailand, 7-10 November, (Abstract), P167, p 280

Thepsumran N, Thepsithar C, Thongpukdee A (2006) *In vitro* multiple shoot induction of physic nut (*Jatropha curcas*). *Proceeding: Congress on Science and Technology of Thailand — Science and Technology for Sufficiency Economy to Celebrate the 60th Anniversary of the Majesty the King’s Accession to the Throne*. Sirikit Convention Hall, Bangkok, Thailand, 10-12 October, F_F0007

Thepsamran N, Channuntapipat C, Boonyakitjinda V, Wanichpongpan P (2003) Effect of chitosan coating on storage life of papaya fruits. *2nd National Technical Seminar on Postharvest/Post Production Technology*. KhonKhan, Thailand, p 89