

ผลของ NAA และ BA ต่อการพัฒนาของชิ้นส่วนแวมยुरา ที่เพาะเลี้ยงต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of NAA and BA on Development of Different Type of *Torenia fournieri* Explants Under Aseptic Conditions

นนทกร พรธนะวัฒน์, ธัญญา เตชະศีลพิทักษ์* และทัตไฉน จารุวัฒนพันธ์

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ณัฐพงศ์ จันจุฬา

ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

เทคโนโลยีท่าบ่อคลองหลวง อำเภอกองหลวง จังหวัดปทุมธานี 10220

นุชรฐิ์ บาลลา

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอกองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Nontakorn Porntanawat, Thunya Taychasinpitak* and Tassanai Jaruwattanaphan

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok Campus,

Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900

Nattapong Chanchula

Expert Center of Innovative Agriculture (InnoAg), Thailand Institute of Science and Technological Research,

Technopolis, Khlong Ha, Khlong Luang, Pathum Thani 10220

Nutcharat Balla

Faculty of Agriculture, Valaya Alongkorn Rajabhat University under Royal Patronage,

Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 13180

Received: May 29, 2019; Accepted: June 17, 2019

บทคัดย่อ

แวมยुरาได้รับความสนใจมากในต่างประเทศ เนื่องจากสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมได้หลากหลาย และออกดอกได้ตลอดทั้งปี จึงนิยมนำมาปลูกเป็นไม้กระถางและไม้ประดับแปลง ปัจจุบันมีการศึกษาและพัฒนาแวมยुरาเพื่อให้ได้ลักษณะหรือสีใหม่ ๆ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่สามารถเพิ่มจำนวนต้นพืชได้ในปริมาณมาก แต่ใช้ระยะเวลาสั้น และยังสามารถควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อโรคและแมลงศัตรูพืชด้วย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการชักนำต้นใหม่ของแวมยुरาจากชิ้นส่วนที่ต่างกัน ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานของพืชชนิดนี้ โดยมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง คือ สารควบคุมการ

เจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซินและกลุ่มไซโทไคนิน โดยเฉพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบเลี้ยง ใบ และปล้องบนอาหารสูตรดัดแปลง ($\frac{1}{2}$ MS) ที่มีการเติม NAA 5 ระดับความเข้มข้น และเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 5 ระดับความเข้มข้น เพื่อศึกษาการตอบสนองของแต่ละชิ้นส่วนในการเกิดยอด ราก และขนาดของแคลลัส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มี NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ใบเลี้ยง ใบ และปล้อง มีแคลลัสขนาดใหญ่ที่สุด คือ 0.80, 0.92 และ 0.83 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 15.83, 14.50 และ 14.75 ราก ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มี NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าใบเลี้ยง ใบ และปล้องมีแคลลัสขนาดใหญ่ที่สุด คือ 0.63, 0.66 และ 0.69 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 9.26, 9.41 และ 8.31 ยอด ตามลำดับ

คำสำคัญ : ใบเลี้ยง; ใบ; ปล้อง; การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Abstract

Torenia is an ornamental plant that has received great interest in foreign countries because it can grow in many environments and bloom all year round, so it is favored to use as a garden plant and potted plant. At present, there is a study to develop new characters or new colors of *Torenia*. Tissue culture is a propagation method that can increase more plants in a short time and still protect the plants from insects and plant diseases. The aim of this study is to gain more background data about micropropagating of this plant using the plant growth regulators BA and NAA. Cotyledon, leaf and internode explants were cultured on $\frac{1}{2}$ MS medium supplemented with NAA at concentrations ranging from 0.5-2.0 mg/L and $\frac{1}{2}$ MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA and 0.5-2.0 mg/L BA. The number of calluses, shoots and roots were recorded after cultured for four weeks. The result showed that the explants of cotyledon, leaf and internode cultured on $\frac{1}{2}$ MS medium supplemented with 2.0 mg/L NAA had the highest number of roots (15.83, 14.50 and 14.75 roots, respectively) and the biggest size of calluses (0.80, 0.92 and 0.83 cm, respectively). In addition, the explants of cotyledon, leaf and internode cultured on $\frac{1}{2}$ MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA and 2.0 mg/L BA had the highest number of shoots (9.26, 9.41 and 8.31, respectively) and the biggest size of calluses (0.63, 0.66 and 0.69 cm, respectively).

Keywords: cotyledon; leaf; internode; tissue culture

1. คำนำ

แวมยुरา (*Torenia fournieri*) เป็นพืชในวงศ์ Linderniaceae เป็นไม้ล้มลุกฤดูเดียว ดอกมีหลายสี ได้แก่ สีม่วง สีขาว สีชมพู เป็นต้น (Fischer, 2004) สามารถเติบโตได้ทุกพื้นที่ แต่ชอบขึ้นในที่ที่มีร่มเงา

(กรณ, 2559) ทนความร้อน แต่ไม่ทนสภาวะแห้งแล้ง (พรรณเพ็ญ, 2544) นิยมปลูกตัดต้นไม้ใหญ่ หรือปลูกเป็นไม้กระถาง จัดสวนในบ้าน และพื้นที่ภูมิสถาปัตย์ โดยเฉพาะต่างประเทศ (Department of health, 2008) ทั้งยังสามารถนำมาปลูกในแปลง

หรือตัดดอกมาปักในแจกันเล็ก ๆ ได้อีกด้วย ข้อดีของการเลือกใช้แววมยุรา คือ สามารถออกดอกได้ตลอดทั้งปี (ธัญญะ, 2545) นอกจากนี้แววมยุรายังถูกใช้เป็นพืชทดลองเพื่อศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์ (kikuchi, 2005) การศึกษาด้านการปรับปรุงพันธุ์ด้วยการฉายรังสี และการชักนำให้เกิดเตตราพลอยด์ (tetraploid) เพื่อให้เกิดลักษณะใหม่ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของกลีบดอกและสีดอก (จิราภรณ์, 2550; ธัญญะ, 2559)

การขยายพันธุ์แววมยุราทำได้ง่ายและหลายวิธี วิธีที่สะดวกที่สุด คือ การปักชำ เพราะสามารถทำได้โดยไม่ต้องมีเครื่องมืออื่นเข้ามาช่วย และยังได้ต้นใหม่ในระยะเวลาที่รวดเร็ว นอกจากการปักชำกิ่งแล้ว แววมยุรายังสามารถปักชำจากใบ เนื่องจากแววมยุราเป็นพืชที่มีตาพิเศษ (adventitious bud) ตาพิเศษ คือ ตาที่มีเฉพาะในพืชบางชนิดเท่านั้น โดยจะพบได้บริเวณก้านใบ ใบ และราก เป็นต้น ซึ่งพบตาพิเศษนี้ได้ในแววมยุรา บีโกเนีย แอฟริกันไวโอเลต มันทศประดับ เป็นต้น ตาพิเศษนี้โดยมากจะเกิดจากการเจริญเติบโตและพัฒนาของเซลล์เพียงเซลล์เดียว หรือเซลล์จำนวนน้อย โดยเซลล์ดังกล่าวจะกระตุ้น (active) ตัวเองเพื่อให้สามารถเจริญและพัฒนา จนแบ่งเซลล์และเกิดกระบวนการพัฒนาไปเป็นอวัยวะ (organogenesis) เมื่อผ่านกระบวนการดังกล่าวแล้ว เซลล์ก็จะกลายเป็นพืชต้นใหม่

การที่ตาพิเศษมีการเจริญเติบโตและพัฒนา มาจากเซลล์เพียงเซลล์เดียวหรือเซลล์จำนวนน้อย ทำให้เมื่อมีการปรับปรุงพันธุ์ด้วยการฉายรังสี จะทำให้มีโอกาสสูงขึ้นที่จะได้พืชซึ่งเกิดการกลายเรียกว่า solid mutant การขยายพันธุ์ที่สำคัญอีกวิธี คือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถเพิ่มจำนวนต้นพืชในปริมาณมาก แต่ใช้เวลาน้อย รวมทั้งสามารถป้องกันการเข้า

ทำลายของแมลงและโรคพืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ การนำเอาอวัยวะต่าง ๆ ของพืชมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ (Pierik, 1988) ที่มีการปฏิบัติภายใต้สภาพที่ควบคุมความสะอาดแบบปลอดเชื้อ รวมทั้งมีการควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 1 องศาเซลเซียส และควบคุมการให้แสง ส่วนมากจะอยู่ที่ 16 ชั่วโมงต่อวัน (ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช หรือความต้องการของผู้เพาะเลี้ยง) โดยการที่อวัยวะของพืชจะเจริญเป็นต้นใหม่นั้นประกอบไปด้วยหลายปัจจัย เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่มีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตและพัฒนา ได้แก่ การเกิดยอด ราก และแคลลัส โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในแต่ละกลุ่มจะส่งเสริมการเจริญเติบโตที่ต่างกัน และชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ (บุญยืน, 2547) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ และอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในกลุ่มออกซิน (1-naphthaleneacetic acid) และไซโทไคนิน (6-benzyl aminopurine) ต่อการตอบสนองของชิ้นส่วนพืชที่ต่างกัน และเก็บบันทึกเป็นข้อมูลพื้นฐานของพืชชนิดนี้

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 พืชทดลอง

ใช้เมล็ดแววมยุราพันธุ์ deep blue ฟลอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโร็กซ์ (Clorox®, 1.4 % sodium hypochlorite) 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที จากนั้นทำความสะอาดด้วยน้ำที่ผ่านการกรองฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที และนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige และ Skoog ความเข้มข้นครึ่งเท่า ในสภาพปลอดเชื้อ

2.2 การเพาะเลี้ยงและการวางแผนทดลอง

เมื่อต้นกล้าแวมยูรามีอายุได้ 14 วัน ตัดแยกชิ้นส่วนดังนี้ ใบเลี้ยง ใบ และปล้อง (ไม่ตัดส่วนของข้อมาใช้) โดยแต่ละชิ้นส่วนมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 1 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แต่ละชิ้นส่วนมี 3 ซ้ำ 1 ซ้ำมี 4 ชิ้น โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโทไคนิน คือ 6-benzylamino purine (BA) ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และกลุ่มออกซิน คือ 1-naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในห้องปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส ให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (fluorescence lamp) 16 ชั่วโมง/วัน บันทึกจำนวนยอด ราก และขนาดของแคลลัส โดยวัดเป็นเส้นผ่าศูนย์กลาง เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรม R version 3.3.1 (R Core Team, 2014) ข้อมูลที่บันทึก ได้แก่ (1) ขนาดของแคลลัส โดยวัดจากเส้นผ่าศูนย์กลาง (2) จำนวนราก นับทุกรากที่ปรากฏ และ (3) จำนวนยอดนับทุกยอดที่ปรากฏ

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

การทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของแวมยูราบนอาหารที่มี NAA 5 ระดับความเข้มข้น (0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าชิ้นส่วนใบเลี้ยง ใบ และปล้องที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มี NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแคลลัสขนาดใหญ่ที่สุด คือ 0.80, 0.92 และ 0.83 เซนติเมตร และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 15.83, 14.50 และ 14.75 รากตามลำดับ ทุกชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มี NAA ทุกระดับความเข้มข้น พบการเกิดยอดหรือจุดกำเนิดยอดน้อยมาก และในบางชิ้นส่วนก็ไม่พบการเกิดยอด ในสัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยงทุก

ชิ้นส่วนไม่พบการเปลี่ยนแปลง หรือการเกิดยอดราก และแคลลัส พบเพียงการบวม น้ำนํ้า และการบิดงอของเซลล์ เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 2 เริ่มพบการพัฒนาของแคลลัส ราก และขนราก แต่ยอดและจุดกำเนิดยอดจะพบได้มากในชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่ไม่มีการเติม NAA เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 3 และ 4 แต่ละชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตและขยายขนาดเพิ่มขึ้น โดยแคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้น รากและขนรากมีความยาวและจำนวนเพิ่มขึ้น ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่ไม่มี NAA พบว่ามีการพัฒนาของยอด ซึ่งสามารถมองเห็นได้ชัดเจนในช่วงปลายสัปดาห์ที่ 3 เมื่อพิจารณาถึงผลของ NAA พบว่า NAA มีผลต่อการเกิดราก และการพัฒนาไปเป็นรากและขนราก โดยการพัฒนาเป็นรากและขนรากจะมากขึ้นเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ NAA ส่วนการเกิดยอดจะพบมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่ไม่มีการเติม NAA และพบการเกิดยอดน้อยลงเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของ NAA ในอาหารเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 1) เนื่องจาก NAA เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน ซึ่งเป็นกลุ่มที่ส่งเสริมการเกิดรากของพืช มีอิทธิพลต่อการยึดตัวของเซลล์และการขยายขนาดของผนังเซลล์ (cell wall) ส่งเสริมการเจริญเติบโตของราก ใบ และการเกิดรากแขนง (สมพร, 2546) ในธรรมชาติพืชมีการควบคุมอัตราส่วนของออกซินและไซโทไคนินให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของส่วนต่าง ๆ (Moore, 1979) ดังนั้นการเติม NAA ในอาหารจะทำให้ปริมาณออกซินในเนื้อเยื่อพืชสูงกว่าปริมาณไซโทไคนิน พืชจึงแสดงออกโดยการเกิดรากและยับยั้งการเกิดยอด (Takeuchi *et al.*, 1984) ส่วนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ไม่มี NAA แต่สามารถเกิดแคลลัสและรากได้ เป็นเพราะอาหารที่ใช้มีส่วนประกอบพื้นฐาน ได้แก่ ธาตุอาหาร ซึ่งเป็นการเสริมการเกษตร, 2546) น้ำตาล และวิตามิน (วรา

ภรณ์, 2557) ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของพืช

ทำให้ชิ้นส่วนของพืชเจริญเป็นแคลลัส ละครากได้

ตารางที่ 1 ขนาดของแคลลัสและจำนวนรากเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบเลี้ยง ใบ และปล้องของแววมยุราบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติม NAA 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 4 สัปดาห์

NAA	BA	ใบเลี้ยง		ใบ		ปล้อง	
		ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร)	จำนวน ยอด	ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร)	จำนวน ยอด	ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร)	จำนวน ยอด
0.0	0.42 ^b	2.83 ^d	0.42 ^c	3.83 ^c	0.42 ^d	4.41 ^c	0.0
0.5	0.69 ^a	7.41 ^c	0.60 ^b	8.41 ^b	0.61 ^c	8.83 ^b	0.5
1.0	0.73 ^a	13.25 ^b	0.91 ^a	10.83 ^b	0.61 ^c	10.25 ^b	1.0
1.5	0.73 ^a	15.50 ^a	0.91 ^a	14.50 ^a	0.71 ^b	13.67 ^a	1.5
2.0	0.80 ^a	15.83 ^a	0.92 ^a	14.50 ^a	0.83 ^a	14.75 ^a	2.0
F-test		**	**	**	**	**	**
C.V. (%)		11.07	11.02	7.88	17.47	11.21	13.05

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test; ** = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนแววมยุราบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ 5 ระดับความเข้มข้น (0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าชิ้นส่วนใบเลี้ยง ใบ และปล้องที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มี NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พัฒนาไปเป็นแคลลัสที่มีขนาดใหญ่ที่สุด คือ 0.63, 0.66 และ 0.69 เซนติเมตร และมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 9.26, 9.41 และ 8.31 ยอด ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับค่าดังกล่าวเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่ไม่มีการเติม NAA ร่วมกับ BA (ตารางที่ 2) โดยมีขนาดแคลลัส 0.41, 0.41 และ 0.43 เซนติเมตร และมีจำนวนยอดเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 2.06, 1.61 และ 2.86 ยอด ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ Kanchanapoom (2009) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงใบของแววมยุราใน

สภาพปลอดเชื้อ โดยรายงานพบว่าพบจำนวนยอดสูงที่สุด 50 ยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มี NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยยอดจะเกิดได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA ความเข้มข้นต่ำร่วมกับ BA และความเข้มข้นของ BA ในอาหารส่งผลให้จำนวนยอดเพิ่มขึ้นเนื่องจาก BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มของไซโทไคนิน ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีบทบาทสำคัญ คือ ควบคุมการแบ่งเซลล์ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น ถ้าให้อัตราส่วนไซโทไคนินมากกว่าออกซินจะทำให้เนื้อเยื่อเจริญเป็นตา ใบ และลำต้น แต่ถ้าสัดส่วนของออกซินมากกว่าไซโทไคนินจะทำให้เนื้อเยื่อเจริญเป็นราก (นภดล, 2541) และเมื่อใช้ NAA เพียงอย่างเดียวจะพบการเกิดยอดน้อยหรือไม่เกิดยอดเลย เช่นเดียวกับ Shizufumi และ Hiroshi (1982) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงแววมยุราในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าตา

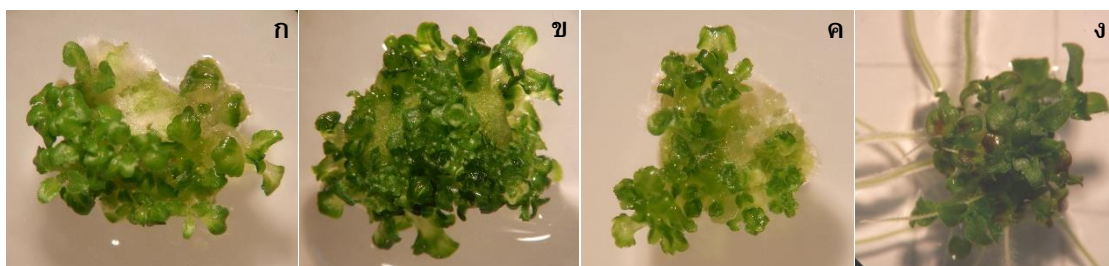
พิเศษและส่วนของเนื้อเยื่อเจริญจะไม่เกิดหรือเกิดได้น้อยมาก หากเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA แต่ตาพิเศษและเนื้อเยื่อเจริญจะพบมากขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี BA และแร่ธาตุ แต่ไม่สอดคล้องกับ กรณ์ (2559) ที่พบว่าการเพาะเลี้ยงใบที่โตเต็มที่แล้วของต้นแววมยุราบนอาหารที่มี BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ไม่มี NAA และ BA แต่ชิ้นส่วนของพืชสามารถเกิดแคลลัสและยอด นอกจากเป็นเพราะอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีธาตุอาหาร น้ำตาล และวิตามินแล้ว ยังเป็นผลมาจากฮอร์โมนที่พืชสังเคราะห์ขึ้นเองตามธรรมชาติ (ชวนพิศ, 2542) แม้ในอาหารไม่มีการใส่ฮอร์โมนหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช แต่ในชิ้นส่วนพืชเองมีฮอร์โมนที่พืชผลิตขึ้นตามธรรมชาติ ซึ่งเพียงพอต่อการกระตุ้นและชักนำให้เกิดการพัฒนาไปเป็นยอดและแคลลัส ทั้งนี้การเจริญเติบโตและพัฒนาของพืชยังถูกควบคุมด้วยปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่ง คือ ปัจจัยทางพันธุกรรม (สมบุญ, 2544)

การตอบสนองของแต่ละชิ้นส่วนทดลองต่อการเกิดแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชนาน 4 สัปดาห์ พบว่าทุกชิ้นส่วนมีการตอบสนอง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยในสัปดาห์แรกไม่พบการเกิดกลุ่มก้อนแคลลัส พบเพียงอาการบวม ฉ่ำน้ำ และการบิดงอของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง จากนั้นเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 2 เริ่มพบการเกิดกลุ่มก้อนแคลลัส ลักษณะสีเขียวอ่อน เกาะกลุ่มกันแน่น กระจายตามบริเวณต่าง ๆ ของชิ้นส่วน โดยใบเลี้ยงและใบพบกลุ่มก้อนแคลลัสบริเวณผิวใบและขอบใบ แต่ชิ้นส่วนปล้องพบกลุ่มก้อนแคลลัสบริเวณรอยตัดด้านบนและด้านล่างของปล้อง ในสัปดาห์ที่ 2 นี้ เริ่มพบการเกิดรากหรือยอดในบางชิ้นส่วน โดยพบยอดและจุดกำเนิดยอดมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มี NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากในสูตรอาหารมีอัตราส่วนของ BA มากกว่า NAA ทำให้พืชถูกกระตุ้นและส่งเสริมให้พัฒนาไปเป็นยอดมากกว่าราก สัปดาห์ที่ 3-4 เป็นช่วงที่แคลลัสมีการเจริญเติบโต พัฒนา และขยายขนาดเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับยอดที่มีการเจริญและพัฒนาของใบ

ตารางที่ 2 ขนาดของแคลลัสและจำนวนยอดเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบเลี้ยง ใบ และปล้องของแววมยุราบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรและ BA 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 4 สัปดาห์

NAA	BA	ใบเลี้ยง		ใบ		ปล้อง	
		ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร)	จำนวน ยอด	ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร)	จำนวน ยอด	ขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร)	จำนวน ยอด
0.0	0.0	0.41 ^c	2.06 ^b	0.41 ^c	1.61 ^c	0.43 ^c	2.86 ^d
0.5	0.5	0.50 ^b	7.93 ^a	0.49 ^{bc}	5.00 ^b	0.44 ^c	3.41 ^{cd}
0.5	1.0	0.56 ^{ab}	8.20 ^a	0.52 ^{bc}	7.66 ^a	0.49 ^{bc}	5.01 ^{bc}
0.5	1.5	0.56 ^{ab}	9.01 ^a	0.53 ^b	7.73 ^a	0.57 ^b	6.35 ^{ab}
0.5	2.0	0.63 ^a	9.26 ^a	0.66 ^a	9.41 ^a	0.69 ^a	8.31 ^a
F-test		**	**	**	**	**	**
C.V. (%)		8.99	10.27	10.81	21.90	7.36	20.97

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test; ** = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 1 ชิ้นส่วนของใบเลี้ยง ใบจริง และปล้องบนสูตรอาหารสูตรต่าง ๆ ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ก) ใบเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) ใบจริงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ปล้องบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ (ง) ปล้องบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่ไม่มีการเติม BA และ NAA

5. สรุป

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบเลี้ยง ใบ และปล้องของแววมยุราบนอาหารที่มี NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการพัฒนาของรากมากที่สุด และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการพัฒนาของยอดเฉลี่ยสูงที่สุด

6. รายการอ้างอิง

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล, 2559, การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอและยอดจากการเพาะเลี้ยงใบโตเต็มที่ของแววมยุรา, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 24(6): 942-951.

กรมส่งเสริมการเกษตร, 2546, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับงานขยายพันธุ์พืช, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

จิราภรณ์ จิราภาพันธุ์, 2550, ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อการกลายพันธุ์ของ

แววมยุรา, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชวนพิศ แดงสวัสดิ์, 2542, สรีรวิทยาพืช, สำนักพิมพ์พัฒนาการศึกษา กรุงเทพฯ.

ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, 2545, เขียนเรื่องดอกไม้ไว้อ่านเล่น 3 : จากฟลาแลนออกซีสตีสแตติส, บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ

ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, เมอมาลย์ วงศ์ชาวจันทร์, อภิญา สาตรา และณัฐพงศ์ จันจุฬา, 2559, การชักนำให้เกิดเตตราพลอยด์ในแววมยุรา ลูกผสมและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา, Thai J. Sci. Technol. 5(1): 56-66.

นภดล จรัสสัมฤทธิ์, 2541, ฮอร์โมนและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช, สำนักพิมพ์รั้วเขียว กรุงเทพฯ.

บุญยืน กิจวิจารณ์, 2547, เทคโนโลยีเบื้องต้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, ภาควิชาชีววิทยา

- คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น,
ขอนแก่น.
- พรรณเพ็ญ ฉายปรีชา, 2544, พรรณไม้เพื่อการ
ตกแต่ง, บ้านและสวน, กรุงเทพฯ.
- วรารณ ภูตะลูน, 2557, เทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเนื้อ
เยื่อพืชสมุนไพร, บริษัท ขอนแก่นพิมพ์พัฒนา
จำกัด, ขอนแก่น.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2544, สรีรวิทยาพืช,
สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.
- สมพร ณ นคร, 2546, สารควบคุมการเจริญเติบโต
ของพืช, แผนกเอกสารการพิมพ์ วิทยาเขต
นครศรีธรรมราช สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล,
นครศรีธรรมราช.
- Australian Government Department of Health,
2008, The Biology of *Torenia* spp.
(*Torenia*), Department of Health and
Ageing, Office of the Gene Technology
Regulator, Australia.
- Fischer, E., 2004, The Families and Genera of
Vascular Plants, Volume VII, Kadereit, J.W.
(Ed.), Springer-Verlag, New York.
- Kanchanapoom, K., 2009, Micropropagation
through adventitious shoot regeneration
from leaf culture of *Torenia fournieri* Lind.,
Songklanakarin J. Sci. Technol. 31(6): 587-
590.
- Kikuchi, S., Kishii, M., Shimizu, M. and
Tsujiimoto, H., 2005, Centromere-specific
repetitive sequences from *Torenia*, a model
plant for interspecific fertilization and
whole-mount FISH of its interspecific hybrid
embryos, Cytogen. Genome Res. 109:
228-235.
- Moore, T.C., 1979, Biochemistry and Physiology
of Plant Hormones, Springer-Verlag, New
York, 274 p.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A revised
medium for rapid growth and bioassays
with tobacco tissue cultures, Physiol. Plant
15: 473-497.
- Pierik, R.L.M, Steegmans, H.H.M, Elias, A.A.,
Stiekema, O.T.J. and van der Velde, A.J.,
1988, Vegetative propagation of *Syringa
vulgaris* L. *in vitro*, Acta Hort. 226: 195-201.
- Tanimoto, S. and Harada, H., 1982, Studies on
the initial of adventitious bud differentiation
in *Torenia* stem segments culture *in vitro*,
Biochemie und Physiologie der Pflanzen
1982(177): 222-228.
- Takeuchi, N., Tanimoto, S. and Harada, H.,
1984, Effects of wounding on adventitious
bud formation in *Torenia* stem segments
cultured *in vitro*, J. Exp. Bot. 36: 841-847.