การชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นลินเดอร์เนียในสภาพปลอดเชื้อ

In vitro Callus Induction from Various Explants of *Lindernia Crustacea* (L.) F.Muell.

กาพย์แก้ว แก้วนาบอน, ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์* และทัศไนย จารุวัฒนพันธ์

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ณัฐพงค์ จันจุฬา

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

นุชรัฐ บาลลา

ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เทคโนธานี ตำบลคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 10220

Kapkaew Kaewnabon, Thunya Taychasinpitak* and Tassanai Jaruwattanaphan

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

Nattapong Chanchula

Faculty of Agriculture, Valaya Alongkorn Rajabhat University under Royal Patronage, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 13180

Nutcharat Balla

Expert Center of Innovative Agriculture (InnoAg), Thailand institute of Science and Technological Research, Technopolis, Khlong Ha, Khlong Luang, Pathum Thani 10220

Received: September 21, 2018; Accepted: November 1, 2018

บทคัดย่อ

ลินเดอร์เนียเป็นไม้ดอกที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมและทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี อีกทั้งยังสามารถออกดอกได้ตลอดทั้งปี เหมาะสมต่อการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ให้เป็นไม้ดอกกระถางและไม้ดอกประดับแปลง ซึ่งการผลิตพืชในสภาพปลอดเชื้อ BA และ NAA มีบทบาทในการชักนำให้เกิดยอดหรือต้นได้ในปริมาณที่มากและรวดเร็ว การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของชิ้นส่วนตั้งต้นและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเกิดยอด แคลลัส และราก โดยเปรียบเทียบขนาดของแคลลัสและจำนวนยอดเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช 3 ชิ้นส่วน ในอาหารสูตร BA ที่ความเข้มข้น 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าใบเลี้ยง ใบ และปล้องที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด

**Corresponding author: agrtyt@ku.ac.th*

คือ 17.91, 19.41 และ 18.67 ต่อชิ้นส่วนตามลำดับ และจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชทั้ง 3 ชิ้นส่วน ในอาหารสูตร BA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนใบเลี้ยงที่เลี้ยงบนอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนใบที่เลี้ยงบนอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และชิ้นส่วนปล้องที่เลี้ยงบนอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 18.08, 16.91 และ 10.50 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ

คำสำคัญ : ใบ; ใบเลี้ยง; ปล้อง; การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Abstract

Lindernia is a flowering plant with high genetic diversity. This plant can survive in almost any environment and flowers all year round, making it to be suitable for improving as an ornamental plant for the future. In plant regeneration, BA and NAA are useful for shoot and internode inductions. The aim of this research was to study the regeneration potential of Lindernia explants (cotyledon, leaf, and internode) on ½ MS media with BA at concentrations ranging from 0.5-2.0 mg/L) in *in vitro* culture. Callus sizes and shoots were recorded for 4 weeks. The results showed that the explants cultured in BA 2 mg/L had the highest shoot induction rate (17.91, 19.1 and 18.67 shoots/explant, respectively). Three parts of the plant were cultured in BA medium at 1.0 mg/L with NAA at concentrations in a range of 0.5-2.0 mg/L. It was found that cotyledons were cultured on 1.0 mg/L BA and 1.5 mg/L NAA. Leaf pieces were cultured on 1.0 mg/L BA with NAA 0.5 mg/L. And the segments were cultured on 1.0 mg/L BA with NAA 0.5 mg/L. The average numbers of shoots were 18.08, 16.91 and 10.50 per shoot, respectively.

Keywords: leaf; cotyledon; internode; tissue culture

1. คำนำ

ลินเดอร์เนียหรือหญ้ากาบหอยตัวเมีย [*Lindernia crustacean* (L.) F.Muell.] จัดอยู่ในวงศ์ Linderniaceae (APG III, 2009) มีถิ่นกำเนิดทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบกระจายพันธุ์ในประเทศญี่ปุ่น ไมโครนีเซีย จีน และคาบมหาสมุทรเกาหลี ทั่วโลกพบประมาณ 100 ชนิด จากการสำรวจในประเทศไทยพบพืชสกุล *Lindernia* จำนวน 32 ชนิด (Smitinand and Larsen, 2000) และมีการสำรวจพบอีก 1 ชนิด คือ *L. hyssopioides* (L.) Haines เป็นการพบครั้งแรกในประเทศไทย (Sutthisaksopon, 2014) โดยลินเดอเนียนิยมใช้เป็นไม้ดอกกระถาง ชนิดที่เป็นการค้า คือ *L. grandiflora* Nutt. แต่ยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลาย และมีการพัฒนาพันธุ์ของพืชในสกุลนี้ไม่มากนัก ลักษณะที่ดีของลินเดอร์เนียในการพัฒนาเป็นไม้ประดับ คือ สามารถเจริญเติบโตได้ในหลายสภาพตามธรรมชาติ โดยเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ดินทราย สามารถทนความเค็มและทนแล้งได้ดี สามารถออกดอกได้อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน (Shinha, 1987) ลินเดอเนียมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายแววมยุราแต่มีขนาดเล็กกว่า เป็นไม้ล้มลุกสูงประมาณ 5-20 เซนติเมตร แผ่เลื้อย

ไปตามพื้นดิน ใบเป็นใบเดี่ยว รูปไข่ กว้าง 4-15 มิลลิเมตร ยาว 6-19 มิลลิเมตร ปลายใบมนหรือแหลม ขอบใบหยักซี่ฟันเลื่อยหรือเรียบ (Smitinand and Larsen, 2000)

การเพาะเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของพืชในอาหารสังเคราะห์ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ ชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชนั้น เช่น ก้านใบ แผ่นใบ ปลายราก ยอด ลำต้น สามารถเจริญเติบโตขึ้นเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้เมื่อให้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่เหมาะสม (ภูวดล, 2559) โดยขึ้นอยู่กับปริมาตรและชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต และชนิดของพืชนั้น ๆ สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ สารกลุ่มออกซิน (auxin) มีสมบัติส่งเสริมการขยายขนาดของเซลล์ การเกิดราก ยับยั้งการเกิดตาข้าง ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น ออกซินสามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้ และกลุ่มของไซโตไคนิน (cytokinin) จะกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการสร้างอวัยวะ ส่งเสริมการพัฒนาของตาและยอด (บุญยืน, 2547) โดย Skoog และ Miller (1957) รายงานว่าอัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนินเป็นส่วนส่งเสริมการเกิดลักษณะต่าง ๆ และกำหนดรูปร่างของพืชจากของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง ทั้งนี้ความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนินมีความแตกต่างกันไปตามแต่สกุลและชนิดของพืช เพื่อกระตุ้นให้เกิดการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อ กรณ์ (2559) เพาะเลี้ยงใบที่โตเต็มที่แล้วของแววมยุรา (*Torenia fournieri* Lindl.) บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ BAP ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าเกิดแคลลัส ยอด ราก และโซมาติกเอ็มบริโอบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ โดย BAP 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด และที่สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BAP 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอมากที่สุด และในสูตรอาหารที่เติม NAA เพียงชนิดเดียวจะเกิดรากและแคลลัส

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมชิ้นส่วนพืช

นำเมล็ดลินเดอร์เนียที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 เดือน เพื่อลดการพักตัวของเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อคซ์ (Clorox®, 1.4 % sodium hypochlorite) 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที จากนั้นทำความสะอาดด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที วางเมล็ดลงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มีกระดาษกรอง (Whatman™) ขนาด 11 µm วางอยู่บนอาหาร

2.2 การเพาะเลี้ยงและการวางแผนการทดลอง

เมื่อต้นกล้าลินเดอร์เนียงอกจากเมล็ดมีอายุ 4 สัปดาห์ ตัดแยกชิ้นส่วนต่าง ๆ เป็น 3 ส่วน คือ ใบเลี้ยง ใบจริง และปล้อง โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD (complete randomized design) โดยมีชิ้นส่วนทดลอง 3 ชิ้น คือ ใบเลี้ยง ใบจริง และปล้อง แบ่งเป็นชิ้นละสามซ้ำ ใน 1 ซ้ำ มี 4 ชิ้นพืช แต่ละชิ้นส่วนมีขนาดความกว้าง 0.5 เซนติเมตร โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS ตามวิธีของ Sungkaew และคณะ (2015) และ Jabir และคณะ (2016) ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตดังนี้

2.2.1 เติม BA เพียงชนิดเดียว ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันคือ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

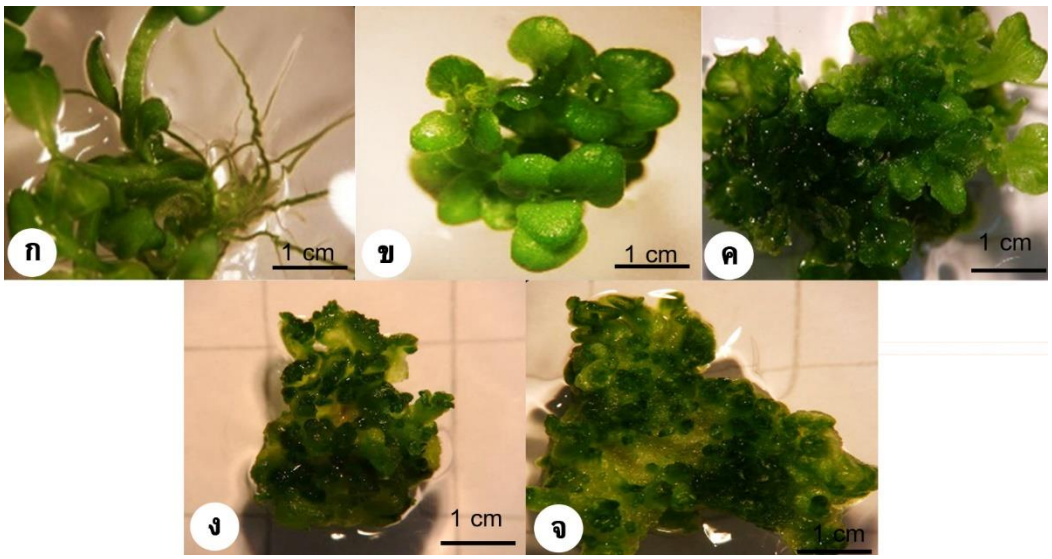
2.2.2 สูตรอาหารที่เติม BA ปริมาตร 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA ปริมาตร 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

นำชิ้นส่วนวางในห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส และให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (fluorescence lamp) โดยเครื่องตั้งเวลาอัตโนมัติ (timer) 16 ชั่วโมง/วัน ความเข้มแสง 33.78 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที

บันทึกจำนวนยอด จำนวนราก และขนาดของแคลลัส ในสัปดาห์ที่ 4 โดยเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรม R version 3.3.1 (R Core Team, 2014)

3. ผลและวิจารณ์

การทดลองพบว่าชิ้นส่วนพืชทั้ง 3 ชิ้นส่วน เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ไม่มีการเติม BA ในทุกชิ้นส่วนมีการเกิดราก (รูปที่ 1) แตกต่างกับสูตรอาหารอื่น ๆ ที่มีการเติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งไม่พบการเกิดราก เนื่องจาก BA เป็นสารในกลุ่มของไซโตไคนินที่มีสมบัติในการพัฒนาของตาและยอด หากได้รับในปริมาณที่เหมาะสมจะกระตุ้นการเจริญเติบโตเป็นยอด (Skoog และ Miller, 1965) ในสูตรอาหารที่มีการเติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าเมื่อปริมาณของ BA เพิ่มสูงขึ้น อัตราการเกิดจำนวนยอดและการขยายขนาดของแคลลัสเพิ่มขึ้นตามลำดับ (ตารางที่ 1) โดยใบจริงที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุดในทุกชิ้นส่วน มีจำนวนยอดเฉลี่ย 19.41 ยอดต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 1) แตกต่างกับสูตรอาหารอื่น ๆ ทางสถิติ และใบเลี้ยงมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุดที่ขนาด 1.40 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติกับความเข้มข้นอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ แคลลัสที่พบมีลักษณะรูปร่างไม่แน่นอน มีสีเขียวใสถึงเขียวเข้มฉ่ำน้ำ (รูปที่ 1) พบยอดเกิดบริเวณผิวของแคลลัสลักษณะเป็นตุ่มสีเขียวเข้ม มีใบใส 2 ใบต่อยอด (รูปที่ 1) พูนพิภพ (2549) รายงานว่า BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของไซโตไคนินที่มีผลต่อกรพัฒนาและสรีระวิทยาของพืช โดยกระตุ้นให้มีการสร้างยอดแขนง (adventitious shoot) จำนวนมากจากชิ้นส่วนตาข้างของพืช และไซโตไคนินสามารถชักนำการแบ่งเซลล์และชักนำการสร้างอวัยวะได้ (Pierik *et al*., 1972)



รูปที่ 1 การพัฒนาของเนื้อเยื่อลินเดอร์เนียในชิ้นส่วนพืช 3 ชนิดที่อายุ 4 สัปดาห์ (ก) ต้นลินเดอเนียที่ชักนำจากใบจริงบนอาหารสูตร ½ MS (ข) ต้นลินเดอเนียที่ชักนำจากใบเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS (ค) ชิ้นส่วนใบจริงเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ชิ้นส่วนใบเลี้ยงที่เลี้ยงบนอาหารสูตร BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ (จ) ชิ้นส่วนของปล้องที่เลี้ยงบนอาหารสูตร BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 1 การพัฒนาของชิ้นส่วนใบเลี้ยง ใบจริง และปล้องที่ได้รับ BA ปริมาตร 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และการใช้ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อายุ 4 สัปดาห์

ความเข้มข้น (mg/l)	ใบเลี้ยง		ใบจริง		ปล้อง	
	ขนาดแคลลัส (cm)	จำนวนยอด	ขนาดแคลลัส (cm)	จำนวนยอด	ขนาดแคลลัส (cm)	จำนวนยอด
BA 0.0	0.00^{e}	1.75^{c}	0.00^{e}	2.08^{d}	0.00^{e}	0.91^{e}
BA 0.5	1.09^{cd}	13.58^{a}	0.97^{d}	10.67^{c}	0.93^{d}	10.50^{bc}
BA 1.0	1.05^{d}	14.00^{a}	1.18^{abc}	12.75^{bc}	1.05^{cd}	10.91^{bc}
BA 1.5	1.10^{bcd}	13.83^{a}	1.06^{cd}	15.41^{abc}	1.07^{cd}	12.75^{b}
BA 2.0	1.40^{a}	17.91^{a}	1.20^{ab}	19.41^{a}	1.20^{abc}	18.67^{a}
BA 1.0 + NAA 0.5	1.19^{abcd}	10.83^{ab}	1.15^{bc}	16.91^{ab}	1.21^{abc}	10.50^{bc}
BA 1.0 + NAA 1.0	1.19^{abcd}	15.08^{a}	1.23^{ab}	13.16^{bc}	1.30^{bcd}	10.08^{c}
BA 1.0 + NAA 1.5	1.34^{ab}	18.08^{a}	1.30^{a}	13.58^{bc}	1.30^{a}	7.25^{d}
BA 1.0 + NAA 2.0	1.35^{abc}	3.00^{bc}	1.30^{a}	2.75^{d}	1.35^{ab}	2.17^{e}
F-test	**	**	**	**	**	**
C.V. (%)	12.33	37.16	7.81	23.33	10.89	15.16

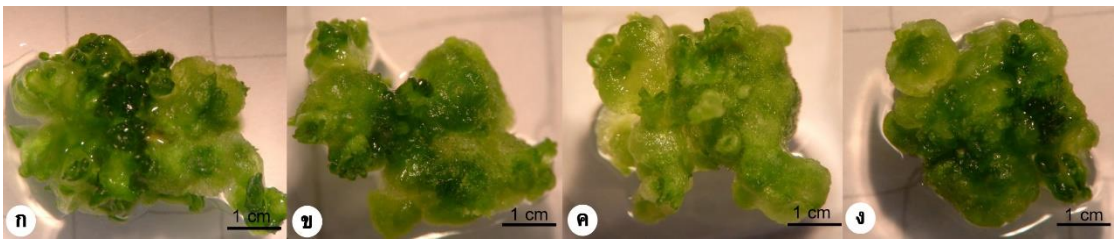
ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test; ** = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 1 ผลของการใช้ BA ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำการเกิดยอดและแคลลัสของชิ้นส่วนลินเดอเนียทั้ง 3 ชิ้นส่วน พบว่า NAA มีผลต่อการเกิดยอดและแคลลัสอย่างเห็นได้ชัด เมื่อปริมาณของ NAA เพิ่มขึ้น จำนวนยอดจะลดลงตามลำดับ โดยเฉพาะ NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลให้จำนวนยอดเฉลี่ยลดลงเหลือน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ NAA ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลของจำนวนยอดเฉลี่ยในใบเลี้ยงพบว่าสูตรอาหารที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 18.08 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน คือ 10.83 และ 15.08 ยอดต่อชิ้นส่วน การเจริญเติบโตของแคลลัส พบว่าสูตรอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดของแคลลัสใหญ่ที่สุดเฉลี่ย 1.35 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสูตรอาหารอื่น ๆ ชิ้นส่วนใบจริงเมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุดเฉลี่ย 16.91 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งไม่แตกต่างกับสูตร 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 13.16 และ 13.58 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ การเจริญเติบโตของแคลลัสพบว่าสูตรอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดของแคลลัสใหญ่ที่สุดเฉลี่ย 1.30

เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสูตรอาหารอื่น ๆ และชิ้นส่วนของลำต้นพบว่าสูตรอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุดเฉลี่ย 10.50 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งไม่แตกต่างกับสูตร 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร การเจริญเติบโตของแคลลัสพบว่าในสูตรอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดของแคลลัสใหญ่ที่สุดเฉลี่ย 1.35 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสูตรอาหารอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Khalil และคณะ (2015) ที่ชักนำยอดจากชิ้นส่วนใบเลี้ยงของทานตะวัน พบว่าที่สูตรอาหาร MS ที่เติม BA 1 และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด แต่ไม่สอดคล้องกับ กรณ์ (2559) ที่พบว่าไม่สามารถชักนำยอดจากชิ้นส่วนใบของแววมยุราในอาหารสูตร MS ที่ BAP 1.0 ร่วมกับ NAA 0.5 และ BAP 1.0 ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเนื้อเยื่อเจริญมีโอกาสในการชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่า เพราะเซลล์สามารถแบ่งตัวและพัฒนาต่อไปได้ แต่การใช้เนื้อเยื่อที่เซลล์หยุดการแบ่งตัวหรือเปลี่ยนไปทำหน้าที่เฉพาะแล้วมาเพาะเลี้ยง เซลล์บริเวณนั้นสามารถกลับไปเป็น meristematic cell ใหม่อีกครั้ง ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ (บุญยืน, 2547)

การตอบสนองของแคลลัสในสูตรอาหารที่มีการเติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าทุกสูตรอาหารในทุกชิ้นส่วนนั้นที่อายุ 4 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การตอบสนองแคลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน แคลลัสมีลักษณะเกาะกันแน่น มีสีเขียวอ่อนออกเหลือง บางชิ้นมีสีเขียวเข้ม (รูปที่ 2) พบยอดเจริญเติบโตบริเวณผิวของแคลลัสลักษณะเป็นตุ่มสีเขียวเข้ม (รูปที่ 2) โดย อรัญญา (2534) รายงานว่าแคลลัสบริเวณที่มีจุดสีเขียว (green spot) และปมสีเขียว (green nodule) จะสามารถเจริญเป็นต้นใหม่ได้ และรากจะเจริญมาจากเซลล์ชั้นในของแคลลัส



รูปที่ 2 การพัฒนาของเนื้อเยื่อลินเดอร์เนียในชิ้นส่วนพืช 3 ชนิด ที่อายุ 4 สัปดาห์ (ก) แคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนของใบจริงในสูตรอาหาร BA 1.0 + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) แคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนของปล้องในสูตรอาหาร BA 1.0 + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) แคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนของใบจริงในสูตรอาหาร BA 1.0 + NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ (ง) แคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนของใบเลี้ยงในสูตรอาหาร BA 1.0 + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

5. สรุป

ชิ้นส่วนใบจริง ใบเลี้ยง และปล้องที่ได้จากต้นกล้าของลินเดอร์เนียสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตช่วยส่งเสริมให้มีการขยายขนาดและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ให้มีการแบ่งตัวมากขึ้น สูตรอาหาร BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อการ

ชักนำให้ชิ้นส่วนใบเลี้ยง ใบจริง และปล้อง พัฒนาเป็นยอดและแคลลัสได้ดีที่สุดในลินเดอเนีย

6. รายการอ้างอิง

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

บุญยืน กิจวิจารณ์, 2547, เทคโนโลยีเบื้องต้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

บัณฑิตา เพ็ญสุริยะ, ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์ และพัฒนา สุขประเสริฐ, 2559, การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์จากเนื้อเยื่อลินเดอเนียด้วยสารละลายโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ, ว.วิทยาศาสตร์เกษตร 48(1): 23-35.

พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2549, ชีววิทยา 2, บริษัทด่านสุทธาการพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

ภูวดล บุตรรัตน์, 2529, พฤกษศาสตร์ทั่วไป ตอนลักษณะภายนอกของพืชดอก, ภาควิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, ปัตตานี.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2544, สรีรวิทยาของพืช, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อรัญญา ตันติปัญจพร, 2534, กายวิภาคและสัณฐานวิทยาของข้าว (*Oryza sativa* L.) จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ว.ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 1(3): 201-204.

APG III., 2009, An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III, Bot. J. Linn. Soc. 161: 105-121.

Geetha, N., Venkatachalam, P., Prakash, V. and Lakshmisita G., 1998, High frequency induction of multiple shoots and plant regeneration from seedling explants of pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). Curr. Sci. 17: 1036-1041.

Khalil, S.R.M., Hussein, B.A., Ebtissam, H.A.H. and Tawfik, M.S., 2015, Silver nitrate is essential for successful regeneration of Egyptian sunflower (*Helianthus annus* L.) cv. Giza 102, Int. J. Adv. Res. 3: 506-512.

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.

Shinha, A.R.P., 1987, Colchiploidy in *Lindernia crustacea* (L.) F. Muell, Cytologia 52: 151-155.

Skoog, F. and Miller, C.O., 1957, Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue grown *in vitro*, Symp. Soc. Exp. Biol. 11: 118.

Smitinand, T. and Larsen, K.K., 2000, Flora of Thailand, Vol. 9 Part 2, The Forest Herbarium, Royal Forest Department, Bangkok.

Sungkaew, K., Taychasinpitak, T., Wongchaochant, S., Sukprasert, P. and Kikuchi, S., 2015, Radiosensitivity of *In vitro* cultured *Torenia fournieri* Lind. from

Thailand by gamma-ray irradiation, Int. Trans. J. Eng. Manag. Appl. Sci. Technol. 6: 191-201.

Sutthisaksopon, P., Chantaranothai, P. and Simson, D.A., 2014, Two new records in the Linderniaceae for Thailand, Thai For. Bull. (Bot.) 42: 10-15.

Thanh, M.N.T., Aye, A.T., Pham, A.T., Soo, C.C. and Sang, U.P., 2012, Shoot organogenesis and plant regeneration from leaf culture of *Rehmannia elata* L. Life, Sci. J. 9: 882-885.