รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุดปี 2559

1. ชุดโครงการวิจัย: วิจัยและพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์อ้อยเพื่ออุตสาหกรรมน้ำตาล

2. โครงการวิจัย: โครงการการสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรมอ้อยผ่านทางการเพาะเลี้ยงแคลลัส

กิจกรรมที่ 1: การสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรมอ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

3. ชื่อการทดลองที่ 1: ศึกษาผลของสารออกซินและไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำแคลลัสอ้อย 2 พันธุ์

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	: กาญจนา กิระศักดิ์	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
ผู้ร่วมงาน	: อัมราวรรณ ทิพยวัฒน์	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
	ภาคภูมิ ถิ่นคำ	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
	ชยันต์ ภักดีไทย	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
	กนกวรรณ เรียบร้อย	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
	วีระพล พลรักดี	สถาบันวิจัยพืชไร่ฯ

5. **บทคัดย่อ**

การศึกษาผลของสารออกซินและไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำแคลลัสอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และแอลเค92-11 เพื่อนำแคลลัสไปใช้สำหรับสร้างความแปรปรวนด้วยการใช้สารเคมีก่อกลายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ 4x4 Factorial in CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ขวด ปัจจัย A คือ สาร IBA(indole-3-butyric acid), IAA (indole-3-acetic acid) และ NAA (alpha-Napthaleneacetic Acid) แต่ละสารใช้ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับปัจจัย B คือสาร BA (Benzyladenine), kinetin และ 2ip (6-γ,γ-dimethylallylaminopurine) แต่ละสารใช้ความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 9 ขั้นตอนในแต่ละพันธุ์ ผลการทดลองพบว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA, IAA และ NAA ร่วมกับ BA, kinetin และ 2ip ทุกระดับความเข้มข้น สามารถชักนำให้ใบอ่อนอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ ม้วนขึ้นข้างบน และใช้ระยะเวลานานมากกว่า 2 เดือน ในการชักนำแคลลัสได้เพียงเล็กน้อย (ไม่สามารถชั่งน้ำหนักได้) การศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้สาร 2,4-D ความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 0, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นกรรมวิธี วางแผนแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ขวด ผลการทดลองพบว่า ได้แคลลัสดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยได้น้ำหนักแคลลัส 0.44 และ 0.36 กรัม ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และแอลเค92-11 ตามลำดับ ในช่วงระยะเวลาหลังเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในที่ไม่มีแสงสว่าง 15 วัน และเมื่อใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้นเหมาะสมที่สุดในการชักนำแคลลัสคือ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมน้ำมะพร้าว 10 % ผลการทดลองพบว่า การเติมน้ำมะพร้าว ช่วยชักนำให้เกิดแคลลัสได้เร็วขึ้นกว่าเดิม 4 วัน ทั้ง 2 พันธุ์ และพันธุ์ขอนแก่น 3 ได้แคลลัส 0.50 กรัม ซึ่งมากกว่าการไม่เติมน้ำมะพร้าว (0.44 กรัม) แต่แคลลัสของพันธุ์แอลเค92-11 ปริมาณแคลลัสที่ได้มีน้ำหนักใกล้เคียงกัน ในสูตร

อาหารที่ไม่เติมและเติมน้ำมะพร้าว 10 % (0.35 และ 0.36 กรัม ตามลำดับ) และเมื่อทำการเปลี่ยนอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัสในสูตรอาหารเดิม พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้เร็วและมาก

คำหลัก: แคลลัส, ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเซลล์ และ สารเคมีก่อการกลายพันธุ์

Abstract

This experiment was the effects of auxins and cytokinins on KK 3 and LK 92-11 varieties callus induction. After that, the calluses are applied with a variance chemical mutagens. Experimental design was 4x4 Factorial in CRD 4 replications and 10 bottles of each treatment. The consisting of factor A were IBA (indole-3 -butyric acid), IAA (indole-3 -acetic acid) and NAA (alpha-Napthaleneacetic Acid) 0 , 1 , 2 and 3 mg per liter concentration and the factor B were BA (Benzyladenine), kinetin and 2ip (6-γ, γ-dimethylallylaminopurine) 0, 1, 5 and 10 mg per liter concentrations. And the experimental plus was the use of 2,4-D and coconut water. The results showed all concentrations of the growth regulators IBA, IAA and NAA with BA, kinetin and 2ip to induce sugarcane leaves roll up. There was a little callus after culture 2 months (no measure). However the calluses of two varieties sugarcane were induced by 2,4-D 5 milligrams per liter concentration (0.44 and 0.36 g calluses weigh, respectively) during after culture 15 days without light and inputted coconut water in media together to induce calluses early for 4 days and more calluses than 2,4-D only (0.50 and 0.35 g, respectively)

Key words: callus, somatic cell variation and chemical mutant

6. คำนำ

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นส่วนหนึ่งของวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพที่สามารถช่วยสนับสนุนในด้านงานปรับปรุงพันธุ์พืช เช่นการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อเพิ่มชีวมวลและผลผลิต เพิ่มปริมาณและคุณภาพโปรตีน จำแนกสายพันธุ์เชื้อโรค คัดเลือกพันธุ์ต้านทานต่อภาวะเครียดจากสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิต เพิ่มและชักนำความแปรปรวนให้เกิดสิ่งใหม่ทางพันธุกรรม เพิ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจนให้มีสูงขึ้นในกลุ่มธัญพืช ขยายพันธุ์พืชใหม่ ชักนำการออกดอกและผลิตลูกผสมสำหรับไม้ยืนต้นที่มีวงชีวิตยาว และ เก็บเชื้อพันธุกรรมของพืชชนิดที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ เป็นต้น ซึ่งวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการที่สามารถช่วยลดขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ในสภาพไร่ได้ ในอดีตที่ผ่านมามีการนำสารเคมีและการฉายรังสี (mutagens) หลายชนิด ซึ่งเป็นสิ่งที่ก่อการการพันธุ์ เพื่อชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของพืชผ่านทางต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งผลที่ได้รับมีทั้งประสบความสำเร็จที่เกิดการเปลี่ยนแปลงแบบคงตัว (genetic change) และไม่ประสบความสำเร็จ เป็นการเปลี่ยนแปลงไม่คงตัว (epigenetic change) เนื่องจากวิธีการเหล่านี้บางครั้งก่อเกิดการกลายพันธุ์พืชไป

เพียงชั่วคราวหรือการเปลี่ยนแปลงยีนไปเพียงบางตัวเท่านั้น จึงมักไม่ได้พืชที่มีการกลายพันธุ์อย่างถาวรและไม่สามารถพัฒนาไปเป็นพันธุ์ใหม่ได้ตามต้องการ แต่ในปัจจุบันช่วงปี 2010-2013 นักวิจัยจากประเทศอินเดีย สหรัฐอเมริกา อิหร่าน และ บราซิล ได้มีงานวิจัยตีพิมพ์ด้านการปรับปรุงพันธุ์อ้อย โดยการคัดเลือกลักษณะพืชที่เกิดจากความแปรปรวนทางพันธุกรรมจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (somaclonal variation) หรือวิธีการชักนำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม โดยการใช้สารเคมี (chemical mutagens) ในสภาพปลอดเชื้อผ่านทางการเพาะลี้ยงแคลลัส (นิรนาม, มปป.; ปวิณ และคณะ,2552)เพื่อช่วยเพิ่มการกระจายตัวทางพันธุกรรมได้กว้างมากขึ้นและลดระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการผสมเกสร เนื่องจากวิธีการนี้มีการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างเช่น การเปลี่ยนแปลงคาริโอไทป์ การเรียงตัวของโครโมโซม การเรียงตัวของยีน และการเพิ่มหรือขาดหายไปของยีน เป็นต้น ซึ่งผลของการใช้วิธีนี้สามารถพัฒนาพันธุ์ใหม่ที่สามารถต้านทานโรค ความหวานสูง และผลผลิตสูงกว่าเดิม ทนทานต่อสภาพดินเค็ม แห้งแล้ง และได้พันธุ์ที่นักปรับปรุงพันธุ์สามารถนำไปใช้เป็นเชื้อพันธุกรรมในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์แบบปกติ (Sengar *et al*., 2011)

7. วิธีดำเนินการ

7.1 อุปกรณ์

1. พันธุ์อ้อยขอนแก่น 3 และ แอลเค92-11อุปกรณ์สำหรับปลูกอ้อยและดูแลรักษา
   กระถางดินเผา วัสดุปลูก สารเคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลง และปุ๋ยเคมี
2. เนื้อเยื่ออ้อย
   เนื้อเยื่อใบอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และ แอลเค92-11
3. อาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตรต่าง ๆ

อาหารสังเคราะห์สูตรหลัก MS (Murashige and Skoog, 1962) สารป้องกันการเกิดสีน้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน และไซโตไคนินได้แก่ IBA...

7.2 วิธีการดำเนินงาน

7.2.1 วางแผนการทดลองแบบ 4x4 Factorial in CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ขวด ปัจจัย A คือ สาร IBA (indole-3-butyric acid), IAA (indole-3-acetic acid) และ NAA (alpha-Napthaleneacetic Acid) แต่ละสารใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับปัจจัย B คือสาร BA (Benzyladenine), kinetin และ 2ip (6-γ,γ-dimethylallylaminopurine) แต่ละสารใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ดำเนินการศึกษาเป็นขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาผลของสาร IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสอ้อย 2 พันธุ์

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาผลของสาร IAA (indole-3-acetic acid)ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับBA ความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสอ้อย 2 พันธุ์

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาผลของสาร NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ และ BA ที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสอ้อย2พันธุ์

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาผลของสาร IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสอ้อย 2 พันธุ์

ขั้นตอนที่ 5 ศึกษาผลของสาร IAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสอ้อย 2 พันธุ์

ขั้นตอนที่ 6 ศึกษาผลของสาร NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับkinetin ความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสอ้อย 2 พันธุ์

ขั้นตอนที่ 7 ศึกษาผลของสาร IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2ip ความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสอ้อย 2 พันธุ์

ขั้นตอนที่ 8 ศึกษาผลของสาร IAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2ip ความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสอ้อย 2 พันธุ์

ขั้นตอนที่ 9 ศึกษาผลของสาร NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2ip ความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสอ้อย2พันธุ์

7.2.2 ศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ทดลองเพาะเลี้ยงเฉพาะบนอาหารแข็ง วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ขวดใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS มี 4 กรรมวิธี คือการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4 D ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

7.2.3 ศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้นเหมาะสมที่สุดในการชักนำแคลลัส จากข้อ 7.2.2 ร่วมกับการเติมน้ำมะพร้าว 10 % (บุศริน, 2557) มี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด

- **วิธีปฏิบัติการทดลอง**

1. ชำข้ออ้อยทั้ง 2 พันธุ์ เพื่อให้เกิดหน่ออ่อน
2. เตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962) (MS) ที่เติมกรดซิตริก 150 พีพีเอม น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร เติมสารเคมีตามแผนการทดลองขั้นตอนที่ 1-9และปรับ pH 5.6-5.8 แบ่งเตรียมอาหารแข็งเติมผงวุ้น 6.5 กรัมต่อลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่ปรับความดัน 15 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ในให้เย็น นำใบหลอดจากหน่ออ้อยอายุ 1 เดือน ของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และ LK92-11 ทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด และฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอ-ไรด์ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ตัดชิ้นส่วนใบขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร ใส่ลงในขวดอาหารที่เตรียมไว้ขวดละ 1 ชิ้น นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบแนวนอนตั้งความเร็ว 100 รอบต่อนาที สำหรับอาหารเหลว และวางบนชั้นวางสำหรับอาหารแข็ง ในห้องเพาะเลี้ยงที่ไม่มีแสงสว่างและควบคุมอุณหภูมิที่ 25$\pm$3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ หรือจนกระทั่งเห็นการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนพืช

- **บันทึกข้อมูล**

บันทึกผลการพัฒนาการเกิดแคลลัส (ชั่งน้ำหนักแคลลัส) และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2558 – กันยายน 2559 ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น

8. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองทุกขั้นตอน1-9ของการศึกษาการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตIBA IAA NAA ร่วมกับ BA Kienetin 2ip ทุกความเข้มข้น กับอ้อยพันธุ์ขอนแก่น3 และพันธุ์แอลเค92-11พบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เนื้อเยื่อไม่มีการตอบสนองและไม่พัฒนา สำหรับการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง สามารถชักนำการเกิดแคลลัสกับอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ได้เพียงเล็กน้อย ไม่สามารถชั่งน้ำหนักได้ หลังเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์และสัปดาห์ที่ 9 เนื้อเยื่อเริ่มเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาล และไม่มีการพัฒนาต่อไป ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากความสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมลงในสูตรอาหารสังเคราะห์ไม่เหมาะสม ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกชนิดเพื่อการชักนำแคลลัสนั้น ต้องเกิดจากความสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนินของเนื้อเยื่อพืช เซลล์บนบริเวณชั้นพาเรงไคมาจึงจะเกิดการแบ่งตัวเพิ่มปริมาณมาสมานแผลบริเวณเนื้อเยื่อที่ถูกตัด ซึ่งฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสจะขึ้นอยู่กับชนิดพืช ชนิดชิ้นส่วน และระยะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้ (สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง, มปป.)

สำหรับการศึกษาเพิ่มเติมใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D พบว่าสามารถชักนำแคลลัสได้ดีทั้งพันธุ์ขอนแก่น 3 และแอลเค92-11แต่น้ำหนักแคลลัสที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และได้แคลลัสดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.44 และ 0.36 กรัม ในพันธุ์ขอนแก่น 3 และแอลเค92-11 ตามลำดับ) ในช่วงระยะเวลาหลังเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในที่ไม่มีแสงสว่าง 15 วัน (ตาราง) และการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้นเหมาะสมที่สุดในการชักนำแคลลัสคือ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมน้ำมะพร้าว 10 % ผลการทดลองพบว่า การเติมน้ำมะพร้าว ช่วยชักนำให้เกิดแคลลัสได้เร็วขึ้นกว่าเดิม 4 วัน ทั้ง 2 พันธุ์ และพันธุ์ขอนแก่น 3 ได้แคลลัส 0.50 กรัม ซึ่งมากกว่าการไม่เติมน้ำมะพร้าว (0.44 กรัม) แต่แคลลัสของพันธุ์แอลเค92-11 ปริมาณแคลลัสที่ได้มีน้ำหนักใกล้เคียงกันในสูตรอาหารที่ไม่เติมและเติมน้ำมะพร้าว 10 % (0.35 และ 0.36 กรัม ตามลำดับ) และเมื่อทำการเปลี่ยนอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัสในสูตรอาหารเดิม พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้เร็วและมาก ซึ่ง 2,4-D สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้ดีในอ้อยนั้นเป็นดังเช่นงานทดลองของ บุศริน (2557) ชักนำแคลลัสของอ้อยพันธุ์ Kps 94-13 จากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์สูตรดัดแปลง MS ที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำมะพร้าว 10 % ได้ปริมาณมาก

ตาราง น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และ แอลเค92-11

ปริมาณ 2,4-D (มิลลิกรัม/กรัม)	น้ำหนักแคลลัสอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 (กรัม)	น้ำหนักแคลลัสอ้อยพันธุ์แอลเค92-11 (กรัม)
0	-	-
5	0.44	0.36
10	0.29	0.25
20	0.19	0.12
CV (%)	15.2	21.7

หมายเหตุ : - ไม่เกิดแคลลัสไม่ได้นำมาวิเคราะห์

9.สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

อาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MS ที่เติม 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 10 % เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และ แอลเค92-11 และเพิ่มปริมาณแคลลัสได้เร็วและจำนวนมาก

ข้อแนะนำ การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนอ้อย ควรเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง และการขยายเพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัส ควรเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้เร็วกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำแคลลัสที่ได้ไปใช้ในการสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรมอ้อย โดยการก่อการกลายพันธุ์ด้วยวิธีการใช้สารเคมีและการใช้รังสี สำหรับการสร้างพันธุ์กลาย เพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมของอ้อย จากการคัดเลือกพันธุ์กลาย

11. คำขอบคุณ

คุณจันทรา บดีศร นักวิชาการสถิติชำนาญการพิเศษ กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ให้คำแนะนำด้านการวิเคราะห์ผลการทดลอง และปรับแก้ไขการเขียนรายงาน

12. เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. มปป.การเพาะเลี้ยงเซลล์และการปรับปรุงพันธุ์พืช. http://e-book.ram.edu/e-book/b/BT465/BT465-10.pdf [ค้นหา 23 สิงหาคม 2558]

บุศริน อิ่มอินทร์. 2557. การโคลนบางส่วนของยีน Betaine Aldehyde Dehydrogenase และ Myo-Inositol 1-phosphate synthase ที่อ้อยใช้ตอบสนองต่อสภาพขาดน้ำ. วิทยานิพนธ์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 71 หน้า

ปวิณ ภิรมย์พลกฤต ขำวิชาชินนพร ซุ่นอื้อ และอาจารย์ที่ปรึกษา นางพัชรา พงศ์มานะวุฒิ. 2552. ศาสตร์แห่งชีวิต. โครงการประกวดสื่อดิจิทัลเพื่อการเรียนรู้ (Digital Learning Contest) ครั้งที่ 2.http://www.thaigoodview.com/library/contest2552/type2/science04/27/contents/genetics-8816.html. [ค้นหา 23 สิงหาคม 2558]

รังสฤษฎ์ กาวินต๊ะ. 2545. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 3 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 219 หน้า.

สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง. มปป. ความรู้ทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอาคารปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชงานปฏิบัติการวิทยาศาสตร์กลางสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. http://www.lartc.rmutl.ac.th/ptclab/Tissue%20Culture/callus.html. [ค้นหา 12 กันยายน 2559]

Sengar, R.S., K. Sengarand S.K. Garg. 2011. Biotechnological approaches for high sugarcane yield. Plant Sciences Feed. 1(2): 101-111.

13. ภาคผนวก

ตาราง สูตรอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS (Murashige and Skoog , 1962)

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัม/ลิตร)
NH_4 NO_3	1650
KNO_3	1900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
$ZnSO_4.5H_2O$	8.6
H_3BO_3	6.2
KI	0.33
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.H_2O$	0.025
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
$Na_2EDTA.2H_2O$	37.25
Nicotinic acid	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Pyridoxine-HCl	0.5
Glycine	2.0
Myo-inosital	100
Agar	8000
Sucrose	30000
pH 5.7	

(รังสฤษฎ์, 2545)