

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของต้นมะเขือเทศ

พรทิพย์ ธนุทอง บุญเรือน เพียรงาน และ สุรชาติย์ ฤกษ์วรชัย¹

บทคัดย่อ

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของต้นมะเขือเทศพันธุ์ลีด้า และพันธุ์ P 502 ซึ่งเป็นพันธุ์นิยมปลูกเป็นการค้าในประเทศไทย เนื้อเยื่อบริเวณที่นำมาทดสอบความสามารถในการพัฒนาการตามขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเซลล์ต้นพืช ได้แก่ เนื้อเยื่อส่วนใบ กิ่งอ่อน epicotyl และ hypocotyl การตอบสนองของต้นมะเขือเทศทั้งสองพันธุ์ในการนำมาเพาะเลี้ยงคล้ายคลึงกัน โดยชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่มีการเจริญเป็นแคลลัสได้ดี คือ เนื้อเยื่อจากใบ กิ่งอ่อน ส่วนเนื้อเยื่อจาก epicotyl และ hypocotyl เจริญเป็นแคลลัสได้ค่อนข้างช้า อาหารที่เหมาะสมในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสสำหรับเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ดังกล่าว คือ อาหาร MS ดัดแปลงที่มีระดับฮอร์โมนเป็น NAA 0.05 mg/l และ BAP 0.5 mg/l อาหารที่กระตุ้นให้แคลลัสเจริญเป็นต้นอ่อน คือ อาหาร MS ที่ประกอบด้วย NAA 0.05 mg/l และ BAP 5.0 mg/l หรือ NAA 0.1 mg/l และ 2iP 5.0 mg/l ซึ่งในสูตรแรกสามารถกระตุ้นให้สร้างต้นอ่อนได้จำนวนมาก แต่มักไม่เกิดราก ส่วนต้นอ่อนที่ได้จากการเลี้ยงในสูตรหลังมักจะแข็งแรงกว่าและเกิดรากที่สมบูรณ์ กรณีที่ลำต้นที่ได้ยังไม่เกิดรากหรือมีรากน้อย สามารถกระตุ้นให้เกิดรากให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น โดยย้ายลงในอาหาร MS ที่มี NAA 0.001 mg/l และ BAP 0.0005 mg/l หรือย้ายอีกครั้งในอาหาร MS ปราศจากฮอร์โมน เนื้อเยื่อจาก ใบ กิ่งอ่อน และ epicotyl สามารถพัฒนาเป็นแคลลัส และเกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ภายในระยะเวลา 6-12 สัปดาห์ แต่เนื้อเยื่อจาก hypocotyl มีการพัฒนาการต่างออกไป โดยเจริญเป็นก้อนแคลลัสลักษณะแข็งสีค่อนข้างขาวปนน้ำตาล และมีรากจำนวนมากในอาหารเกือบทุกสูตร สามารถกระตุ้นให้สร้าง shoot bud ได้น้อยมาก และมีการเจริญช้า

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

เป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกเพื่อบริโภคผลสด และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มะเขือเทศที่ปลูกเป็นการค้าโดยทั่วไป มักจะเป็นพืชที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อสภาพแวดล้อม รวมทั้งโรคและแมลงศัตรูพืช จำเป็นต้องให้ความเอาใจใส่ดูแลรักษาเป็นอย่างดีและสม่ำเสมอ ทำให้ต้นทุนการผลิตอยู่ในระดับสูง การใช้พันธุ์ที่ให้ผลผลิตดีและมีความต้านทานโรคหรือแมลงในการเพาะปลูกเป็นวิธีที่สำคัญอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดต้นทุนการผลิตและเวลาในการดูแลรักษาเป็นอย่างมาก การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมพันธุ์แต่อย่างเดียวยังจะไม่เพียงพอต่อการตอบสนองความต้องการบริบทในปัจจุบัน จึงได้เริ่มมีการนำเอาเทคโนโลยีทางชีวภาพเข้ามาช่วยเพื่อร่นระยะเวลาการคัดเลือกพันธุ์พืชที่ต้องการ ซึ่งได้แก่ วิธีการทางการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและ

เซลล์พืช ซึ่งมีการพัฒนาวิธีการจนกระทั่งสามารถผลิตพืชพันธุ์ดีต่าง ๆ เป็นการค้าได้อย่างแพร่หลาย (Holling, 1965) ในการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยเทคโนโลยีใหม่นี้ อาจทำได้จากการคัดเลือกเซลล์หรือเนื้อเยื่อหรือต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากการตัดได้จากจำนวนประชากรมากมายนับล้านภายในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้มีโอกาสดังกล่าวที่จะได้พันธุ์ที่ต้องการโดยลดต้นทุนในการใช้พื้นที่เพาะปลูก หรือการผสมระหว่างเซลล์ส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น protoplast fusion หรือการตัดต่อจีน และสอดใส่เข้าไปในเซลล์ที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์เป็นต้น (พรทิพย์, 2528)

ในต่างประเทศ ได้มีการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมะเขือเทศหลายพันธุ์ต่าง ๆ ทั้งพันธุ์ที่เป็นการค้าบางพันธุ์ และพันธุ์ป่า (*Lycopersicon peruvianum*; *L. pimpinellifolium*, *L. cheesmanii* และ *L. hirsutum*) ซึ่งมีทั้งแหล่งพันธุกรรมลักษณะต้านทานโรคต่าง ๆ โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ เช่น ตายอด ลำต้น ใบ กิ่ง และส่วนโคนต้น อย่างไรก็ตาม การ

¹ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผู้ช่วยวิจัย และนักศึกษา ตามลำดับ ภาควิชา กัญญาวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

กระตุ้นให้เกิดการเจริญและพัฒนาการของเนื้อเยื่อหรือเซลล์มะเขือเทศให้เป็นไปตามที่คาดหวัง รวมทั้งการคิดค้นวิธีการปฏิบัติที่เป็นมาตรฐานเดียวกันเพื่อการผลิตในเชิงปริมาณยังทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวเนื่องทั้งในสภาพแวดล้อม ฤดูกาล สายพันธุ์ แหล่งของเนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยง และอื่น ๆ (Bigot et al., 1977; Frankenberger et al., 1981; Zapata and Zink, 1981) จึงควรทำการทดสอบและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับพันธุ์มะเขือเทศที่นิยมปลูกเป็นการค้าในประเทศไทย เช่น พันธุ์สีดา และพันธุ์ P 502 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสำหรับทั้งการบริโภคผลสดและส่งโรงงานแปรรูป

ในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะเขือเทศครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาการเจริญและการตอบสนองของเนื้อเยื่อมะเขือเทศพันธุ์สีดา และพันธุ์ P 502 โดยใช้เนื้อเยื่อจากส่วนของใบ กิ่งอ่อน epicotyl และ hypocotyl เพื่อเป็นแนวทางศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเทคโนโลยีชีวภาพของพืชในด้านต่าง ๆ มาประยุกต์ใช้ปรับปรุงพันธุ์ในประเทศไทยให้ได้ผลสำเร็จ

อุปกรณ์และวิธีการ

การปลูกมะเขือเทศ

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ที่ใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มี 2 พันธุ์ คือ พันธุ์สีดา และพันธุ์ P 502 (Pacesetter 502) เมล็ดพันธุ์ได้รับการอนุเคราะห์จากสายงานพืชผักภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เปรียบเทียบชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงจากต้นมะเขือเทศที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ และในสภาพปกติในเรือนทดลอง การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อโดยทำการฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดพันธุ์ด้วย mercuric chloride 0.2% ประมาณ 5 นาที แล้วล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่น หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วอีก 3 ครั้ง วางเมล็ดลงบน water agar 1% ในขวดเพาะเลี้ยงอุณหภูมิ 26°C. หลังเมล็ดงอกให้แสงสว่าง 3000 lux 6 ชม./วัน ประมาณ 6 สัปดาห์ จึงได้ลำต้นที่มีขนาดโตพอที่จะนำมาทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ส่วนการเพาะเมล็ดในสภาพปกติเพาะในกระถางบรรจุส่วนผสม ดิน : แกลบ อัตรา 1 : 1 ใช้ดินมะเขือเทศอายุประมาณ 3-6 สัปดาห์หลังงอก สำหรับการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การแยกและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ต้นกล้ามะเขือเทศที่ได้รับ การเพาะในสภาพปลอดเชื่อนั้น ทำการตัดเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ คือ ใบ กิ่งอ่อน epicotyl และ hypocotyl แล้วย้ายลงเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ไม่ต้องทำการฆ่าเชื้อบริเวณผิวอีก ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากต้นที่ปลูกในกระถางในเรือนทดลอง ทำการฆ่าเชื้อบริเวณผิวของชิ้นส่วนต่าง ๆ ด้วย mercuric chloride 0.2% ประมาณ 30 วินาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วอีก 3 ครั้ง ขนาดของเนื้อเยื่อใบที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงประมาณ 5 × 5 มม. ส่วนเนื้อเยื่อจากกิ่งอ่อน epicotyl และ hypocotyl ตัดให้มีขนาดยาวประมาณ 5 มม. ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของมะเขือเทศดังกล่าวในอาหารกึ่งแข็งที่เตรียมไว้ในขวด vial ขนาด 8 dram จูอาหารขวดละ 5 มล. แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 26°C. แสงสว่างประมาณ

ตารางที่ 1 อัตราส่วนผสมของฮอร์โมนที่ระดับต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง

สูตรอาหาร ¹	ปริมาณฮอร์โมน (มก./ลิตร)
M1	NAA 3.0 + BAP 0.1
M2	NAA 2.0 + BAP 0.5
M3	NAA 1.0 + BAP 1.0
M4	NAA 0.5 + BAP 2.0
M5	NAA 0.1 + BAP 3.0
M6	NAA 0.05 + BAP 5.0
M7	NAA 2.0 + BAP 0.2
M8	NAA 0.1 + BAP 5.0
M9	NAA 0.05 + BAP 0.5
M10	NAA 3.0 + 2iP 0.1
M11	NAA 2.0 + 2iP 0.5
M12	NAA 1.0 + 2iP 1.0
M13	NAA 0.5 + 2iP 2.0
M14	NAA 0.1 + 2iP 3.0
M15	NAA 0.05 + 2iP 5.0
M16	IAA 0.1 + 2iP 0.5
M17	NAA 0.05 + BAP 0.05
M18	NAA 0.005 + BAP 0.005
M19	NAA 0.001 + BAP 0.0005
M20	NAA 0.0 + BAP 0.0

¹อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผสมตามสูตรอาหารพื้นฐานของ Murashige and Skoog (1962)

3000 lux 16 ชม./ วัน สังเกตการเจริญของเนื้อเยื่อในอาหารชนิดต่าง ๆ ตลอดระยะเวลา อาหารที่ใช้ทดสอบการกระตุ้นให้เนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ มีการเจริญและพัฒนาการตามความต้องการ คือ อาหารจากสูตรอาหารหลักของ Murashige and Skoog (1962) หรือ MS medium นำมาดัดแปลงโดยใช้ส่วนประกอบเสริมเป็นฮอร์โมนพืชในระดับต่างกัน 20 ระดับ ดังตารางที่ 1 ฮอร์โมนพืชที่ใช้ทดลองได้แก่ α -naphthalene acetic acid (NAA), indole acetic acid (IAA), 6-benzylaminopurine (BAP) และ N^6 -(2-Isopentenyl) adenine (2iP)

การเลี้ยงแคลลัสให้เป็นต้น

ในการกระตุ้นให้แคลลัสที่ได้จากเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสร้างต้นหรือตาหน่อ (shoot bud) ขึ้นนั้น ใช้อาหารที่มีระดับฮอร์โมนไซโตไคนินสูงขึ้น เช่น อาหาร M4-M9 และ M12-M16 ส่วนการกระตุ้นให้ shoot bud ที่ได้จากแคลลัสสร้างรากจนเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ โดยย้ายลงอาหารใหม่ที่มีอัตราฮอร์โมนลดลงหรือไม่ใส่ฮอร์โมนเลย การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะเขือเทศนี้ ได้ทำการทดลองอย่างน้อย 50 ซ้ำ ในแต่ละการทดลอง และสรุปผลจากการแสดงออกของลักษณะการตอบสนองอย่างน้อย 80% ของจำนวนซ้ำของแต่ละการทดลองนั้น

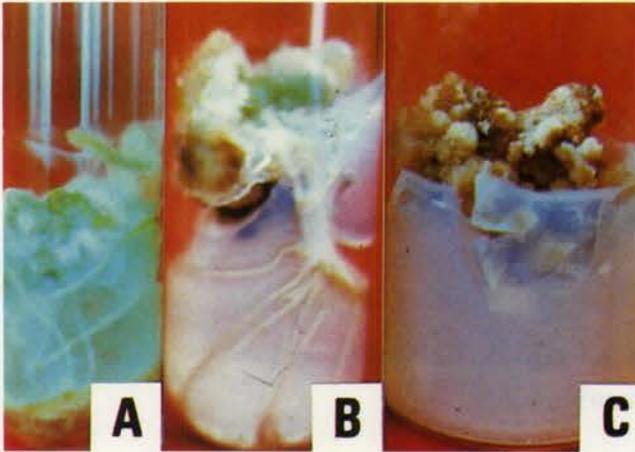
ผลการทดลองและวิจารณ์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดา และพันธุ์ P 502 ทั้งสองพันธุ์มีลักษณะการตอบสนองในสภาพเพาะเลี้ยงคล้ายคลึงกัน แต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากมะเขือเทศพันธุ์สีดาเกิดแคลลัสและสร้างลำต้นได้ดีกว่าพันธุ์ P 502 โดยมีจำนวนต้นที่เกิดในขวดเพาะเลี้ยงจำนวนมากกว่าขวดละประมาณ 5-6 ต้น จากที่แคลลัสของเนื้อเยื่อพันธุ์ P 502 ให้ต้นประมาณ 3-5 ต้นในขวดซึ่งมีความจุ 12 dram Zapata and Sink (1981) ได้เสนอว่ามะเขือเทศที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองหรือพันธุ์ป่ามักจะตอบสนองต่อการนำเนื้อเยื่อหรือเซลล์มาเพาะเลี้ยงได้ง่ายกว่า

สำหรับการตัดเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของลำต้นมะเขือเทศคือ ใบ กิ่งอ่อน epicotyl และ hypocotyl บนสูตรอาหารที่มีระดับฮอร์โมนต่าง ๆ กัน ปรากฏว่าสามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อ ใบ กิ่งอ่อน และ epicotyl ให้สร้างแคลลัส และเจริญเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้ดี เนื้อเยื่อจากใบสามารถแบ่งตัวเจริญกลายเป็นแคลลัสและต้นใหม่ได้ดีที่สุด และในเวลาทีเร็วกว่าเนื้อเยื่อจาก

ส่วนอื่น ๆ เนื้อเยื่อจากกิ่งอ่อน และ epicotyl ให้ผลตอบสนองรองลงมาตามลำดับ ส่วนเนื้อเยื่อจาก hypocotyl แม้จะสามารถกระตุ้นให้สร้างแคลลัสได้ มักจะเป็นแคลลัสที่มีลักษณะไม่แข็งแรงนัก สีของแคลลัสส่วนใหญ่เป็นสีน้ำตาล เนื่องจากเกิดการสะสมสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ซึ่งเป็นกระบวนการทางสรีรวิทยาโดยธรรมชาติของพืชเอง หากมีการสะสมของสารประกอบนี้เกิดมากกว่าและเร็วกว่าอัตราการเจริญของเนื้อเยื่อจะทำให้เนื้อเยื่อตายไปในที่สุด นอกจากนี้แคลลัสที่ได้จากเนื้อเยื่อบริเวณ hypocotyl มีอัตราการสร้างสูงกว่าปกติ อาจเป็นเพราะมีปริมาณของฮอร์โมนจำพวกออกซินสะสมมากอยู่แล้วโดยธรรมชาติ จึงไม่อาจกระตุ้นให้แคลลัสที่ได้สร้างต้นขึ้นได้ดีเท่าแคลลัสจากเนื้อเยื่อส่วนอื่น ๆ สำหรับอายุของต้นมะเขือเทศที่เหมาะสมต่อการตัดเนื้อเยื่อมาเพาะเลี้ยงควรมีอายุประมาณ 4-6 สัปดาห์หลังจาก หากใช้ต้นมะเขือเทศที่มีอายุมากขึ้น ความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาการเป็นแคลลัสและต้นใหม่จะลดน้อยลงตามลำดับ เนื่องจากต้นแก่มีเนื้อเยื่อกำลังเจริญน้อยกว่า และมีอัตราการสะสมสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า นอกจากนี้ โอกาสที่จะเกิดเชื้อปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงก็สูงกว่ามาก การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อแล้วใช้เนื้อเยื่อจากต้นที่เจริญในขวดทดลองที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยง ให้ผลไม่แตกต่างจากต้นที่ปลูกในเรือนทดลอง แต่วิธีการนี้อาจเหมาะสมและสะดวกในบางกรณีที่ไม่มีพื้นที่สำหรับเพาะปลูกต้นภายนอกห้องปฏิบัติการ หรือไม่มีผู้ดูแลในการรดน้ำ ให้อุณหภูมิ รวมทั้งตัดปัญหาในการควบคุมโรคและแมลงอย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาปริมาณเนื้อเยื่อที่ต้องการต่อต้นรวมทั้งความแข็งแรงของเนื้อเยื่ออาจน้อยกว่าต้นมะเขือเทศที่ปลูกในกระถาง การจะพิจารณาใช้วิธีใดเพื่อเป็นแหล่งของต้นที่จะใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงขึ้นอยู่กับสภาพความเหมาะสมของห้องปฏิบัติการ

การตอบสนองของเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ในอาหารที่มีฮอร์โมนต่างระดับกันอย่างน้อย 16 สูตรนั้น มีรายละเอียดปลีกย่อยแตกต่างกันเล็กน้อย แต่โดยทั่วไปแล้วอาหารที่มีอัตราส่วนของออกซินสูงกว่าไซโตไคนินมาก มักจะกระตุ้นให้เกิดแคลลัสที่มีสีค่อนข้างขาว และเกิดรากขึ้นเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 1A, 1B) ส่วนอาหารที่มีระดับไซโตไคนินสูงเกินไป มักจะได้แคลลัสที่เป็นปุ่มก้อนแข็งสีเขียวจัด และกลายเป็นสีน้ำตาลถึงดำภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์หลังเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 1C) อาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม คือ อาหารที่มีระดับฮอร์โมนไม่สูงนัก และอัตราส่วนของไซโตไคนินและออกซินค่อนข้างใกล้เคียงกัน สามารถ



ภาพที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มีระดับฮอร์โมนไม่เหมาะสม แคลลัสที่มีรากเกิดขึ้นจำนวนมาก เนื่องจากมีระดับของออกซินสูง (A, B) และลักษณะแคลลัสเป็นปุ่มแข็งสีเขียวจัดในระยะแรก แล้วกลายเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีระดับไซโตไคนินสูงเกินไป (C)



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเจริญพัฒนาการจากเนื้อเยื่อเป็นต้นใหม่ ในภาพจากซ้าย A : Callus formation, B : Shooting, C : Rooting of shoot และ D : ต้นใหม่หลังจากการย้ายปลูกลงกระถางในสภาพแวดล้อมภายนอก

กระตุ้นให้เนื้อเยื่อดังกล่าวสร้างแคลลัสได้ดี

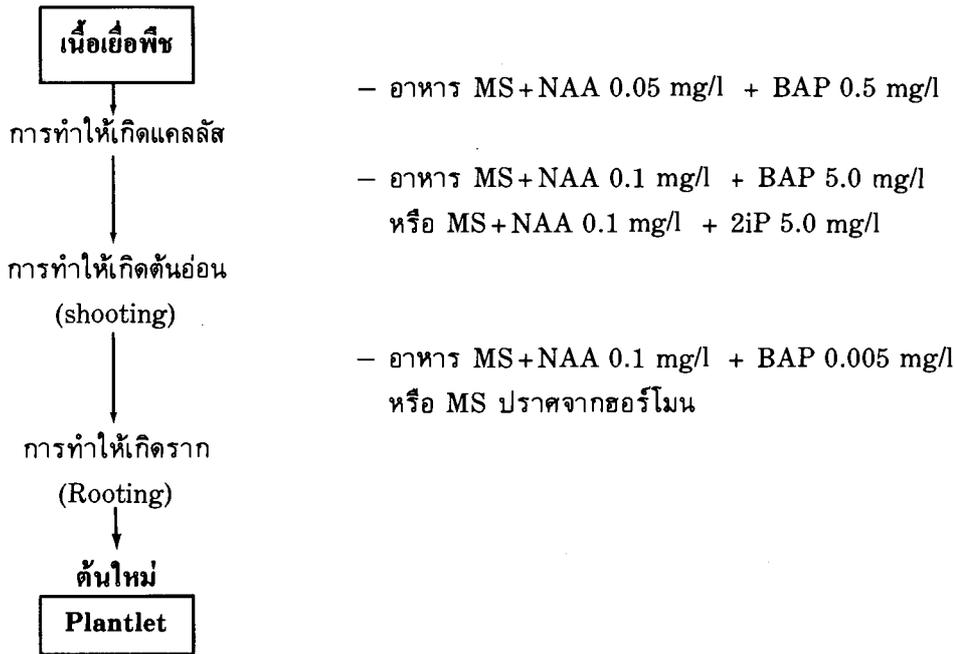
อาหารที่อาจใช้เป็นสูตรมาตรฐานสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะเขือเทศสำหรับการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส (ภาพที่ 2A)

คือ อาหาร MS ที่มีระดับฮอร์โมน NAA 0.05 mg/l และ BAP 0.5 mg/l ส่วนการกระตุ้นให้แคลลัสที่ได้สร้าง shoot bud อาหารที่ใช้เป็นอาหารที่มีระดับไซโตไคนินค่อนข้างสูงกว่า ออกซิน ฮอร์โมนระดับที่กระตุ้นให้แคลลัสสร้าง shoot bud (ภาพที่ 2B) ได้ดี คือ ระดับที่มี NAA 0.1 mg/l และ BAP 5.0 mg/l หรือ NAA 0.1 mg/l และ 2iP 5.0 mg/l ซึ่งสำหรับสูตรหลังหรือสูตรที่ใช้ไซโตไคนินในรูปของ 2iP มักจะให้ผลในการกระตุ้นการเกิดต้นอ่อนรวมทั้งการสร้างรากได้ดีกว่า (ภาพที่ 2C, 2D) ในกรณีที่ต้นอ่อนมีรากน้อยหรือไม่เกิดรากสามารถกระตุ้นให้เกิดรากขึ้นในจำนวนที่พอเพียงต่อการนำไปย้ายปลูกในสภาพแวดล้อมนอกห้องทดลองได้โดยย้ายลงในอาหาร MS ที่มีฮอร์โมนเสริมระดับต่ำมาก คือ การที่มี NAA 0.001 mg/l และ BAP 0.0005 mg/l หรืออาหาร MS ที่ไม่ใส่ฮอร์โมนเลย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพลักษณะของต้นอ่อนที่ได้

พื้นฐานของ Murashige and Skoog (1962) หรือ MS medium นี้ เมื่อตัดแปลงโดยเปลี่ยนระดับฮอร์โมนในอัตราต่าง ๆ กัน สามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของต้นมะเขือเทศสร้างแคลลัสและต้นใหม่ได้ตามความคาดหมาย ในส่วนการกระตุ้นให้เกิดต้นใหม่นั้น ฮอร์โมน 2iP สามารถใช้ได้ผลดีที่สุด แต่ฮอร์โมนชนิดนี้มีราคาค่อนข้างแพง จึงควรใช้ฮอร์โมน BAP สำหรับการกระตุ้นให้สร้างลำต้น ซึ่งมีจำนวนต้นที่ได้จากการกระตุ้นมากพอควรสำหรับการย้ายเพาะปลูก การทดลองนี้เป็นวิธีการหรือเทคโนโลยีในการขยายพันธุ์มะเขือเทศโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้เมื่อมีการเตรียมการในห้องปฏิบัติการและแหล่งของเนื้อเยื่ออย่างดีแล้ว กระบวนการเพาะเลี้ยงเริ่มจากการกระตุ้นให้เนื้อเยื่อสร้างแคลลัสจนเป็นต้นใหม่จำนวนมาก จะใช้เวลาประมาณ 6 สัปดาห์

สรุปผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบ กิ่งอ่อน epicotyl และ hypocotyl ของมะเขือเทศพันธุ์สีดา และพันธุ์ P 502 สามารถนำผลการทดลองนี้มาสรุปเป็นเทคโนโลยีสำเร็จรูป (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แผนผังการกระตุ้นเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของลำต้นมะเขือเทศเจริญและพัฒนาการเป็นต้นใหม่ ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงจนครบขั้นตอนประมาณ 8 สัปดาห์

คำนิยาม

ผู้ดำเนินการวิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยสาขาวิชาการประจำปี พ.ศ. 2529 ทำให้การวิจัยดำเนินไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

พรทิพย์ ธนทอง. 2528. วิธีเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อพืช. โครงการการผลิตสิ่งตีพิมพ์ทางเกษตร. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 114 หน้า.

- Bigot, G., Ohki, S. and Mousseau, J. 1977. Elements experimentaux pour une strategie d'amélioration des capacités au bourgeonnement in vitro. Acta Hort 78 : 125-131.
- Frankenberger, E.A., Hasegaea, P.M. and Tigehelaar, E.C. 1981. Influence of environment and developmental state on the shoot forming capacity of tomato genotypes. Z. Pflanzenphysiol. 102 : 221-232.
- Holling, M. 1965. Disease control through virus-free stock. Ann Rev. Phytopath. 3 : 367-396.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15 : 463-497.
- Zapata, F.J. and Sink, K.C. 1981. Somatic embryogenesis from *Lycopersicon peruvianum* leaf mesophyll protoplasts. Theor. Appl. Genet. 59 : 265-268.

Somatic Tissue Culture of the Tomato Plant

By

Porntip Thanutong, Boonreun Pienggan, and Suthatip Reukworachai

Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture,
Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.

ABSTRACT

The commercial tomato cultivars Sida and P502 were used as sources of explants for somatic tissue culture studies. Explant tissues from leaf, stem, epicotyl and hypocotyl were selected in the tests of regeneration of plants. Responses of both tomato cultivars in tissue culture conditions were similar. Leaf tissue was the best for the stimulation of production of desirable calluses, followed by tissue from the stem, epicotyl and hypocotyl, respectively. The medium most generally suitable for inducing callus formation for all explant tissues was the MS medium supplemented with NAA 0.05 mg/l and BAP 0.5 mg/l. The calluses were transferred to MS medium containing NAA 0.5 mg/l and BAP 5.0 mg/l or NAA 0.1 mg/l and 2iP 5.0 mg/l to induce shoot proliferation. Shoot buds were formed on both media but fewer roots were formed in BAP supplemented medium. Stimulation of root development was subsequently obtained by transferring the plantlets to MS medium supplemented with NAA 0.001 mg/l and BAP 0.0005 mg/l; alternatively, hormone free MS medium was able to be used, depending upon the plantlet appearance. The time required for the whole regeneration process using tissue explants from leaf, stem and epicotyl, was between 6 and 12 weeks. However, regeneration of the plant using hypocotyl tissue, was more difficult. In most cases, the tissue from hypocotyl produced calluses that were firm and brown in color with many roots; however very few shoot buds developed, and these only after a long period of time.
