การขยายพันธุ์ส้มโอโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นายประสิทธิ์ ศรีจำนงค์

001594

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

แผนกวิชาพฤกษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2521

I16433257

Clonal Propagation of *Citrus grandis* (L.) Osbeck by Tissue Culture

Mr. Prasit Srijumnong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Botany

Graduate School

Chulalongkorn University

1978

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การขยายพันธุ์ส้มโอโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
โดย	นายประสิทธิ์ ศรีจำนงค์
แผนกวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรดี สหวัชรินทร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.วิศิษฐ์ ประจวบเหมาะ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์อาภรณ์รัตน์ รัตนทารส)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประดิษฐา อินทรโชติ)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรดี สหวัชรินทร์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เรณู ถาวโรฤทธิ์)

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การขยายพันธุ์ส้มโอโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชื่อนิสิต นายประสิทธิ์ ศรีจำนงค์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรดี สหวัชรินทร์

แผนกวิชา พฤกษศาสตร์

ปีการศึกษา 2520

บทคัดย่อ

ตายอดและตาข้างของส้มโอที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร Murashige and Skoog ดัดแปลงโดยเติมน้ำมะพร้าวและน้ำตาล (MMS) จะเกิดเป็นหน่อ มีใบขนาดเล็ก หน่อสามารถเจริญเติบโตได้โดยการดูดซึมอาหารโดยไม่ต้องมีราก ซึ่งจะเจริญเติบโตมีใบขนาดปกติ การชักนำให้เกิดรากโดยเติม IBA ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 ถึง 15 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ยังไม่ประสบผลสำเร็จ

อวัยวะส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้าส้มโอ เช่น ตายอด, epicotyl, hypocotyl, ใบ, ใบเลี้ยง, ราก เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MS ดัดแปลงโดยเติม kinetin 0.25 มก./ล., NAA 2.5 มก./ล., 2,4-D 0.25 มก./ล. (MMSI) ปรากฏว่า ใบเลี้ยงจะเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด จึงนำเอาใบเลี้ยงที่ปราศจากเชื้อราและแบคทีเรียมาเพาะเลี้ยง ปรากฏว่าใบเลี้ยงจะสร้างแคลลัสภายใน 7-10 วัน แคลลัสเกิดได้ดีจากใบเลี้ยงบริเวณที่ติดกับ epicotyl มากกว่าบริเวณที่อยู่ห่างออกไป แคลลัสมีสีเขียวซีดประกอบด้วยเซลล์ที่เกาะกันแน่น เมื่อนำมาทดลองเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MS + 500 มก./ล. malt extract โดยเติม NAA 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 มก./ล. หรือเติม benzyl adenine (BA) 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 มก./ล. หรือส่วนผสมของ NAA และ BA ตามความเข้มข้นดังกล่าว ปรากฏว่าแคลลัสจะเจริญไปเป็นหน่อและรากในอาหารที่มีส่วนผสมของ NAA 0.10 มก./ล. + BA 0.40 มก./ล. ซึ่งสามารถนำไปปลูกในดินได้เป็นผลสำเร็จ

แคลลัสจากใบเลี้ยงของส้มโอประกอบด้วยเซล parenchyma เป็นส่วนมาก มีเซลบางกลุ่มเปลี่ยนแปลงเป็น vascular tissue และมีหน่อและรากเกิดขึ้นจากเนื้อเยื่อส่วนในของแคลลัส

Thesis Title	Clonal Propagation of Citrus grandis (L.) Osbeck by Tissue Culture
Name	Mr. Prasit Srijumnong
Thesis Advisor	Assistant Professor Oradee Sahavacharin Ph.D.
Department	Botany
Academic Year	1977

ABSTRACT

Terminal and axillary buds from Citrus grandis (L.) Osbeck were excised and cultured aseptically in Murashige and Skoog media supplemented with coconut milk and sucrose (MMS). These buds developed into shoots with small leaves. These shoots were able to absorb nutrients without formation of roots, and produced leaves of normal size and shape. Experiments have been attempted without success to induce the formation of roots from these shoots by adding IBA concentrations ranging from 0 to 15 mg/l within the observation of 8 weeks period.

Organs of C. grandis seedlings such as terminal bud, epicotyl, hypocotyl, leaf, cotyledon and root were cultured in MS media supplemented with 0.25 mg/l kinetin, 2.5 mg/l NAA and 0.25 mg/l 2,4-D (MMSI). The results showed that cotyledon was the best organ to induce to form calli within 7-10 days. The compact calli were pale green and occured more on the cotyledon near the epicotyl site than the further part. When calli were subcultured into MS media + 500

mg/l malt extract with 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 mg/l NAA or 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 mg/l benzyl adenine (BA) or in combination of the above concentrations. The best combination for shoot and root formation was 0.10 mg/l NAA and 0.40 mg/l BA. These plants were successfully grown when transfered into soil.

Cotyledon callus composed of mostly parenchymatous cells and some were differentiated into vascular tissue. Shoot and root originated from inner part of the callus.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรดี สหวัชรินทร์ ผู้ควบคุมการวิจัย รองศาสตราจารย์อาภรณ์รัตน์ รัตนทารส รักษาการหัวหน้าแผนกวิชาพฤกษศาสตร์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประดิษฐา อินทรโฆสิต และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์เรณู ถาวโรฤทธิ์ ในการตรวจแก้ไขการเขียนวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ในการวิจัยครั้งนี้ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสภาวิจัยแห่งชาติได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ข

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ฆ

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญตารางประกอบ ..... ฉ

สารบัญภาพประกอบ ..... ช

บทที่

1. บทนำ 1
2. อุปกรณ์และวิธีทำการวิจัย 17
3. ผลการวิจัย 23
4. การอภิปรายผลการวิจัย 44
5. สรุปผลการวิจัย 54

เอกสารอ้างอิง 55

ภาคผนวก 64

ประวัติ 67

สารบัญตารางประกอบ

หน้า

ตารางที่

1. สภาพ embryo, ประโยชน์และแหล่งกำเนิดของส้มพันธุ์ต่าง ๆ..... 6
2. โรคที่พบทั่วไปในส้ม..... 10
3. การเกิด adventive embryogenesis จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของส้มพันธุ์ต่าง ๆ 13
4. combination ของ NAA และ BA ที่ใช้ทดลอง..... 21
5. การเจริญเติบโตของแคลลัสในเวลา 45 วัน..... 27
6. การเปรียบเทียบน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของแคลลัสอายุ 45 วัน.... 27
7. อิทธิพลของ NAA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของแคลลัส 28
8. อิทธิพลของ BA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงของแคลลัส... 30
9. อิทธิพลของ NAA และ BA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงของแคลลัส..... 32

สารบัญภาพประกอบ

หน้า

ภาพที่

1. หน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตาข้างของส้มโอ..... 24
2. แคลลัสจากใบเลี้ยงส้มโอในอาหารวุ้นที่มี NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน.. 29
3. แคลลัสจากใบเลี้ยงส้มโอในอาหารวุ้นที่มี BA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน... 31
4. แคลลัสจากใบเลี้ยงส้มโอในอาหารวุ้นที่มี NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 33
5. แคลลัสจากใบเลี้ยงส้มโอในอาหารวุ้นที่มี NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 34
6. แคลลัสจากใบเลี้ยงส้มโอในอาหารวุ้นที่มี NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 35
7. แคลลัสจากใบเลี้ยงส้มโอในอาหารวุ้นที่มี NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 36
8. ลักษณะภายในของแคลลัส..... 38
9. vascular tissue ของแคลลัส..... 39
10. เซลชนิดต่าง ๆ ใน vascular tissue..... 40
11. การเกิดหน่อจากแคลลัส..... 41
12. การเกิดรากจากแคลลัส..... 42