การชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดจากก้านช่อดอกอ่อนและก้านใบอ่อนของสบู่ดำพันธุ์โคราช

Callus and Shoot Induction from Young Peduncle and Petiole of Physic Nut (*Jatropha curcas* L.) cv. 'Korat'

อัญชิสา ปานแก้ว[1] นงลักษณ์ เทียนเสรี[2,3] และ สนธิชัย จันทร์เปรม[2,3]

Anchisa Pankaew[1], Nongluck Tienseree[2,3] and Sontichai Chanprame[2,3]

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาผลของชนิดของเนื้อเยื่อและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำพันธุ์โคราช โดยใช้ชิ้นส่วนก้านช่อดอกอ่อน และก้านใบอ่อน ทดสอบกับสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ที่มีต่อการชักนำแคลลัส และผลของ BA ที่มีผลต่อการชักให้เกิดการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ พบว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสคือ ก้านใบอ่อน และอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ เพียงอย่างเดียวความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากก้านใบอ่อน โดยแคลลัสที่ได้มีลักษณะเป็น compact callus ซึ่งมีแนวโน้มที่จะพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ดี และเมื่อย้ายแคลลัสนั้นมาเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ทุกสูตรอาหารสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และเกิดยอดได้ดีที่สุดบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้พัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ได้ดี

ABSTRACT

Types of tissue and plant growth regulators, TDZ and NAA, on callus induction and BA on plant regeneration from *in vitro* cultured of young peduncle and young petiole of physic nut cv. Korat was carried out. It was found that young petiole was more suitable for callus induction than the young peduncle. Solid MS medium supplemented with 0.4 mg/l TDZ was superior on compact callus induction from young petiole. When those compact calli were transferred on to solid MS medium supplemented with BA, all tested concentrtions of BA could induce shoots. However, the most suitable concentration of BA was 2 mg/l BA which the complete shoots were obtained.

Key Words: *Jatropha curcas* L., shoot induction, plant growth regulator, callus induction

e-mail address: noohin_kh@hotmail.com

[1]สาขาวิชาปรับปรุงพันธุ์พืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

[1]Program of Plant Breeding, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140

[2]ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

[2]Dept. of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140

[3]ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

[3]Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University and Center of Excellence on Agricultural Biotechnology (AG-BIO/PERDO-CHE)

คำนำ

สบู่ดำ (physic nut) เป็นพืชในวงศ์ Euphorbiaceae สามารถนำเมล็ดมาบีบน้ำมันเพื่อนำไปใช้ประโยชน์มากมาย อาทิเช่น ผลิตเครื่องสำอางค์ สบู่ และเทียนไข เป็นต้น (Duke, 1988) น้ำมันจากสบู่ดำสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันดีเซล และใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลหมุนช้าได้ (Openshaw, 2000) ในประเทศไทยมีการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสบู่ดำเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงเช่นกัน แต่ยังไม่มีการผลิตเป็นอุตสาหกรรม เนื่องจากสบู่ดำให้ผลผลิตต่ำกว่าปาล์มน้ำมัน (Burikam and Kavita, 2007) แต่ข้อได้เปรียบของสบู่ดำเมื่อเทียบกับพลังงานชีวภาพอื่น ๆ คือ สามารถเจริญเติบโตได้ดี ขยายพันธุ์ง่าย และวิธีการสกัดน้ำมันทำได้ง่าย และจากการที่น้ำมันสบู่ดำไม่สามารถนำมาบริโภคได้ จึงไม่มีการแข่งขันในการผลิตเป็นอาหารเช่นเดียวกับพืชชนิดอื่น (Soham *et al*., 2009) แม้สบู่ดำจะเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีและต้องการการบำรุงรักษาน้อยแต่ยังพบปัญหาในการปลูกสบู่ดำหลายประการ เนื่องจากสบู่ดำเป็นพืชผสมข้าม การขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดจะทำให้ได้สบู่ดำที่มีลักษณะไม่ตรงกับสายพันธุ์เดิม ส่วนการขยายพันธุ์โดยใช้ท่อนพันธุ์อาจมีโรคติดมากับท่อนพันธุ์ได้ โดย Heller (1996) รายงานว่าสบู่ดำสามารถเป็นพืชพาหะนำเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในมันสำปะหลังได้ และ Münch (1986) ได้รายงานว่าโรค superelongation ของมันสำปะหลัง ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphaceloma manihoticola* หรือ *Elsinoe brasiliensis* สามารถถ่ายทอดข้ามโดยมีสบู่ดำเป็นพาหะได้

ด้วยเหตุนี้จึงมีการใช้เทคโนโลยีชีวภาพด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้ได้ต้นสบู่ดำที่ตรงตามสายพันธุ์และปลอดโรค ต้นสบู่ดำที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นพืชเริ่มต้นในการปรับปรุงพันธุ์สบู่ดำให้มีลักษณะที่ดีขึ้นต่อไป แต่การนำเทคโนโลยีดังกล่าวมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ทั้งในด้านกายภาพ และชีวภาพ ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งสิ้น โดยเฉพาะสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่ง Thidiazuron (TDZ), 6-benzyladenine (BA) และ naphthalene-1-acetic acid (NAA) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำเช่นกัน โดย TDZ และ BA จัดอยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน เกี่ยวข้องกับการแบ่งและการยืดตัวของเซลล์ ส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงพัฒนาของตาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และ NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่อยู่ในกลุ่มออกซิน เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการยืดขยายตัวของเซลล์ เร่งการเติบโตของพืชทั้งในส่วนที่เป็นต้นและราก ทำให้เซลล์ขยายขนาดได้ง่ายและส่งเสริมการสังเคราะห์โปรตีนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต จากคุณสมบัติข้างต้น มีการใช้ประโยชน์จากสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ, BA และ NAA ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยใช้เติมในสูตรอาหารเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของแคลลัสและกระตุ้นให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดและต้น (Tongumpai, 1994)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำจากส่วนของก้านช่อดอกอ่อนและก้านใบอ่อน โดยทดสอบกับสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ, BA และ NAA เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงพันธุ์สบู่ดำด้วยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อนและก้านใบอ่อนสบู่ดำในสภาพปลอดเชื้อ

นำก้านช่อดอกอ่อนสบู่ดำพันธุ์โคราชที่มีความยาวประมาณ 2.0-2.5 เซนติเมตร และก้านใบอ่อนลำดับที่ 2-3 จากปลายยอด มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% และ 10% ที่เติม tween 20 ประมาณ 1-2 หยด เขย่าครั้งละ 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดก้านดอกอ่อนและก้านใบอ่อนเป็นท่อนขนาดยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต α-naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0 0.01 0.02 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 56 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ บันทึกลักษณะของแคลลัส น้ำหนักแคลลัส เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และเปอร์เซ็นการเกิด compact callus วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 8 ซ้ำ ๆ ละ 2 ชิ้น วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan's New Multiple Range Test (DMRT)

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ต่อการเพาะเลี้ยงก้านใบอ่อนสบู่ดำในสภาพปลอดเชื้อ

นำก้านใบอ่อนสบู่ดำที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวตัดเป็นท่อนขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 56 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ บันทึกลักษณะของแคลลัส น้ำหนักแคลลัส เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และเปอร์เซ็นต์การเกิด compact callus วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 8 ซ้ำ ๆ ละ 2 ชิ้น วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการพัฒนาของยอด

นำแคลลัสสบู่ดำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 56 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอดที่เกิดขึ้น วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 13 ซ้ำๆ ละ 1 ชิ้น วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อนและก้านใบอ่อนสบู่ดำในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก้านช่อดอกอ่อนของสบู่ดำบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เนื้อเยื่อมีการแบ่งเซลล์และขยายขนาดเกิดเป็นแคลลัสภายใน 1-2 สัปดาห์ โดยพบแคลลัสทั้งชนิด friable callus และ compact callus แต่แคลลัสที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่จะเป็น friable callus ที่มีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์เกาะกันแบบหลวม ๆ สีขาว ซึ่งจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในสัปดาห์ที่ 3 และตายในสัปดาห์ที่ 4 ทั้งนี้การพัฒนาของก้านช่อดอกอ่อนไปเป็น compact callus จะพบเฉพาะชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนร่วมกันทั้งสองชนิดเท่านั้น โดยสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิด compact callus จากส่วนของก้านช่อดอกอ่อนสบู่ดำคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ

NAA ความเข้มข้น 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีการเกิด compact callus 64.16 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแคลลัสเท่ากับ 4.865 กรัม (Table 1)

ส่วนการเพาะเลี้ยงก้านใบอ่อนสบู่ดำบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นมีทั้งชนิด friable callus และ compact callus เช่นเดียวกับส่วนของก้านช่อดอกอ่อน โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เป็น compact callus มีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์เกาะกันแน่น สีขาวปนเขียว โดย compact callus จะเกิดได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เพียงชนิดเดียวซึ่งได้แก่อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (Table 1) ทั้งนี้อาจเนื่องจากส่วนของก้านใบอ่อนมักมีระดับของฮอร์โมนออกซินที่ค่อนข้างสูง (Techapinyawat, 2001) ดังนั้นในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากส่วนของก้านใบอ่อนจึงอาจไม่ต้องการออกซินจากภายนอก อย่างไรก็ตามการชักนำให้เกิดแคลลัส การเจริญเติบโตของแคลลัส รวมทั้งลักษณะของแคลลัสยังขึ้นอยู่กับชนิดพืช ชนิดของเนื้อเยื่อ แสง และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชโดยเฉพาะออกซินและไซโตไคนิน ซึ่งนิยมนำมาใช้ชักนำให้เกิดแคลลัส (Afshari *et al*., 2011)

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ต่อการเพาะเลี้ยงก้านใบอ่อนสบู่ดำในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำส่วนของก้านใบอ่อนสบู่ดำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนก้านใบอ่อนสบู่ดำสามารถเจริญและพัฒนาไปเป็นแคลลัสได้ดีบนอาหารเพาะเลี้ยงที่เติม TDZ ทุกความเข้มข้น โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นเป็นแคลลัสชนิด compact callus และ friable callus (Table 2, Figure 1) การเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.4-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์แคลลัสชนิด compact callus ที่เกิดขึ้น พบว่า การเพาะเลี้ยงก้านใบอ่อนสบู่ดำบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสชนิด compact callus สูงที่สุด 84.38 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเทียบกับ TDZ ความเข้มข้นอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Burikam and Kavita (2007) ที่รายงานว่า การชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของสบู่ดำได้แก่ ส่วนของตายอด ตาข้าง ใบอ่อน ไฮโปคอทิล และ ก้านใบ จะสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.01-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแคลลัสที่ได้สามารถพัฒนาเป็นต้นจำนวนมากต่อไปได้ ทั้งนี้ Fellman *et al.* (1987) รายงานว่า TDZ เป็นสารประกอบประเภท phenyl urea สามารถช่วยกระตุ้นการเกิดเนื้อเยื่อเจริญเมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ และ Junyan *et al.* (1994) รายงานว่า TDZ สามารถชักนำให้เกิดการพัฒนาของแคลลัส ทำลายการพักตัวของตา และส่งเสริมการเกิด organogenesis ของ *Cayratia japonica* นอกจากนี้ยังมีรายงานการค้นพบในทำนองเดียวกันนี้ในพืชชนิดอื่น เช่น *Carica pentagona* (Zhou and Collet, 1989), *Malus domestica* (Wang *et al*., 1986; Van Nieuwkerk *et al*., 1986) และ *Rubus* sp. (Fiola *et al*., 1990)

Table 1 Effect of MS medium containing TDZ and NAA on callus induction from young peduncle and young petiole of physic nut cv. Korat

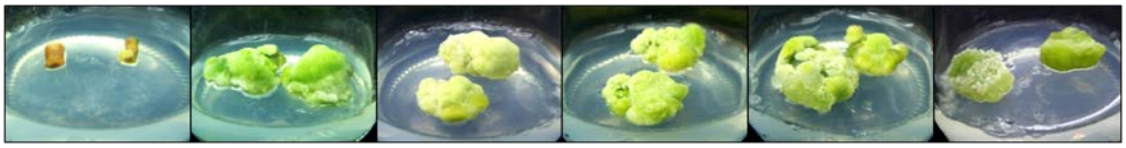
Plant growth regulators (mg/l)		Percentage of explants forming callus		Callus weight (g/explant)		Percentage of compact callus/explant	
TDZ	NAA	peduncle	petiole	peduncle	petiole	peduncle	petiole
0	0	25	87.5	0.09 c[1/]	0.09 e[2/]	0 c[3/]	39.17 e [4/]
0	0.01	25	100	0.03 c	0.15 e	0 c	75.83 abc
0	0.02	75	100	0.04 c	0.37 e	0 c	74.17 abc
0	0.03	75	100	0.04 c	0.37 e	0 c	67.81 bc
0.2	0	12.5	100	0.04 c	1.37 de	0 c	89.85 ab
0.2	0.01	100	100	3.09 b	3.83 c	51.65 ab	89.69 ab
0.2	0.02	100	100	4.97 a	5.60 b	43.80 ab	69.81 bc
0.2	0.03	100	100	4.78 a	5.50 b	35.13 b	79.88 abc
0.4	0	25	100	0.05 c	2.33 d	0 c	95.70 a
0.4	0.01	100	100	2.55 b	5.38 b	56.97 ab	67.88 bc
0.4	0.02	100	100	4.64 a	5.63 b	57.37 ab	94.04 cd
0.4	0.03	100	100	4.87 a	10.03 a	64.16 a	37.35 e
0.6	0	12.5	100	0.04 c	2.05 d	0 c	94.33 a
0.6	0.01	100	100	2.26 b	6.04 b	65.18 a	81.12 abc
0.6	0.02	100	100	2.96 b	5.02 bc	57.44 ab	90.00 ab
0.6	0.03	100	100	3.63 ab	8.93 a	53.29 ab	45.83 de
F-test				**	**	**	**

[1-4/]Average values followed by the same letters in the same column of each parameters are not significantly different ($p < 0.05$)

Table 2 Effect of MS medium containing TDZ on callus induction from young petiole of physic nut

Concentration of TDZ (mg/l)	Percentage of explants forming Callus	Callus weight (g/explant)	Percentage(s) of compact callus/explant
0	87.5	0.08 b[1/]	2.25 e[2/]
0.2	100	0.74 ab	52.50 c
0.4	100	1.16 a	84.38 a
0.6	100	0.89 a	64.38 b
0.8	100	1.44 a	49.38 c
1.0	100	1.25 a	37.50 d
F-test		**	**

[1/, 2/] Average values followed by the same letters in the same column are not significantly different ($p < 0.05$)



0 mg/l 0.2 mg/l 0.4 mg/l 0.6 mg/l 0.8 mg/l 1.0 mg/l

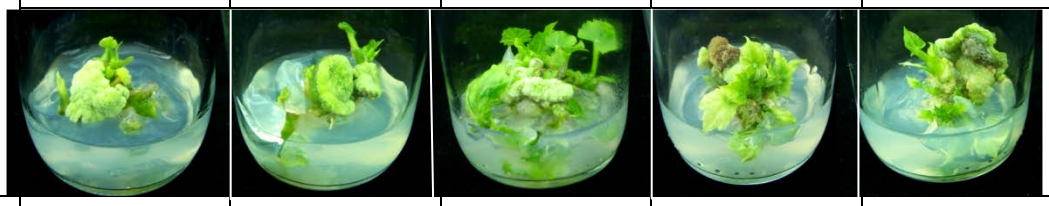
Concentration of TDZ

Figure 1 Callus formation from young petiole of physic nut cv. korat cultured on MS medium supplemented with 0-1.0 mg/l TDZ for 4 weeks

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบ BA ต่อการพัฒนาของยอด

จากการนำแคลลัสสบู่ดำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงก้านใบอ่อนบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 4 สัปดาห์ ซึ่งเป็นสูตรที่ให้แคลลัสชนิด compact callus สูงที่สุด มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตรที่เติม BA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ โดยยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีลักษณะเป็นยอดขนาดเล็ก ส่วนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร ยอดมีลักษณะสมบูรณ์และยืดยาวกว่า โดยการเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.62 ยอด (Table 3) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rajore and Batra (2005) ที่พบว่าการใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่มีการเติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากส่วนของปลายยอดสบู่ดำ และ Sujatha and Reddy (2000) พบว่าการใช้ BA สามารถชักนำให้แคลลัสจากชิ้นส่วนใบของ *Jatropha integerrima* เกิดยอดจำนวนมาก

Table 3 Shoot regeneration of physic nut cv. korat on MS medium supplemented with various concentrations of BA for 4 weeks

	Concentration of BA (mg/l)				
	0	1	2	3	4
					
Average no. of shoot/explants	4.0	5.54	6.62	5.25	4.42

F-test: non significant

สรุป

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำพันธุ์โคราชพบว่า สามารถชักนำแคลลัสได้จากก้านช่อดอกอ่อนและก้านใบอ่อน แต่ก้านใบอ่อนสบู่ดำเป็นชิ้นส่วนที่เหมาะสมกว่าสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสเหล่านี้สามารถทำได้โดยย้ายแคลลัสที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะสมบูรณ์ สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ดี

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก โครงการพัฒนาพันธุ์สบู่ดำ ซึ่งได้รับงบประมาณสนับสนุนจาก บริษัท โพรเทคเตอร์ นิวทริชั่น (ประเทศไทย) จำกัด และ โครงการปรับปรุงพันธุ์สบู่ดำเพื่อเร่งการปลูกเลี้ยงสบู่ดำพันธุ์ใหม่สำหรับเป็นพลังงานและอาหารสัตว์ NSTDA Chair Professor, สวทช.

เอกสารอ้างอิง

Afshari, R.T., R. Angoshtari and S. Kakantari. 2011. Effects of light and different plant growth regulators on induction of callus growth in rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes. **Plant Omics J.** 49: 60-67.

Burikam, S. and R. Kavita. 2007. *In vitro* culture of *Jatropha curcas*. p.130-135. *In* **Proc. the 1st Conf. of *Jatropha curcas*.** Kasetsart University. Bangkok. (In Thai)

Duke, J.A. 1988. **CRC Handbook of Medicinal Herbs.** CRC Press, Boca Raton, FL.

Fellman, C.D., P.E. Read and M.A. Hosier. 1987. Effects of thidiazuron and CPPU on meristem formation and shoot proliferation. **Hort. Sci.** 22: 1197-1200.

Fiola, J.A., A. Mahmoud, M.A. Hassan, H.J. Swartz, R.H. Bors and R. McNicols. 1990. Effects of thidiazuron, light fluence rate and kanamycin on *in vitro* shoot organogenesis from excised *Rubus* cotyledons and leaves. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 20: 223-228.

Heller, J. 1996. **Physic nut (*Jatropha curcas* L.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops 1.** IPGRI. 66p.

Junyan, Z., H. Ma, F. Guo and X. Lao. 1994. Effect of thidiazuron on somatic embryogenesis of *Cayratia japonica*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 36: 73-79.

Münch, E. 1986. **Die Purgiernuß (*Jatropha curcas* L.)** - Botanik, Ökologie, Anbau. Diploma thesis. University Hohenheim, Stuttgart.

Openshaw, K. 2000. A review of *Jatropha curcas*: and oil plant of unfilled promise. **Biomass and Bioener.** 19: 1-15.

Rajore, S and A. Batra. 2005. Efficient plant regeneration via shoot tip explant in *Jatropha curcas* L. **J. Plant Biochem. Biotechnol.** 14: 73-75.

Soham, T., G. Hipal, G. Mayank, G Nikhil, P. Prasad, G. Girish, K.K.Vamsia and M.P. Reddy. 2009. Establishment of *Agrobacterium*-mediated genetic transformation in *Jatropha curcas* L. **Agric. Sci.** 1: 11-20.

Sujatha, M. and T.P. Reddy. 2000. Morphogenic responses of *Jatropha integerrima* explants to cytokinins. **Biologia Bratislava.** 55: 99-104.

Techapinyawat, S. 2001. **Plant physiology.** Department of Botany. Faculty of Science. Kasetsart University publisher. Bangkok. 237p. (In Thai)

Tongumpai, K. 1994. **Plant hormones and synthetic guidelines for use in Thailand.** Wichai publisher, Bankok. 196p. (in Thai)

Van Nieuwkerk, J.P., R.H. Zimmerman and I. Fordham. 1986. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. **Hort. Sci.** 21: 516-518.

Wang, S.Y., J.L. Ji, T. Sun and M. Faust. 1986. Breaking bud dormancy in apple with a plant bioregulator thidiazuron. **Phytochemistry.** 25: 311-317.

Zhou, J.Y. and G. F. Collet. 1989. Studies on cytokinin-activity of thidiazuron I. Effect on callus induction and shoot growth in tissue culture of *Carica pontagona*. Acta Bot. Boreali-**Occidentalia Sin.** 9: 203-211.