



NAA, BAP และ GA ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.05 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ (Plantlet)(Germination medium) ผลการทดลอง พบว่า ชิ้นส่วนที่ได้จากใบของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสดีที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ ชิ้นส่วนที่ได้จากข้อ และราก ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ระหว่าง 72.5-100 เปอร์เซ็นต์ และ 5-15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนที่ได้จากยอดไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และเมื่อนำแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Maturation medium พบว่า แคลลัสของมันสำปะหลังพันธุ์ ระยอง 5, ระยอง 9 และ ห้วยบง 60 ที่ได้จากชิ้นส่วนของข้อสามารถชักนำให้เกิดเซลล์โชมาทิกได้ 20, 40 และ 20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนที่ได้จากใบและรากไม่สามารถชักนำให้เกิดเซลล์โชมาทิกได้

**คำสำคัญ :** ชิ้นส่วนพืช, เซลล์โชมาทิก, มันสำปะหลัง

### บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Studying the explant for the production of somatic cell with cassava promising line and recommended varieties are intended to identify a piece of cassava that are most suitable for the manufacture Somatic cell in *in vitro* condition. The study was conducted in October. 2555-September 2556 at the lab vitro cassava in Rayong Field Crops Research Center, Department of Agriculture. The treatment with the explants of shoot, leaves, node and root of Rayong 5, Rayong 9, Rayong 11 and Huay Bong 60. The varieties were cultured in MS medium supplemented with plant growth regulators 2,4-D concentration of 6 mg per liter. To induce callus (Induction medium) change the media every 3-4 weeks. After that changed the media into MS medium supplemented with growth regulators BAP concentration of 0.1 milligrams per liter to induce embryo (Maturation medium). Then change the media again to be MS media and the addition of growth hormone plants were NAA, BAP and GA at concentrations of 0.02, 0.05 and 0.05 mg per liter, respectively to induce or complete (Plantlet) (Germination medium). After germination media, the results showed that the explants of the leaves of cassava, all 4 varieties have percentages of callus the best is 100 percent, followed by explants of the bud and root, a percentage of callus between 72.5 to 100 percent and 5-15 percent, respectively. For the part of shoots can not be induced callus. When the callus cultured in Maturation medium showed that the callus of Rayong 5, Rayong 9 and Huay Bong 60 by bud induced cells

somatic were 20,40 and 20 percent, respectively. Explants from leaves and the roots cannot be induced in somatic cells.

**Keywords :** explant, somatic cell, cassava

## 6. คำนำ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน (explant) หรืออาจหมายถึง การเพาะเลี้ยงเซลล์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หรือการเพาะเลี้ยงอวัยวะ ในอาหารสังเคราะห์สูตรต่าง ๆ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและปลอดเชื้อ นักวิทยาศาสตร์พบว่า เซลล์ของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีความสามารถที่จะเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ โดยเซลล์จะมีรูปร่างคล้ายไซโกต (zygote) และทำหน้าที่เป็นไซโกตได้ โดยมีการแสดงออกของยีน (gene) เหมือนเดิมความสามารถของเซลล์เช่นนี้ เรียกว่า โททิโปเทนซี (totipotency) ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวนี้เองทำให้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์พืช

การขยายพันธุ์พืชบางสายต้นในปริมาณมาก ๆ แบบเอมบริโอเจเนซิส การขยายพันธุ์วิธีนี้มีอัตราการเพิ่มจำนวนสูงมาก ปัจจัยที่ควบคุมการเกิดเอมบริโอเจเนซิส ได้แก่ ชิ้นส่วนของพืช สารประกอบอินทรีย์พวกโพแทสเซียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต หรือสารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น กรดอะมิโนจะมีส่วนช่วยในการเกิดเอมบริโอเจเนซิสได้ดี นอกจากนั้นการเปลี่ยนอาหาร มีรายงานพบว่า แคลลัสที่เจริญบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ปรากฏว่าสามารถเกิดเอมบริโอเจเนซิสได้ และเซลล์ที่เจริญอยู่ในลักษณะเซลล์เดี่ยวมีความสามารถเกิดเอมบริโอเจเนซิสได้ดี เป็นต้น ฉะนั้นการทดลองนี้จึงได้ศึกษาการเปรียบเทียบชิ้นส่วนของลำปะหลัง ที่มีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิต somatic cell

## 7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. เครื่องแก้วต่าง ๆ
2. เครื่องมือที่จำเป็นสำหรับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
  - เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter)
  - เครื่องชั่ง (balance)

- อุปกรณ์ให้ความร้อน
- เตาอบ (oven)
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
- ตู้เย็น (refrigerator)
- ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (laminar air flow cabinet)
- กล้องจุลทรรศน์ (microscopes)
- เครื่องเขย่า (shaker หรือ rotator)
- เครื่องควบคุมอุณหภูมิ ใช้เครื่องปรับอากาศ (air conditioner)
- เครื่องกรองน้ำ และเครื่องกลั่นน้ำ

### 3. อุปกรณ์สำหรับการเปลี่ยนถ่ายชิ้นส่วน

3.1 ตะเกียงสำหรับลนเครื่องมือตัดชิ้นส่วนและภาชนะ

3.2 ปากคีบขนาด 300,200 มิลลิเมตร ชนิดปลายตรงและขนาด

115

มิลลิเมตร ปลายโค้ง

3.3 เข็มเขี่ยด้ามไม้หรือด้ามโลหะ

3.4 มีดผ่าตัดมีด้ามเป็นโลหะชนิดเปลี่ยนใบมีดได้

3.5 เพทริดิชฆ่าเชื้อด้วยสำหรับวาง explant แล้วตัด

3.6 กล้องจุลทรรศน์และเครื่องชั่งชนิดละเอียด

### 4. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room)

วิธีการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 กรรมวิธี  
กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 4 พันธุ์ (ระยอง5, ระยอง9, ระยอง11 และห้วยบง60)

กรรมวิธี ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี (Treatments) ได้แก่

1. ยอด
2. ใบ
3. ช่อ

#### 4. ราก

##### วิธีดำเนินการทดลอง

ทำการเพิ่มปริมาณต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 ระยอง 9 ระยอง 11 และห้วยบง 60 ให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อให้เพียงพอกับการใช้ในการทดลอง เมื่อได้ปริมาณที่เพียงพอแล้ว ทำการทดลองโดยแยกชิ้นส่วนมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์ออกเป็น 4 ส่วน คือ ยอดอ่อน ใบ ช่อ และราก นำแต่ละชิ้นส่วนมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสาร 2,4-D ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อกระตุ้นให้เกิดแคลลัสในสภาพมืดที่สามารถควบคุมอุณหภูมิห้องได้ที่  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส

##### การบันทึกข้อมูล

หลังเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง 3-4 สัปดาห์ ทำการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส

##### ขั้นตอนที่ 2

###### แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 4 พันธุ์ (ระยอง5, ระยอง9, ระยอง11 และห้วยบง60)

กรรมวิธี ประกอบด้วย 3 กรรมวิธี (Treatments) ได้แก่ แคลลัสของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 ระยอง 9 ระยอง 11 ห้วยบง 60 ที่ได้จาก ใบ ช่อและยอด

##### วิธีดำเนินการทดลอง

นำแคลลัสของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 ระยอง 9 ระยอง 11 ห้วยบง 60 ที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสาร BAP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อกระตุ้นให้เกิดเซลล์ไซมาติกในสภาพที่ได้รับความเข้มแสง 1,500-3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส

##### การบันทึกข้อมูล

หลังเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง 3-4 สัปดาห์ ทำการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดเซลล์ไซมาติก และจำนวนเซลล์ไซมาติก

##### ขั้นตอนที่ 3

###### แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 3 พันธุ์ (ระยอง5, ระยอง9, และห้วยบง60)

กรรมวิธี ประกอบด้วย 3 กรรมวิธี (Treatments) ได้แก่ แคลลัสของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 ระยอง 9 และห้วยบง 60 ที่ได้จากชิ้นส่วนของข้อ

วิธีการดำเนินการทดลอง

นำเซลล์โซมาติกของมันสำปะหลังพันธุ์ ระยอง 5 ระยอง 9 และ ห้วยบง 60 ที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชชนิดต่างๆ คือ NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร, BAP 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพที่ได้รับ ความเข้มแสง 1,500-3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

การบันทึกข้อมูล

หลังเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง 3-4 สัปดาห์ ทำการประเมินข้อมูล ดังนี้

- เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ (Plantlet)
- จำนวน Plantlet
- อัตราการอยู่รอดของต้น Plantlet

ระยะเวลาการดำเนินการทดลอง เดือน ตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลอง ขั้นตอนที่ 1

เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนต่างๆ ของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์ พบว่า ชิ้นส่วนที่ได้จากใบมี เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสดีที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ ชิ้นส่วนที่ได้จากข้อและราก ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์

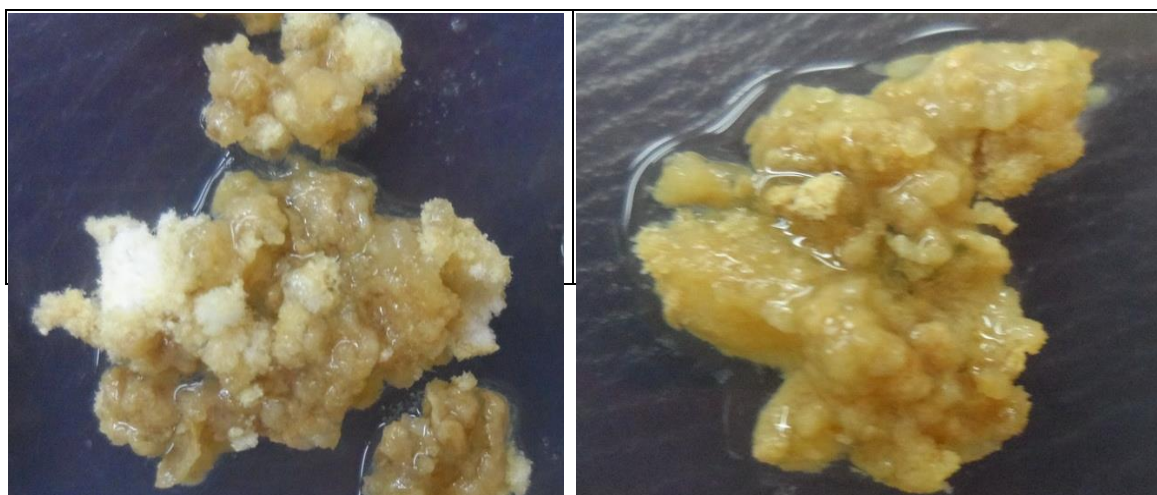
การเกิดแคลลัส ระหว่าง 72.5-100 เปอร์เซ็นต์ และ 5-15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนที่ได้จากยอดของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์ ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้แต่จะมีการเจริญพัฒนาเป็นยอดใหม่และเจริญเติบโตเป็นต้นในที่สุด (organogenesis) (ตารางที่ 1, ภาพที่ 3)

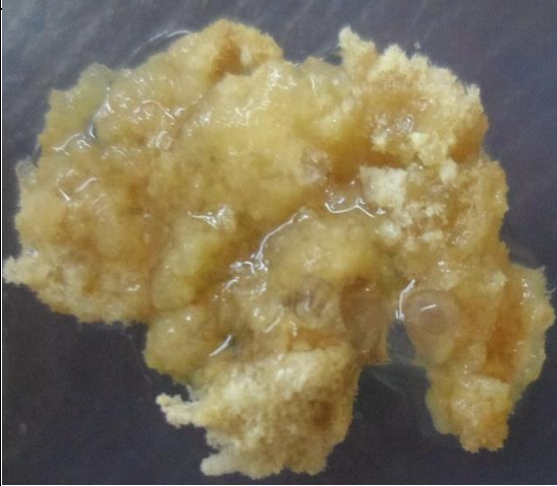
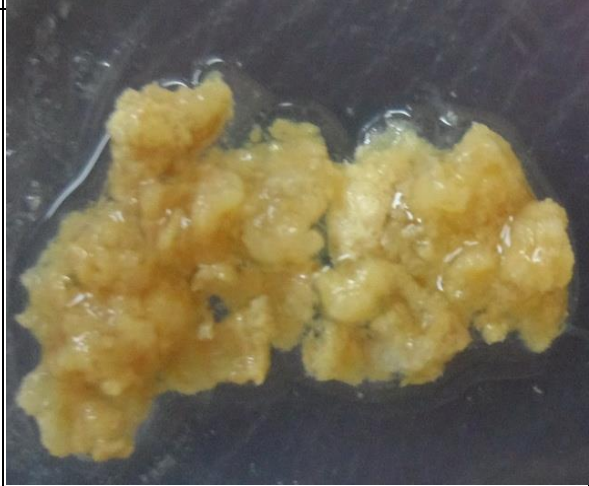
ชิ้นส่วนที่ได้จากข้อมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งโดยชิ้นส่วนของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากพันธุ์ห้วยบง 60 (72.5%) แต่ไม่แตกต่างจากพันธุ์ระยอง 5 และระยอง 11 (97.5 และ 97.5% ตามลำดับ) ชิ้นส่วนที่ได้จากใบและรากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนชิ้นส่วนที่ได้จากยอด พบว่า มันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์ ไม่สามารถชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสได้ (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1** เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ (Induction medium)

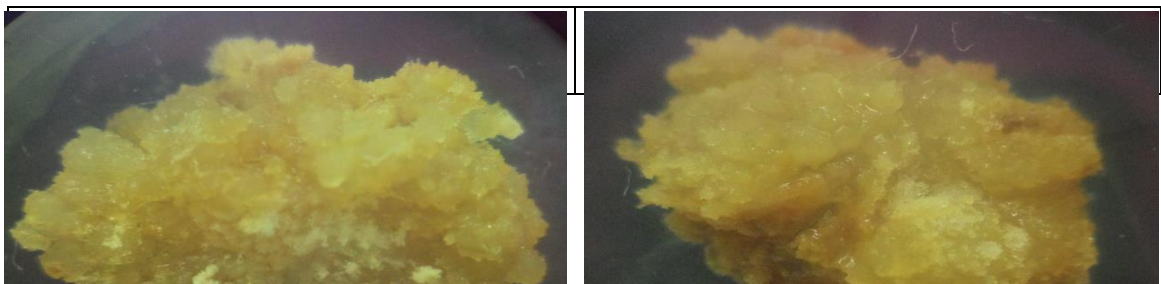
Varieties/Explants	Callus (%)			
	Shoots	Leaves	Nodes	Roots
R5	0	100	97.5 <sup>a</sup>	10
R9	0	100	100 <sup>a</sup>	5
R11	0	100	97.5 <sup>a</sup>	15
HB60	0	100	72.5 <sup>b</sup>	12.5
F-test	-	100	**	ns
% CV	-	100	6.85	45.06

**หมายเหตุ:** ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในสมมุติเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบโดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

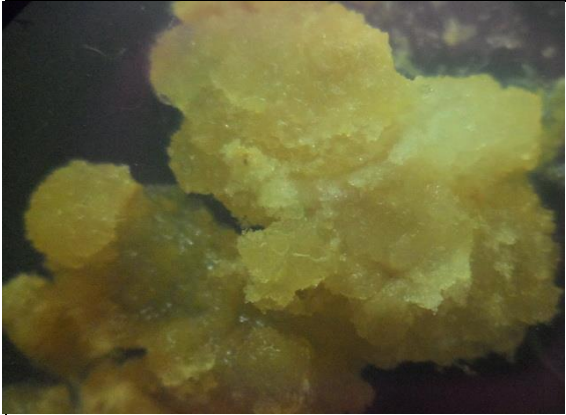
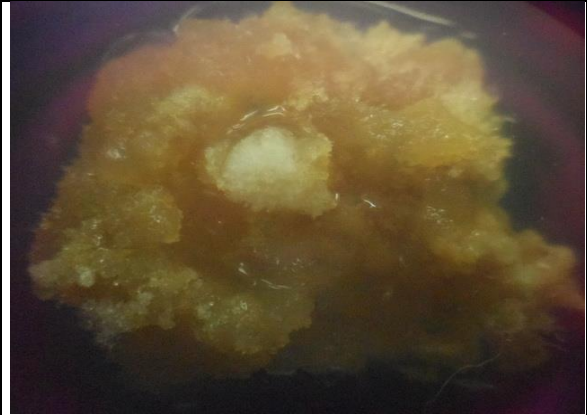


ระยอง 5	ระยอง 9
	
ระยอง 11	ห้วยบง 60

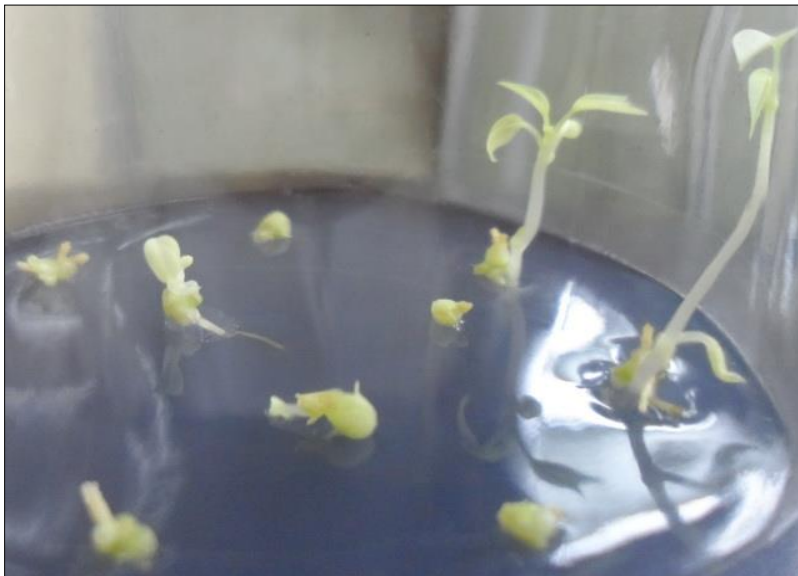
ภาพที่ 1 ลักษณะแคลลัสของม้นสำปะหลังพันธุ์ต่างๆ ที่ได้จากชิ้นส่วนของใบ





ระยอง 5	ระยอง 9
	
ระยอง 11	ห้วยบง 60

ภาพที่ 2 ลักษณะแคลลัสของมันสำปะหลังพันธุ์ต่างๆ ที่ได้จากชิ้นส่วนของข้อ



### ภาพที่ 3 ลักษณะการเกิด Organogenesis ของมันสำปะหลังที่เพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนของยอด

#### ผลการทดลอง ขั้นตอนที่ 2

จากผลการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดเซลล์โชมาทิกของแคลลัสมันสำปะหลังที่ได้จากข้อมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยที่มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดเซลล์โชมาทิกเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 และห้วยบง 60 ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดเซลล์โชมาทิกเฉลี่ยเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ระยอง 11 ไม่พบการเกิดเซลล์โชมาทิกเลย นอกจากนี้แคลลัสของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์ ที่ได้จากชิ้นส่วนใบและรากไม่พบการเกิดเซลล์โชมาทิกเช่นกัน (ตารางที่ 2)

สำหรับจำนวนเซลล์โชมาทิกที่นับได้บนก้อนแคลลัส พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีจำนวนเซลล์โชมาทิกที่นับได้บนก้อนแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด คือ 2 เซลล์ต่อแคลลัส ซึ่งไม่แตกต่างจากมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 และระยอง 9 ที่มีจำนวนเซลล์โชมาทิกเฉลี่ย เท่ากับ 1.5 และ 1 เซลล์ต่อแคลลัส ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

#### ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเกิดเซลล์โชมาทิกของแคลลัสมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่ได้จากชิ้นส่วนข้อ หลังเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ (Maturation medium)

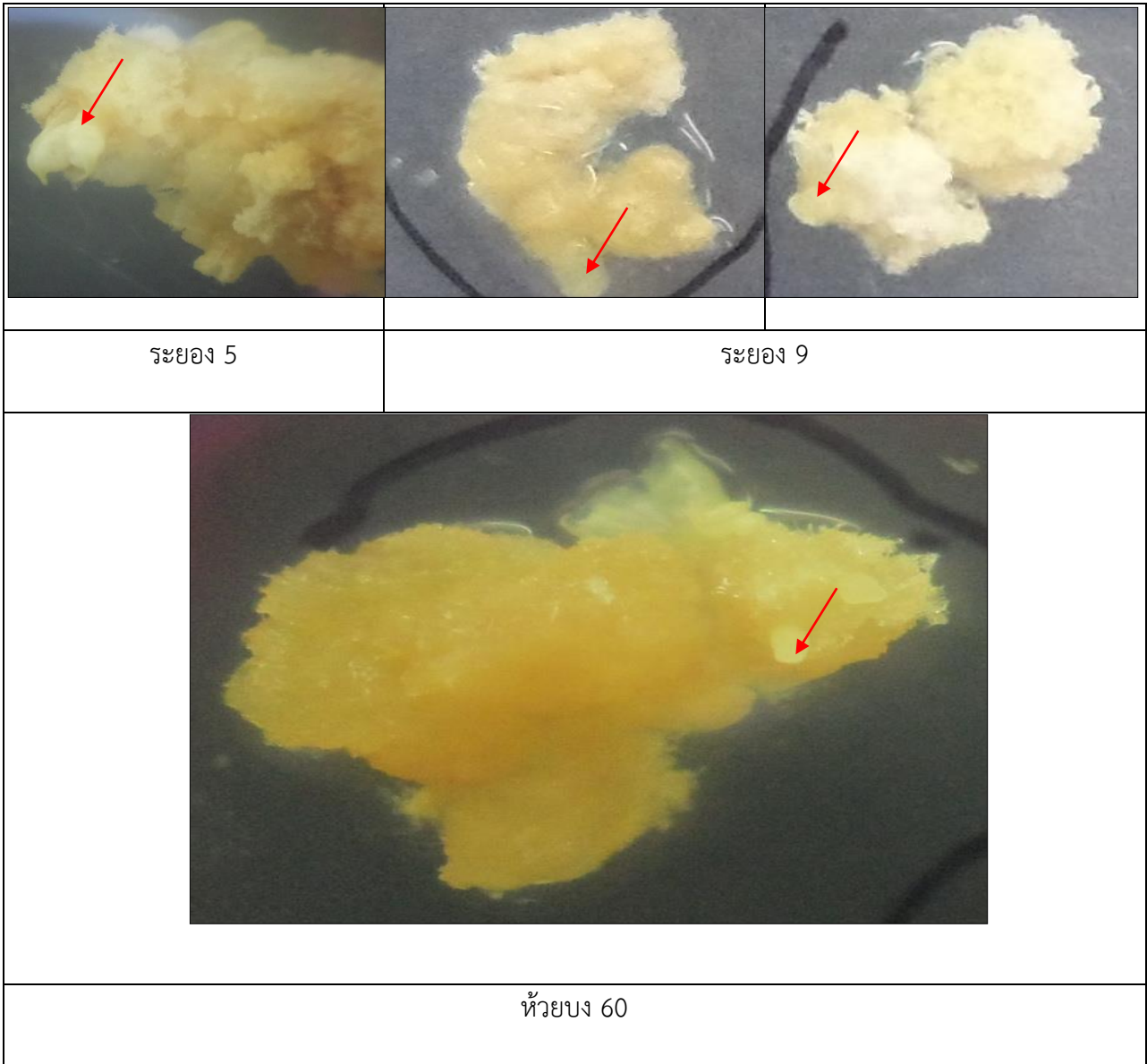
Varieties/Explants	Embryo (%)		
	Leaves	Nodes	Roots
R5	0	20 <sup>b</sup>	0
R9	0	40 <sup>a</sup>	0
R11	0	0 <sup>c</sup>	0
HB60	0	20 <sup>b</sup>	0
F-test	-	**	-
% CV	-	5.77	-

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

**ตารางที่ 3** จำนวนเซลล์โคมาทิกของแคลลัสมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่ได้จากชิ้นส่วนข้อ หลังเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ (Maturation medium)

Varieties/Explants	Embryo (%)		
	Leaves	Nodes	Roots
R5	0	20 <sup>b</sup>	1.5 <sup>ab</sup>
R9	0	40 <sup>a</sup>	1a <sup>b</sup>
R11	0	0 <sup>c</sup>	0 <sup>b</sup>
HB60	0	20 <sup>b</sup>	2 <sup>a</sup>
F-test	-	**	*
% CV	-	5.77	62.85

**หมายเหตุ:** ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบ โดยใช้ DMRT \*ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% \*\*ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%



ภาพที่ 4 ลักษณะเซลล์โชมาทิก (เครื่องหมายลูกศรสีแดง) Organogenesis ของมันสำปะหลังพันธุ์ต่างๆที่ได้จากชิ้นส่วนของข้อ

ผลการทดลอง ชั้นตอนที่ 3

ผลการทดลอง อยู่ในระหว่างการเก็บข้อมูล รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ข้อมูล

## 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาชิ้นส่วนของพืชในการผลิตเซลล์โชมมาติกกับมันสำปะหลังพันธุ์แก้วหน้าและพันธุ์แนะนำ โดยทดลองกับชิ้นส่วนต่างๆ (ยอด ใบ ช่อ และราก) ของมันสำปะหลัง พันธุ์ระยอง5, ระยอง9, ระยอง11 และห้วยบง 60 นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช 2,4-D ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส (Induction medium) เปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 3-4 สัปดาห์เป็นเวลา 3 ครั้ง หลังจากนั้น เปลี่ยนเป็นอาหารเป็นสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิด embryo (Maturation medium) เมื่อได้ embryo แล้วทำการเปลี่ยนอาหารใหม่เป็นอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชชนิดต่างๆ คือ NAA, BAP และ GA ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.05 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ (Plantlet) (Germination medium) สรุปผลการทดลองได้ดังนี้คือ

ชิ้นส่วนที่ได้จากใบของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสดีที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชิ้นส่วนที่ได้จากยอดไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และเมื่อนำแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Maturation medium พบว่า แคลลัสของมันสำปะหลังพันธุ์ ระยอง9 ที่ได้จากชิ้นส่วนของช่อสามารถชักนำให้เกิดเซลล์โชมมาติกได้ดีที่สุดเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชิ้นส่วนที่ได้จากใบและรากไม่สามารถชักนำให้เกิดเซลล์โชมมาติกได้

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การทดลองนี้สามารถนำไปประโยชน์โดยการนำไปวิจัยและพัฒนาต่อไปในปี 2560

กลุ่มเป้าหมาย คือ นักวิชาการเกษตร อาจารย์ในมหาวิทยาลัยต่างๆ นักศึกษา และเกษตรกรที่มีความสนใจหรือประกอบอาชีพในด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการค้า

## 11. เอกสารอ้างอิง

รังสี เจริญสถาพร, อมรรักษ์ คัดใจตียว และโอภาช บุญเส็ง. 2551. การสร้างมันสำปะหลังเตทรพลอยด์โดยการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ผลงานวิจัยได้จริงจาก หิ้งสู่ห้าง ครั้งที่ 2, กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Raemakers, C.J.J.M., M. Amati, G. Staritsky, E. Jacobsen and R.G.F. Visser. 1993. Cyclic somatic embryogenesis and plant regeneration in cassava. **Ann. Bot.** 71: 289-294.

IPGRI, CIAT (2003) Descriptors for Cassava (*Manihot esculenta*). International Plant Genetic Resources institute, Rome, Italy and Centro Internacional para la Agricultura Tropical, Cali, Colombia.

Stamp JA, Henshaw GG (1982) Somatic embryogenesis in cassava. *Z Pflanzenphysiol* 105: 183-187.

Stamp JA, Henshaw GG (1987a) Secondary somatic embryogenesis and plant regeneration in cassava. *Plant Cell Tiss Org* 10: 227-233.

Steward FC, Mapes MO, Mears K (1958) Growth and organized development of cultured cell II Organization in cultured grown from freely suspended cell. *Am J Bot* 45: 705-708.

Stewart CN Jr, Adang MJ, All JN, Boerma H R, Cardineau G, Tucker D, Parrott WA (1996) Genetic transformation, recovery, and characterization of fertile soybean transgenic for synthetic *Bacillus thuringiensis* cryIIAc gene. *Plant Physiol* 112: 121-129.

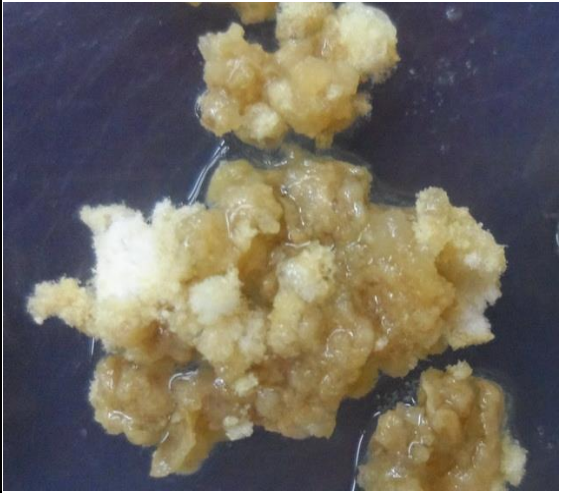

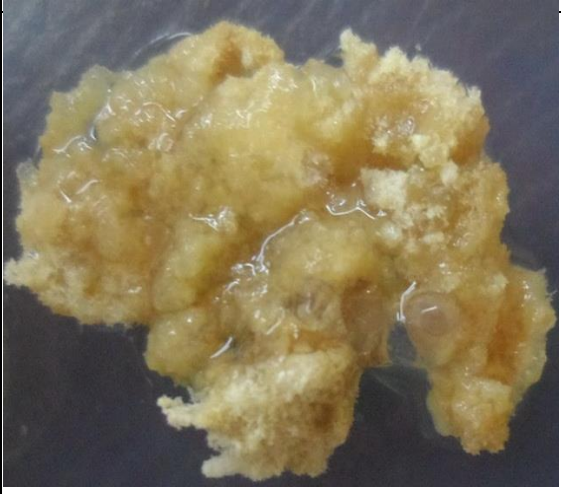
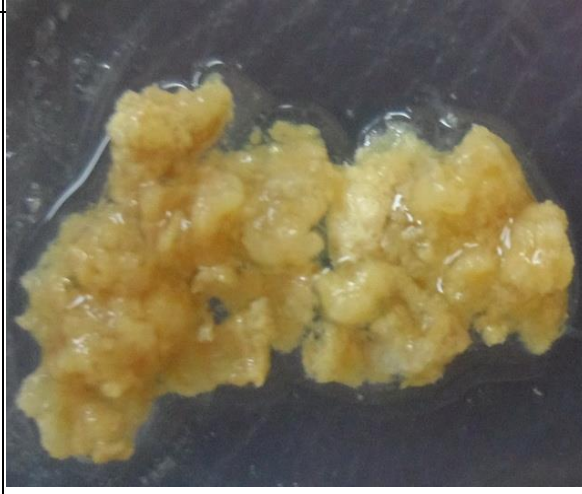
Szabados L, Hoyos R, Roca WM (1987) In vitro somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava. *Plant cell Rep* 6: 248-251.

Taylor, Henshaw (1993) The induction of somatic embryogenesis in 15 African and one south American cassava cultivars, In: Roca WM, Trop AM (eds.) *Proceeding of the first*

- International Scientific meeting of the cassava Biotechnology network.* Centro Internacional de Agricultura tropical, Colombia, pp 229-240.
- Taylor MG, Vasil IK (1996) The ultrastructure of somatic embryo development in pearl millet (*Pennisetum glaucum*; *Poaceae*). *Am J Bot* 83: 28-44
- Taylor NJ, Chavarriga P, Raemakers K, Siritunga D, Zhang P (2004) Development and application of transgenic technologies in cassava. *Plant Mol Biol* 56: 671-688.
- Wongtiem P. (2011). Propagation of cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) by somatic embryogenesis. PhD. Université Angers, Angers, France, 324 pp.
- Wongtiem, P., Courtois, D., Florin, B., Juchaux, M., Peltier, D., Broun, P. and Ducos, J.P. (2011). Effects of cytokinins on secondary somatic embryogenesis of selected clone Rayong 9 of *Manihot esculenta* Crantz for ethanol production. *African Journal of Biotechnology*, 10(9), 1600-1608.

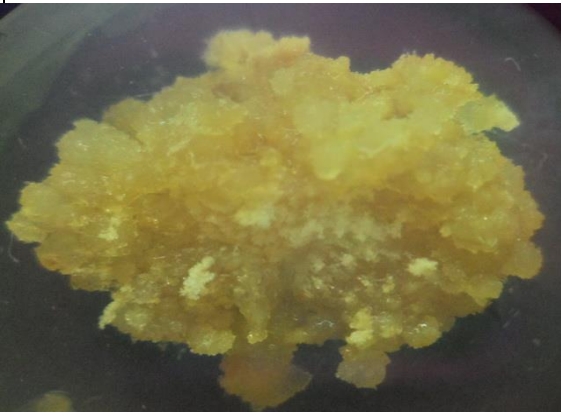

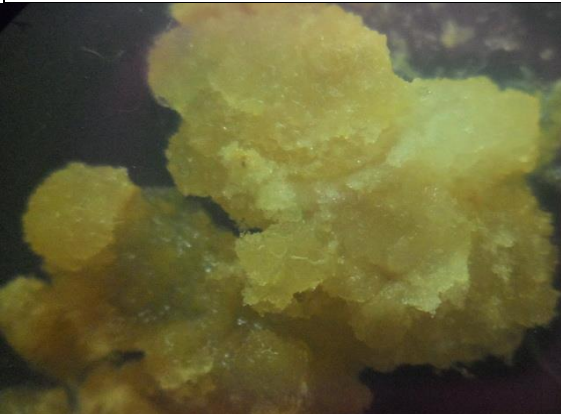
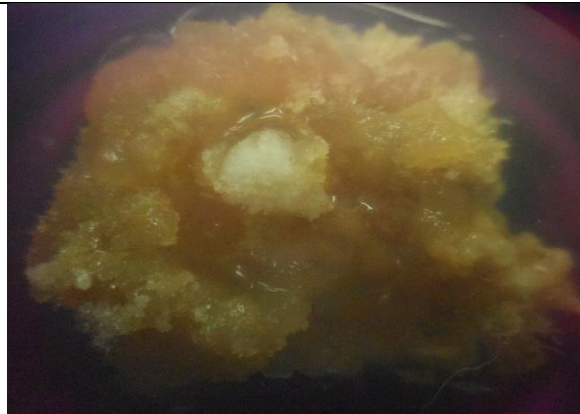
## 12. ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 ลักษณะแคลลัสของไม้สำปะหลังพันธุ์ต่างๆ ที่ได้จากชิ้นส่วนของใบ

	
ระยอง 5	ระยอง 9
	
ระยอง 11	ห้วยบง 60



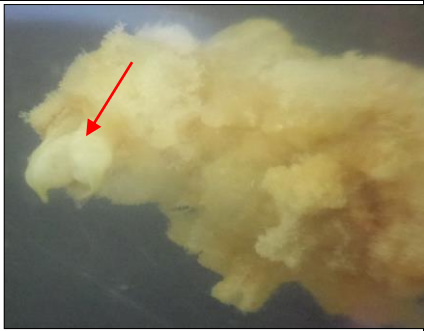
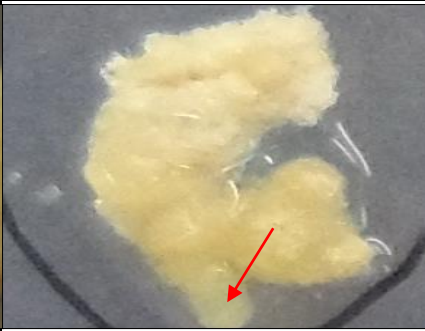

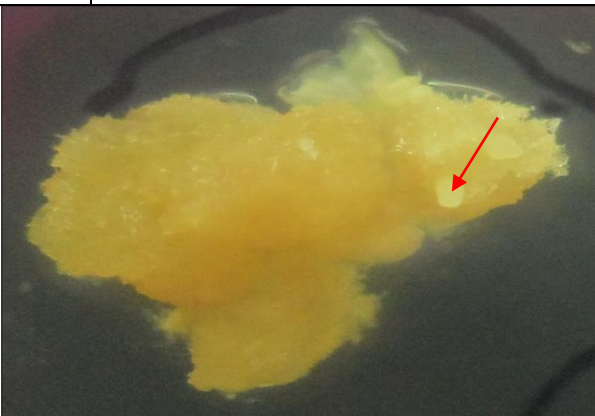
ภาคผนวกที่ 2 ลักษณะแคลลัสของมันสำปะหลังพันธุ์ต่างๆ ที่ได้จากชิ้นส่วนของข้อ

	
ระยอง 5	ระยอง 9
	
ระยอง 11	ห้วยบง 60

ภาคผนวกที่ 3 ลักษณะการเกิด Organogenesis ของมันสำปะหลังที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนของ  
ยอด



ภาคผนวกที่ 4 ลักษณะเซลล์โซมาติก (เครื่องหมายลูกศรสีแดง) Organogenesis ของมันสำปะหลังพันธุ์  
 ต่างๆที่ได้จากชิ้นส่วนของข้อ

		
<p>ระยอง 5</p>	<p>ระยอง 9</p>	
		
<p>ห้วยบง 60</p>		

ภาคผนวกที่ 5 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์  
(Induction medium)

Varieties/Explants	Callus (%)			
	Shoots	Leaves	Nodes	Roots
R5	0	100	97.5 <sup>a</sup>	10
R9	0	100	100 <sup>a</sup>	5
R11	0	100	97.5 <sup>a</sup>	15
HB60	0	100	72.5 <sup>b</sup>	12.5
F-test	-	100	**	ns
% CV	-	100	6.85	45.06

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ภาคผนวกที่ 6 เปอร์เซ็นต์การเกิดเซลล์โชมาทิกของแคลลัสมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่ได้จากชิ้นส่วนข้อ  
หลังเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ (Maturation medium)

Varieties/Explants	Embryo (%)		
	Leaves	Nodes	Roots
R5	0	20 <sup>b</sup>	0
R9	0	40 <sup>a</sup>	0
R11	0	0 <sup>c</sup>	0
HB60	0	20 <sup>b</sup>	0
F-test	-	**	-
% CV	-	5.77	-

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ภาคผนวกที่ 7 จำนวนเซลล์โชมาทิกของแคลลัสมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่ได้จากชิ้นส่วนข้อ หลังเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ (Maturation medium)

Varieties/Explants	Embryo (%)		
	Leaves	Nodes	Roots
R5	0	20 <sup>b</sup>	1.5 <sup>ab</sup>
R9	0	40 <sup>a</sup>	1a <sup>b</sup>
R11	0	0 <sup>c</sup>	0 <sup>b</sup>
HB60	0	20 <sup>b</sup>	2 <sup>a</sup>
F-test	-	**	*

% CV

-

5.77

62.85

---

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบ โดยใช้ DMRT \*ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\*\*ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%