

อิทธิพลของ BA และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของบอนสี**

Effect of BA and NAA on *in Vitro* Culture of Young Leaves of *Caladium bicolor* Vent**

ขวัญเดือน รัตนา* ศุภาวีร์ แสงจันทร์จิระเดช และพัชพล มุ่งลือ
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

Khwanduean Rattana* Supavee Sangchanjiradet & Phukphon Munglue
Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University

บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของ N6-Benzyladenine (BA) และ α -Naphthalene Acetic Acid (NAA) ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ ด้วยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของบอนสีขนาด 0.5 x 0.5 ซม. บนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige & Skoog (1962) (MS) ที่เติม BA เข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบอ่อนมีการเจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุดร้อยละ 50 และพบว่าการสร้างยอดจากแคลลัสร่วมกับ จากนั้นทำการย้ายแคลลัส และยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนบอนสี เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสสามารถเจริญเป็นต้นใหม่ได้ดีที่สุด ร้อยละ 50 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากการย้ายต้นอ่อนนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่า อาหารทุกสูตรสามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนบอนสีได้ โดยพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่สูงสุด เท่ากับ 4 ยอด และพบว่าต้นอ่อนที่ย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงมากที่สุด เท่ากับ 5.3 ซม. จากนั้นย้ายต้นอ่อนบอนสีที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ ออกย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ ด้วยการปลูกในดินเหนียวตากแดดจนแห้งแล้วผสมกับเศษหญ้าแห้ง และขี้เถ้าแกลบ ในอัตราส่วน 2 : 1 : 1 เป็นเวลา 5 เดือน พบว่าบอนสีมีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 90

คำสำคัญ: บอนสี การขยายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช แคลลัส การเกิดต้นใหม่

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)
e-mail: K_rattana@yahoo.com

อิทธิพลของ BA และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของบอนสี

**การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ปีงบประมาณ 2558

Abstract

Effects of N6-Benzyladenine (BA) and α -Naphthalene acetic acid (NAA) on *in vitro* culture of *Caladium bicolor* Vent. young leaves were investigated. Young leaf explants (0.5 x 0.5 cm.) were cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium supplemented with combinations of BA at the levels of 0, 1, 2, 3, 4, 5 mg.L⁻¹ with 0 or 0.5 mg.L⁻¹ NAA, and cultured for 8 weeks. The results showed that the highest callus induction (50%) and developing shoots were also found in MS medium incorporated with 1 mg.L⁻¹ BA and 0.5 mg.L⁻¹ NAA. Subsequently, callus and shoots were then transferred to MS medium supplemented with BA at the concentrations of 0, 1, 2, 3, 4 and 5 mg.L⁻¹ and 0 and 0.5 mg.L⁻¹ NAA, and cultured for 8 weeks in order to induce shoot multiplication. The results showed that the medium containing 3 mg.L⁻¹ BA combined with 0.5 mg/l NAA was the best shoot multiplication medium and gave the highest percentage of shoot multiplication from the callus (50%). After sub culturing young shoots on different media, shoot multiplication was found in all media types. However, MS medium containing 1 mg.L⁻¹ BA produced the best shoot multiplication (4 shoots per explants), whereas MS medium containing 4 mg.L⁻¹ BA and 0.5 mg.L⁻¹ NAA provided the longest shoot length (5.3 cm./shoot). All healthy regenerated shoots and roots were then transplanted to the greenhouse and observed for 5 month. We found that the highest survival rate of plantlets observed was 90% and occurred when the plantlets were planted on plastic pots containing dried clay powder, dried grass and rice-husk ash at the ratio of 2 : 1 : 1.

Keywords: *Caladium bicolor* Vent., Micropropagation, Plant Growth Regulators, Callus, Regeneration

บทนำ

บอนสี (*Caladium bicolor* Vent.) เป็นพืชในวงศ์ Araceae สกุล *Caladium* มีถิ่นกำเนิดในแถบทวีปอเมริกาใต้ และประเทศในเขตร้อนทั่วไป จัดเป็นราชินีแห่งไม้ใบ เนื่องจากเป็นไม้ประดับที่มีความสวยงาม ลักษณะของใบมีรูปทรง และสีสันสวยงาม เป็นไม้ประเภทล้มลุก มีหัวสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน ระบบรากเป็นรากฝอย และมักจะพักตัวในช่วงฤดูหนาว ด้วยการทิ้งใบหมดและเริ่มผลิใบเจริญเติบโตใหม่อีกครั้งในฤดูฝน (Caladium Society of Thailand, 2012) ปัจจุบันบอนสีนิยมปลูกเพื่อการผลิตเป็นไม้กระถาง เพื่อการส่งออกทั้งในและต่างประเทศ โดยในระยะแรกมีการปลูกเพื่อการส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่น อินโดนีเซีย

และมาเลเซีย จากปริมาณการส่งออกที่เพิ่มมากขึ้น จึงทำให้เริ่มมีผู้นิยมปลูกบอนสีเพิ่มขึ้น ดังนั้นการขยายพันธุ์บอนสีเพื่อการส่งออกจึงได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น สำหรับการขยายพันธุ์บอนสีสามารถใช้เมล็ดเพื่อการขยายพันธุ์ได้ แต่มักจะประสบปัญหาการกลายพันธุ์ และนอกจากการขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนเมล็ดแล้ว การเลือกใช้ส่วนหัว (Tuber) เพื่อการขยายพันธุ์บอนสีก็เป็นที่ยอมรับเช่นกัน แต่ในขณะเดียวกันการขยายพันธุ์ด้วยการใช้ส่วนหัวมักจะประสบปัญหาโรคโคนเน่าสาเหตุจากเชื้อ *Fusarium* sp. ที่จะเข้าไปทำลายเนื้อเยื่อลำเลียงน้ำและอาหารของบอนสีทำให้ต้นแห้งตายได้ (Deng, 2012) ปัญหาดังกล่าวจึงส่งผลต่อการส่งออกพืชตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ได้ ดังนั้นการประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งของการขยายพันธุ์ต้นบอนสีให้ปราศจากโรคและแมลงศัตรูพืช ดังรายงานของ Hartman (1974) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของบอนสีพันธุ์ 'Candidum' และ 'Freida Hemple' ภายใต้สภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA เข้มข้น 15.0 mg.L⁻¹ ร่วมกับ Kinetin เข้มข้น 1.0 mg.L⁻¹ และพบว่าต้นใหม่ที่เจริญเติบโตบนอาหารเพาะเลี้ยงปลอดจากเชื้อไวรัส และนอกจากนี้ การขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังเป็นการขยายพันธุ์ต้นอ่อนให้ได้ปริมาณมากภายในระยะเวลาอันสั้น เพื่อการขยายพันธุ์ในเชิงการค้ารวมทั้งเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้สำหรับการเก็บรักษาสายพันธุ์ และการปรับปรุงสายพันธุ์บอนสีต่อไปในอนาคต

จากการศึกษาการเพิ่มปริมาณต้นบอนสีในสภาพปลอดเชื่อนั้นมีการนำเอาชิ้นส่วนต่าง ๆ เช่น ใบ (Somkanea et al, 2007; Thepsithar et al., 2010; Thepsithar et al., 2011; Seydi et al., 2016) หัว (Maqsood et al., 2015) และชิ้นส่วนปลายยอด (Ali et al., 2007) มาใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการนี้ การขยายพันธุ์บอนสีในสภาพปลอดเชื่อนั้นจำเป็นต้องศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสม รวมถึงการเลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ออกซิน และ ไซโทไคนิน ในอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัสและต้นบอนสีต่อไป ดังรายงานของ Thepsithar et al. (2011) ที่ศึกษาการเพิ่มปริมาณต้นบอนสี *C. Humboldtii* 'Phraya Savet' ด้วยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อน พบว่าการเติม NAA เข้มข้น 2.69 μ M และ 17.76 μ M ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS สามารถชักให้เกิดต้นอ่อนและแคลลัสได้ จากนั้นสามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนได้ด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 8.88 μ M Maqsood et al. (2015) ได้เพาะเลี้ยงส่วนหัวของ *C. bicolor* บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA เข้มข้น 0.5 mg.L⁻¹ ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5 mg.L⁻¹ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนหัวเจริญเป็นแคลลัสและสามารถชักนำให้เกิดต้นได้ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม ซึ่งการเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากของบอนสีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องอาศัยบทบาทของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินและออกซินที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม (Bunnag, 2013) ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ต่อเพาะเลี้ยงใบอ่อนบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อจะได้นำผลจากการศึกษาในครั้งนี้ไปประยุกต์ใช้ในการขยายพันธุ์ และปรับปรุงพันธุ์บอนสีสายพันธุ์อื่นๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด N6-Benzyladenine (BA) และ α -Naphthalene Acetic Acid (NAA) ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ
2. เพื่อการขยายพันธุ์บอนสีให้ได้ต้นจำนวนมากภายใต้สภาพปลอดเชื้อ
3. เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของต้นอ่อนบอนสีจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เมื่อย้ายออกปลูกในสภาพแวดล้อม

วิธีการวิจัย

1. พืชที่ใช้ศึกษา

ต้นบอนสี (*Caladium bicolor* Vent.) อายุ 1 ปี ความสูง 30 ซม. ตัวอย่างพืชจากร้านจำหน่ายพันธุ์พืชงานเกษตรอีสานใต้ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี

2. การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวชิ้นส่วนใบอ่อนของบอนสี

นำชิ้นส่วนใบอ่อนของต้นบอนสีมาล้างน้ำไหลผ่านประมาณ 10 นาที จากนั้นนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70% (v/v) นาน 1 นาที จึงย้ายมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (Clorox™) เข้มข้น 15 % (v/v) เติมสารจับใบ (Tween 20) 2 หยด เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปล้างในน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

3. การศึกษาอิทธิพลของ BA และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนบอนสี

นำชิ้นส่วนแผ่นใบอ่อนของบอนสีที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว ตัดให้ได้ขนาด 0.5×0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาล 3% (w/v) ผงถ่าน 0.25% (w/v) ผงวุ้น 0.8% (w/v) ที่มีการเติม BA เข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0 และ 0.5 mg.L^{-1} เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกร้อยละการชักนำให้เกิดแคลลัส

$$\text{ร้อยละการชักนำให้เกิดแคลลัส} = \frac{(\text{จำนวนใบอ่อนที่มีการสร้างแคลลัส}) \times 100}{(\text{จำนวนใบอ่อนที่เริ่มต้นเพาะเลี้ยง})}$$

4. การเพิ่มปริมาณต้นอ่อนบอนสี

ย้ายแคลลัสที่ได้จากการทดลองในขั้นตอนที่ 3 มาตัดแบ่งแคลลัสให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ซม. และคัดเลือกต้นอ่อนที่เจริญจากแคลลัสที่มีความสูง 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาล 3% (w/v) ผงถ่าน 0.25% (w/v) ผงวุ้น 0.8% (w/v) ที่มีการเติม BA เข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0 และ 0.5 mg.L^{-1} เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกร้อยละการเกิดต้น จำนวนยอดที่เจริญจากชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น และความสูงของต้น

$$\text{ร้อยละการชักนำให้เกิดต้นใหม่} = \frac{(\text{จำนวนแคลลัสที่เกิดต้นใหม่}) \times 100}{(\text{จำนวนแคลลัสเริ่มต้น})}$$

เลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design : CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ขวด

5. การย้ายต้นอ่อนออกปลูกในสภาพโรงเรือน

นำต้นบอนสีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากสูตรอาหารที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นอ่อน และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ มาอนุบาลโดยการปรับสภาพที่อุณหภูมิห้องที่มีอากาศถ่ายเทสะดวกเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึงย้ายต้นอ่อนออกจากขวดเพาะเลี้ยง และล้างรากให้สะอาด นำต้นอ่อนมาแช่ในสารป้องกันเชื้อราและแบคทีเรีย (ออโรไซด์™ 5 g.L^{-1}) เพื่อป้องกันโรคต้นเน่าเนื่องจากพืชยังอ่อนแอและสามารถถูกเชื้อโรคบุกกรุกได้ง่าย จากนั้นนำไปปลูกในถุงพลาสติกดำที่มีวัสดุปลูก ได้แก่ ดินเหนียวตากแดดจนแห้งแล้วผสมกับเศษหญ้าแห้ง และขี้เถ้ากลบ ในอัตราส่วน 2 : 1 : 1 จากนั้นรดน้ำให้ชุ่ม คลุมถุงพลาสติกดำด้วยถุงพลาสติก เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อรักษาความชื้นให้ใกล้เคียงกับสภาพห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จากนั้นจึงย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน รดน้ำอย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง บันทึกร้อยละการรอดชีวิตของบอนสีที่ย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน เมื่อย้ายปลูกเป็นเวลา 5 สัปดาห์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาอิทธิพลของ BA และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนบอนสี

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของบอนสีบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0 และ 0.5 mg.L^{-1} ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อศึกษาอิทธิพลของ BA และ NAA ต่อการเพิ่มจำนวนของต้นบอนสี พบว่า ใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA เข้มข้น 0 – 5 mg.L^{-1} ไม่สามารถชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัสและต้นใหม่ได้ สำหรับชิ้นส่วนใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L^{-1} เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารมีลักษณะหงิกงอ และบวม จากนั้นพบการพัฒนาเป็นแคลลัสจากบริเวณขอบ และแผ่นใบ ลักษณะของแคลลัสมีสีเขียวปนเหลือง และแคลลัสเป็นแบบเกาะกันแน่น (ภาพที่ 1A) นอกจากนี้ยังพบว่าแคลลัสที่เกิดจากใบอ่อน บางแคลลัสมียอดเกิดร่วมด้วย โดยยอดที่เกิดขึ้นเป็นการเจริญแบบ Indirect Organogenesis เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยพบว่าอาหารสูตรที่เติม BA เข้มข้น 2 และ 3 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L^{-1} มีการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ สำหรับอาหารสูตรที่เติม BA เข้มข้น 1, 4 และ 5 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L^{-1} พบว่ามี

การเจริญเติบโตเป็นแคลลัสที่มีการสร้างยอดเกิดร่วมด้วย (ภาพที่ 1B) (ตารางที่ 1) จากการทดลองนี้พบว่า การเติม BA เพียงอย่างเดียวไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนได้ แต่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เมื่อเพาะเลี้ยงใบอ่อนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ดังรายงานของ Thepsithar et al. (2010) ที่พบว่า การเติม BA เข้มข้น $17.76 \mu\text{M}$ ร่วมกับการเติม NAA เข้มข้น $2.69\text{--}5.37 \mu\text{M}$ สามารถชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัสจากแผ่นใบได้ 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับบทบาทของ BA จัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของไซโทไคนิน ที่มีผลต่อการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ในส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ดี เช่น ลำต้นและราก รวมถึงเซลล์เพาะเลี้ยง และ NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ที่มีผลต่อการควบคุมการขยายขนาดของเซลล์ กระตุ้นการแบ่งเซลล์และการยืดตัวของเซลล์ ซึ่งการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินในระดับความเข้มข้นสูงจะกระตุ้นให้นื้อเยื่อพัฒนาเป็นยอดได้ (Bunnag, 2013) ดังนั้นการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินร่วมกับ ไซโทไคนินในอัตราส่วนที่เหมาะสมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนของพืชเจริญเติบโตเป็นแคลลัสได้ (Ikeuchi et al., 2013) จากรายงานที่ผ่านมาพบว่าการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน นิยมเลือกใช้ NAA ร่วมกับ ไซโทไคนิน เนื่องจากการใช้ออกซินชนิดอื่น เช่น 2,4-D เพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้างแคลลัสและต้นใหม่ของบอนสีจะส่งผลการชักนำให้เกิดความผันแปรทางพันธุกรรมได้ ดังรายงานของ Ahmed et al. (2004) ได้ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *C. bicolor* 'Pink Cloud' บนอาหารสูตรที่เติมออกซิน ได้แก่ 2,4-D, 2,4,5-T, IAA, IBA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ร่วมกับการเติม BA จากการศึกษพบว่าต้นใหม่ที่เกิดจาก การเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม 2,4-D เข้มข้น $0.1 - 1.0 \text{ mg.L}^{-1}$ เกิดความผันแปรทางพันธุกรรม 100% ในขณะที่ต้นที่เกิดจากอาหารสูตรที่เติม NAA เข้มข้น 0.1 mg.L^{-1} เกิดความผันแปรทางพันธุกรรมเพียง 15%

ตารางที่ 1 ผลของการเติม BA ความเข้มข้น 0 - 5 mg.L⁻¹ ร่วมกับ NAA 0.5 mg.L⁻¹ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส และยอด จำนวนยอดเฉลี่ย และความสูงเฉลี่ย เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

สูตรอาหาร		ร้อยละการชักนำให้เกิดแคลลัส	ลักษณะของแคลลัส
BA (mg.L ⁻¹)	NAA (mg.L ⁻¹)		
0	0	0 ^c	-
1	0.5	50.0 ± 6.90 ^a	แคลลัสมีสีเขียวปนเหลือง และมี ยอดเกิดร่วมบนแคลลัส
2	0.5	20.0 ± 6.55 ^b	แคลลัสมีสีเขียวปนเหลือง
3	0.5	26.7 ± 8.26 ^b	แคลลัสมีสีเขียวปนเหลือง
4	0.5	36.7 ± 5.91 ^{ab}	แคลลัสมีสีเขียว และมียอดเกิดร่วม บนแคลลัส
5	0.5	30.0 ± 6.55 ^b	แคลลัสมีสีเขียว และมียอดเกิดร่วม บนแคลลัส

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.E.$) มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวดิ่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ($p < 0.05$)

2. ผลการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนบอนสี

จากการย้ายแคลลัส และต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 mg.L⁻¹ ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L⁻¹ เพื่อเพิ่มปริมาณต้นบอนสี และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA เพียงอย่างเดียวไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ (ภาพที่ 1C) ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 1, 2, 3, 4, และ 5 mg.L⁻¹ ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L⁻¹ สามารถชักนำให้แคลลัสเจริญเป็นต้นใหม่ได้ โดยพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 3 mg.L⁻¹ ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L⁻¹ มีร้อยละการชักนำให้แคลลัสเจริญเป็นต้นใหม่สูงสุด เท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย/แคลลัส เท่ากับ 4.0 ยอด ความสูงต้นเฉลี่ย เท่ากับ 3.0 ซม. (ภาพที่ 1D) (ตารางที่ 2) จากการทดลองในครั้งนี้พบว่า การเติม BA เพียงอย่างเดียว แคลลัสไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ แต่จะสามารถชักนำให้แคลลัสเจริญเป็นต้นได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ดังรายงานของ Mujib et al. (2008) พบว่าการเติม BA ร่วมกับ NAA จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ของ *C. bicolor* รวมถึงกระบวนการสร้างเอมบริโอจากเซลล์ร่างกายด้วยเช่นกัน เช่นเดียวกับรายงานของ Ahmed et al. (2004) รายงานการเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยง *Caladium* พบว่าการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่ม BA ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่จำนวนมากได้ แต่ผลการทดลองนี้พบว่าแตกต่างจากรายงานของ Chan et al.

(2003) ที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนบอนสี *C. hortulanum* และ *C. bicolor* 'Florida Crown' ได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 mg.L⁻¹ เพียงอย่างเดียว และ Thepsithar et al. (2010) ที่สามารถชักนำให้แคลลัสของบอนสีเจริญเป็นต้นใหม่ได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA 11.1 µM เพียงอย่างเดียว

สำหรับชิ้นส่วนต้นอ่อนที่ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 mg.L⁻¹ ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L⁻¹ พบว่าอาหารทุกสูตรสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ โดยพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 mg.L⁻¹ สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้สูงสุดเฉลี่ย 5 ต้น (ภาพที่ 1E) และพบว่าต้นอ่อนที่ย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 mg.L⁻¹ ร่วมกับ NAA 0.5 mg.L⁻¹ สามารถชักนำให้ต้นอ่อนมีความสูงมากที่สุด เท่ากับ 5.3 ซม. (ภาพที่ 1F) (ตารางที่ 2) และต้นอ่อนที่เจริญเติบโตบนอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดรากได้ การที่มีทั้งต้นและรากเกิดขึ้นได้ในอาหารสูตรเดียวกัน เนื่องจาก NAA ที่จัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน มีบทบาทในการควบคุมการขยายขนาดของเซลล์ กระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเจริญเติบโตของรากพืช (Bunnag, 2013) และในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการกระตุ้นให้เกิดต้นจำนวนมากนั้นนิยมใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินในการชักนำให้เกิดต้นจำนวนมาก โดย BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาพปลอดเชื้อ (Kaviani, 2015) ในการทดลองครั้งนี้ผลการทดลองที่ได้สามารถชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสได้เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ และสามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนได้ 5 ยอดต่อชิ้นส่วน อาจเกิดเนื่องจากอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตจากสูตรอาหารเดิมและสูตรอาหารใหม่ที่แตกต่างกัน ที่อาจส่งผลต่อการชักนำให้เกิดต้นของบอนสี ดังนั้นควรทำการย้ายเลี้ยงแคลลัสและต้นอ่อนจากอาหารสูตรเดิมมาย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตก่อนเพื่อลดบทบาทของสารควบคุมการเจริญเติบโตจากสูตรอาหารเดิม และเพื่อส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนของบอนสีที่เพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 2 การเพิ่มปริมาณต้นบอนสี (Shoot Multiplication) จากการเพาะเลี้ยงย้ายชิ้นส่วนแคลลัส และต้นอ่อน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 mg.L⁻¹ และอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 mg.L⁻¹ ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L⁻¹ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

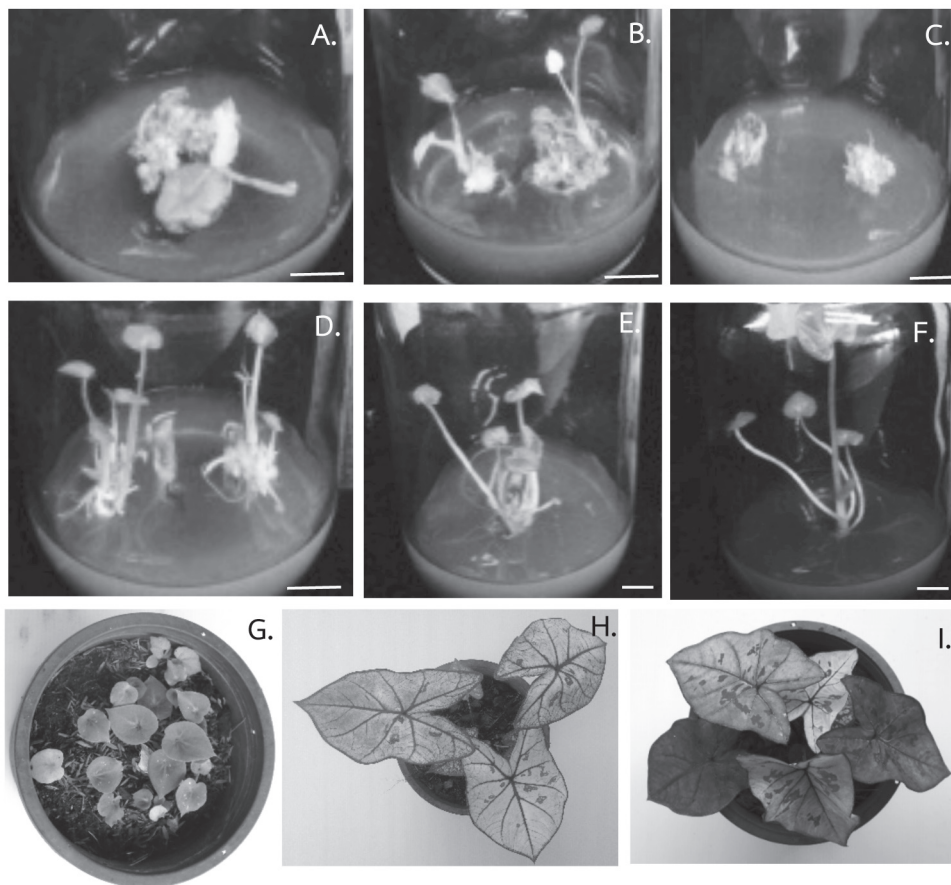
สารควบคุม การเจริญเติบโต		แคลลัส			ต้นอ่อน	
BA (mg.L ⁻¹)	NAA (mg.L ⁻¹)	ร้อยละ การเกิดยอด	จำนวน ยอดเฉลี่ย/ชิ้น	ความสูง เฉลี่ย/ต้น	จำนวน ยอดเฉลี่ย/ชิ้น	ความสูง เฉลี่ย/ต้น
0	0	0 ^d	0 ^c	0 ^d	2.0 ± 0.26 ^d	2.5 ± 0.30 ^{de}
1	0	0 ^d	0 ^c	0 ^d	4.0 ± 0.26 ^{ab}	3.0 ± 0.19 ^{cde}
2	0	0 ^d	0 ^c	0 ^d	5.0 ± 0.22 ^a	3.5 ± 0.23 ^{cd}
3	0	0 ^d	0 ^c	0 ^d	4.0 ± 0.19 ^{ab}	4.8 ± 0.31 ^{ab}
4	0	0 ^d	0 ^c	0 ^d	3.0 ± 0.53 ^{bcd}	3.9 ± 0.21 ^{bc}
5	0	0 ^d	0 ^c	0 ^d	4.0 ± 0.49 ^{ab}	3.2 ± 0.45 ^{cde}
0	0.5	0 ^d	0 ^c	0 ^d	2.0 ± 0.22 ^d	2.5 ± 0.29 ^{de}
1	0.5	13.3 ± 5.90 ^{cd}	1.4 ± 0.24 ^b	0.5 ± 0.12 ^{cd}	2.0 ± 0.28 ^d	2.0 ± 0.21 ^e
2	0.5	16.7 ± 6.39 ^c	1.7 ± 0.19 ^b	0.9 ± 0.21 ^c	2.7 ± 0.52 ^{cd}	2.4 ± 0.63 ^{de}
3	0.5	50.0 ± 4.88 ^a	4.0 ± 0.31 ^a	3.0 ± 0.24 ^a	2.0 ± 0.53 ^d	4.0 ± 0.68 ^{bc}
4	0.5	33.3 ± 6.29 ^b	3.2 ± 0.49 ^a	2.5 ± 0.35 ^{ab}	3.8 ± 0.33 ^{bc}	5.3 ± 0.64 ^a
5	0.5	40.0 ± 5.35 ^{ab}	1.8 ± 0.24 ^b	2.2 ± 1.72 ^b	3.0 ± 0.28 ^{bcd}	4.0 ± 0.19 ^{bc}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.E.$) มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ($p < 0.05$)

3. ผลการย้ายต้นอ่อนออกปลูกในสภาพโรงเรือน

จากการนำต้นอ่อนบอนสีที่มีลำต้นและรากที่เจริญจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 0-5 mg.L⁻¹ ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L⁻¹ ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ นำออกย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ ด้วยการปลูกในดินเหนียวตากแดดจนแห้งแล้วผสมกับเศษหญ้าแห้ง และขี้เถ้าแกลบ ในอัตราส่วน 2 : 1 : 1 เพื่อศึกษาการรอดชีวิต พบว่าต้นบอนสีมีการเจริญเติบโตได้ดี และเริ่มมีการแตกของใบใหม่ และใบของบอนสีเริ่มคลี่กางออก หลังจากที่ทำกรเพาะปลูกเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และเมื่อปลูกเป็นเวลา 5 เดือน พบว่าบอนสีมีร้อยละการรอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1G, 1H และ 1I) จากรายงานที่ผ่านมาพบว่าสามารถย้ายต้นอ่อนบอนสีที่เจริญเติบโตภายใต้สภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้เมื่อย้ายปลูกในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน ดังรายงานของ Ali et al. (2007) สามารถย้ายปลูกต้นอ่อนบอนสีออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ เมื่อปลูกในวัสดุปลูกคือดินทราย : พีทมอส และดิน ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 Buddharak et al. (2011) รายงานว่าต้นอ่อนบอนสีสามารถรอดชีวิต

80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย้ายปลูกในวัสดุปลูกคือ ดินร่วน : ดินทราย : ขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วนเท่ากับ 1 : 1 : 1 และรายงานของ Sanguanserm Sri et al. (2011) รายงานว่าสามารถย้ายต้นอ่อนบอนสีออกปลูกในโรงเรือนอนุบาลโดยใช้วัสดุปลูกคือ ดิน : ทราย : ขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 พบว่ามีร้อยละการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ A. การเจริญเติบโตเป็นแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 1 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L^{-1} เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์, B. การเจริญเติบโตเป็นแคลลัสและยอดจากการเพาะเลี้ยงใบบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 1 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L^{-1} เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์, C. แคลลัสที่ย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 5 mg.L^{-1} , D. การเกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 3 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L^{-1} , E. การเพิ่มปริมาณต้นอ่อนบอนสีจากการย้ายต้นอ่อนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 2 mg.L^{-1} , F. การเพิ่มปริมาณต้นอ่อนบอนสีจากการย้ายต้นอ่อนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 4 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L^{-1} , (สเกลบาร์ = 1 ซม.), G. ต้นบอนสีย้ายปลูกในกระถาง อายุ 4 สัปดาห์, H. ต้นบอนสีที่ปลูกในกระถางเป็นเวลา 2 เดือน และ I. ต้นบอนสีที่ปลูกในกระถางเป็นเวลา 5 เดือน

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาอิทธิพลของ BA และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของบอนสี พบว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัส คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 1 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L^{-1} และจากการย้ายแคลลัสและต้นอ่อนที่เจริญบนแคลลัส ไปเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณต้นอ่อนบอนสี เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสสามารถเจริญเป็นต้นใหม่ได้ดี เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 3 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L^{-1} และพบว่าอาหารทุกสูตรสามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนบอนสีได้ โดยพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 2 mg.L^{-1} สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่สูงสุด และอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 4 mg.L^{-1} ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 mg.L^{-1} สามารถชักนำให้ต้นอ่อนมีความสูงมากที่สุด จากนั้นย้ายต้นบอนสีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ นำออกย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ ด้วยการปลูกในดินเหนียวตากแดดจนแห้งแล้วผสมกับเศษหญ้าแห้ง และขี้เถ้ากลบ ในอัตราส่วน 2 : 1 : 1 เป็นเวลา 5 เดือน พบว่าบอนสีมีอัตราการรอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์

References

- Ahmed, E.U., Hayashi, T. & Yazawa, S. (2004). Auxin increase the occurrence of leaf-colour variants in *Caladium* regenerated from leaf explants. *Scientia Horticulturae*, 100, 153-159.
- Ali, A., Munawar, A. & Naz, S. (2007). An *In Vitro* Study on Micropropagation of *Caladium bicolor*. *International Journal of Agriculturae & Biology*, 9(5), 731-735.
- Buddharak, P., Chundet, R. & U-kong, W. (2011). *In vitro* culture of *Hippeastrum johnsonii* Bury and *Caladium bicolor* Vent. *Naresuan University Journal*, 19(1), 18-23.
- Bunnag, S. (2013). *Plant Tissue Culture and Plant Gene Transfer*. Khon Kaen: KKU publishing.
- Caladium Society of Thailand. (2012). *Caladium: Queen of Foliage Plants*. Bangkok: Amarin printing and publishing.
- Chan, L.K., Tan, C.M. & Chew, G.S. (2003). Micropropagation of the Araceae ornamental plants. *Acta Horticulturae*, 616, 383-390.
- Deng, Z. (2012). *Caladium Genetics and Breeding: Recent Advances*. *Floriculture and Ornamental Biotechnology*, 6 (Special Issue1), 53-61.

- Hartman, R.D. (1974). Dasheen mosaic virus and other phytopathogens eliminated from caladium, taro, and cocoyam through culture of shoot tips. *Phytopathology*, 64, 237-240.
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K. & Iwase, A. (2013). Plant callus: mechanisms of induction and repression. *Plant Cell*, 25, 3159-73.
- Kaviani, B., Hashemabadi, D., Khodabakhsh, H., Onsinejad, R., Ansari, M.H. & Haghghat, N. (2015). Micropropagation of *Begonia rex* Putz. by 6-benzyladenine (BA) and α -naphthalene acetic acid (NAA). *International Journal of Biosciences*, 6(5), 8-15.
- Maqsood, M., Mujib, A. & Khusrau, M. (2015). Preparation and Low Temperature Short-term Storage for Synthetic Seeds of *Caladium bicolor*. *Notulae Scientia Biologicae*, 7(1), 90-95.
- Mujib, A. Banerjee, S., Fatima, S. & Ghosh, P.D. (2008) Regenerated plant populations from rhizome-calli showed morphological and chromosomal changes in *Caladium bicolor* (Ait.) Vent. cv. Bleeding heart. *Propagation Ornamental Plants*, 8: 138-143.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15, 473 – 497.
- Sanguanserm, M., U-Kong, W. & Buddharaksa, P. (2011). *In vitro* culture young leaf of *Caladium bicolor* Vent. *Naresuan Phayao Journal*, 4(2), 17-21.
- Seydi, S., Neghdar, N., Andevvari, R.T., Ansari, M.H. & Kaviani, A. (2016). Effect of BAP and NAA on Micropropagation of *Caladium bicolor* (Aiton) Vent., an Ornamental Plant. *Journal of Ornamental Plants*, 6(1), 59-66.
- Somkane, U., Thepsithar, C. & Thongpukdee, A. (2007). Somaclonal variation of caladium (*Caladium bicolor* (Ait.) Vent.) from *in vitro* propagation. *Acta Horticulturae*, 755, 357-364.
- Thepsithar, C., Thongpukdee, A. & Chiensil, P. (2010). Micropropagation of *Caladium bicolor* (Ait.) Vent. ‘Thep Songsil’ and Incidence of Somaclonal Variants. *Acta Horticulturae*, 855, 273-280.

Thepsithar, C., Thongpukdee, A., Sugaram, R. & Somkanae, U. (2011). Mutated Clones of *Caladium humboldtii* 'Phraya Savet' from *in vitro* Culture and Occurrence of Variants from Somatic Hybridization between Two *Caladium* Species. *Journal of Life Sciences*, 5, 352-359.

คณะผู้เขียน

ดร.ขวัญเดือน รัตนา

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ต.ในเมือง อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000
e-mail: K_rattana@yahoo.com

อาจารย์ศุภาวีร์ แสงจันทร์จิรเดช

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ต.ในเมือง อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000
e-mail: Supavee.s@ubru.ac.th

ดร.พุกพล มุ่งลือ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ต.ในเมือง อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000
e-mail: Phukphon.m@ubru.ac.th

