

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนตรม่วง

เนตรม่วง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Microchirita purpurea* D.J.Middleton & Triboun จัดอยู่ในวงศ์ข่าฤๅษี (Family Gesneriaceae) เป็นไม้ล้มลุกปีเดียว พบการกระจายพันธุ์ตามหน้าผาหินปูนแบบเปิดหรือบริเวณปากถ้ำ ทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศไทย ในอำเภอแก่งหางแมว จังหวัดจันทบุรี

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เนตรม่วงมีลำต้นสูง 0.25-1 เมตร ใบเรียงตรงข้าม ใบยาว 2-9.5 เซนติเมตร แผ่นใบรูปไข่ กว้าง 6-9.5 เซนติเมตร ยาว 8.5-20.5 เซนติเมตร ปลายเรียวแหลม โคนรูปหัวใจ ดอกบานช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม ช่อดอกเกิดบนใบ ใบดอกยาว 2-3 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงสีเขียวอ่อน 5 กลีบ รูปไข่แคบ กว้าง 1.5-2.3 มิลลิเมตร ปลายเรียวแหลม กลีบดอกสีม่วงเข้ม โคนเชื่อมติดกันเป็นรูปประฆัง ปลายแยกออกเป็น 5 แฉก รูปกลมกว้าง ปลายกลมมน ด้านล่างของหลอดยาว 9-9.5 มิลลิเมตร ด้านบนยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ห่างจากแฉกบนประมาณ 9.5 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 6 มิลลิเมตร แฉกกลางกว้างประมาณ 1.3 เซนติเมตร ยาวประมาณ 8.5 มิลลิเมตร

เกสรเพศผู้เชื่อมอยู่ในหลอดกลีบดอกบริเวณส่วนที่เริ่มผายกว้างที่สมบูรณ์ 2 อัน ก้านชูอับเรณูยาวประมาณ 1.5 มิลลิเมตร อับเรณูกว้างประมาณ 2.5 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 1.5 มิลลิเมตร ไม่มีขนปกคลุม ยกเว้นส่วนรอยต่อที่อับเรณูอันบนกับส่วนก้านชูอับเรณูมีขนหนาแน่น ยอดเกสรเพศเมียยาวประมาณ 7 มิลลิเมตร ยอดเกสรเพศเมียแยกเป็นสองแฉกแบนยาวประมาณ 1.2 มิลลิเมตร รังไข่รูปกระสวย ยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร ผลอ่อนสีเขียว โค้ง แต่ไม่บิด กว้างประมาณ 2 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 4 มิลลิเมตร (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย , 2557)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 2.1 ต้นเนตรม่วง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการนำเอาชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชตั้งแต่ระดับเซลล์ เนื้อเยื่อ โพรโทพลาสต์ และอวัยวะบางอย่างของพืช เช่น ยอด ลำต้น ราก ใบ และส่วนต่าง ๆ ของดอกหรือผล มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุอาหารพืชอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ และแสงที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งการเจริญของเนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสามารถเจริญไปเป็นแคลลัส หรืออวัยวะต่าง ๆ เช่น ตา หรือ ราก หรือเอ็มบริโอได้ การชักนำให้เกิดเอ็มบริโอ (Embryogenesis) คือการทำให้เซลล์ที่ได้จากชิ้นส่วนพืชหรือแคลลัสพัฒนาเป็นต้นอ่อนโดยแคลลัสนั้นได้มาจากเซลล์ที่เป็นอวัยวะของพืช ไม่ได้มาจากเซลล์สืบพันธุ์ เรียกกระบวนการนี้ว่าโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิส (Somatic embryogenesis) และเรียกเอ็มบริโอที่ได้ว่า เอ็มบริอยด์ (Embryoid) ถ้าเอ็มบริโอนั้นได้มาจากไข่ปฏิสนธิกับสเปิร์มก็จะเรียกกระบวนการนี้ว่า ไซโกติกเอ็มบริโอเจเนซิส (Zygotic embryogenesis) ซึ่งพบได้ตามธรรมชาติ การชักนำให้เกิดอวัยวะ (Organogenesis) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารสังเคราะห์ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของกลุ่มออกซิน (Auxin) และไซโตไคนิน (Cytokinin) สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อนำมาเพาะเลี้ยงเจริญและพัฒนากลับไปเป็นตา ต้น หรือรากได้ โดยเจริญเพียงอย่างเดียวอย่างหนึ่ง เช่น ถ้าเกิดต้นจะไม่เกิดราก เมื่อต้องการให้เนื้อเยื่อเกิดรากต้องนำต้นที่ได้ มาเลี้ยงในอาหารใหม่เพื่อชักนำให้เกิดรากต่อไป การชักนำให้เกิดแคลลัส แคลลัส คือ กลุ่มเซลล์พาราเมโซมาที่ยังไม่เปลี่ยนแปลงไปเป็นรากหรือลำต้น โดยจะเกาะกันอยู่อย่างหลวม ๆ เรียกว่า ไพรเอเบิลแคลลัส (Friable callus) หรืออยู่กันอย่างหนาแน่น (Hard callus) แคลลัสมีสีหลายสี เช่น ขาว เหลือง ม่วง แดง และเขียว เป็นต้น ภายในแคลลัสอาจมีเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์ท่อน้ำหรือท่ออาหารก็ได้ ก้อนแคลลัสสามารถเจริญไปเป็นต้นได้ โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น ออกซินและไซโตไคนิน การกระตุ้นให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นต้นพืชอาจเกิดจากเซลล์เพียงหนึ่งเซลล์โดยมีการเจริญไปเป็นรากหรือต้น หรืออาจเกิดจากกลุ่มเซลล์

ข้างเคียงกันโดยกลุ่มเซลล์เหล่านั้นมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นส่วนต่าง ๆ แล้วเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ (มานี เต๋อสกุล, 2550)

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

พีรเดช ทองอำไพ (2529) ได้เรียบเรียงสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังนี้

ออกซิน (Auxins)

เป็นกลุ่มของสารที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ การแบ่งตัวของเซลล์ในแคมเปียม การขยายขนาดของใบ การเกิดราก การขยายขนาดของผล ป้องกันการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล ยับยั้งการแตกตาข้าง ฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นก็คือ IAA โดยสร้างมากที่บริเวณปลายยอด ปลายราก ผลอ่อน และบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญอยู่มาก ปริมาณ IAA ภายในเนื้อเยื่อพืชแต่ละส่วน มีมากน้อยแตกต่างกันไป โดยจะมีอยู่มากในส่วนที่กำลังเจริญเติบโต การรักษาระดับปริมาณ ออกซินภายในเนื้อเยื่อพืชถูกควบคุมโดยระบบการสร้างและการทำลายพร้อม ๆ กันไป ถ้าเป็นเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตจะมีการสร้างมากกว่าการทำลาย และในทางตรงกันข้ามในเนื้อเยื่อที่มีอายุมากขึ้น จะมีการทำลาย มากกว่าการสร้าง สารสังเคราะห์ที่จัดอยู่ในกลุ่มออกซินที่ใช้กันมาก ได้แก่ NAA, IBA, 4-CPA, 2,4-D

ไซโตไคนิน (Cytokinins)

เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช ชะลอการแก่ชราและกระตุ้นการแตกตาข้าง พบมากในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญและในคัพภะ ส่วนใหญ่แล้วไซโตไคนินมีการเคลื่อนย้ายน้อย แต่มีคุณสมบัติสำคัญในการดั่งสารอาหารต่าง ๆ มากมายแหล่งที่มีไซโตไคนินสะสมอยู่ ฮอร์โมนที่พบในพืชได้แก่ Zeatin ส่วนสารสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BAP และ Kinetin

จิบเบอเรลลิน (Gibberellins)

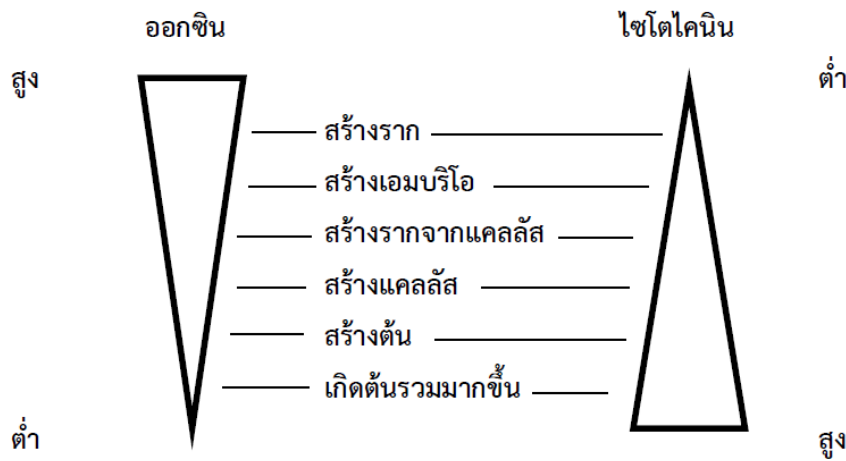
เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการยืดตัวของเซลล์ ทำลายการพักตัวของพืช กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิด และยับยั้งการออกดอกของพืชบางชนิด สารกลุ่มนี้มีทั้งที่พืชสร้างขึ้นเอง และเชื้อราบางชนิดสร้างขึ้น ในปัจจุบันพบ Gibberellin ทั้งหมด 71 ชนิด โดยทุกชนิด เรียกชื่อเหมือนกันคือ Gibberellin A หรือ GA แต่มีหมายเลขตามหลังตั้งแต่ 1 ถึง 71 เช่น GA₃, GA₄, GA₇ สาร GA₃ เป็น Gibberellin ที่นำมาใช้มากทางการเกษตร โดยมีชื่อเรียกเฉพาะ GA₃ ว่า Gibberellic acid พืชสามารถสร้าง GA₃ ได้โดยมีปริมาณน้อยมาก ซึ่ง GA₃ ที่นำมาใช้ทางการเกษตรนั้น ได้มาจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราบางชนิดแล้วสกัด GA₃ ออกมา เนื่องจากปัจจุบันยังไม่สามารถสังเคราะห์ GA ได้ด้วยวิธีทางเคมี

ความสัมพันธ์ระหว่างออกซินและไซโตไคนินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

George & Sherrington (1984 : pp. 397-400) ไซโตไคนินมีอิทธิพลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยทำให้เนื้อเยื่อพืชเกิดการแบ่งเซลล์และพัฒนาไปเป็นอวัยวะต่าง ๆ หากสัดส่วนของออกซิน สูงกว่าไซโตไคนิน จะทำให้เนื้อเยื่อพัฒนาไปเป็นราก แต่ถ้ามีสัดส่วนของออกซิน กับไซโตไคนินอยู่ในระดับที่สมดุลกัน จะทำให้เซลล์แบ่งตัวเกิดแคลลัส และหากมีไซโตไคนินสูงกว่า

ออกซินจะทำให้เกิดตาจำนวนมากไม่เกิดราก ซึ่งการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ขึ้นอยู่กับสัดส่วนของออกซินและไซโตไคนิน แต่มีข้อยกเว้นในบางกรณีคือ

- 1) ในการเจริญงอกงามของต้นที่แตกออกมาจากตาข้าง พืชบางชนิดเท่านั้นที่ต้องอาศัยออกซินร่วมกับไซโตไคนิน
- 2) ชักนำให้เกิดแคลลัสในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อาจเกิดขึ้นในอาหารที่มีออกซินสูงโดยไม่มีไซโตไคนิน
- 3) การเกิดสัญญาณ (Morphogenesis) ของพวกพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อาจเกิดในอาหารที่มีออกซินต่ำ หรือไม่มีออกซิน



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ของออกซินกับไซโตไคนิน (George & Sherrington, 1984 : pp. 398)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปิยะพร แสนสุข และนุชมณี สุตดี (2547 : หน้า 31-39) ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัส การกระตุ้นแคลลัสให้เกิดยอด และการชักนำต้นผักชีข้าง ให้เกิดรากโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนและข้อในอาหารสูตร MS ที่มีออกซิน และไซโตไคนิน ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน พบว่าเนื้อเยื่อใบอ่อนและข้อ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 90 เปอร์เซ็นต์ และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การกระตุ้นแคลลัสให้เกิดยอด พบว่าเนื้อเยื่อใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 100% ส่วนเนื้อเยื่อใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA มีความสูงของหน่อ (ต้น) 1.01 เซนติเมตร เนื้อเยื่อข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 90% ส่วนเนื้อเยื่อข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA

4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงของหน่อ (ต้น) เฉลี่ย 1.03 เซนติเมตร การชักนำต้นผักชีข้างให้เกิดราก พบว่าอาหารทุกสูตรไม่สามารถชักนำต้นผักชีให้เกิดรากได้

วราพร วีระพลากร (2551 : หน้า 75-84) ได้นำชิ้นส่วนยอดของมะคัง (*Vitex scabra* Wall. Ex Schauer) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 2, 4 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด โดยมีการเกิดยอด 60 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 2.4 ยอด มีความยาวเฉลี่ย 1.29 เซนติเมตร ในทุกสูตรอาหารไม่มีแคลลัสเกิดขึ้น เมื่อนำส่วนยอดของมะคังมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มี sodium sulfate (Na_2SO_4) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ เติมน้ำ 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารทุกสูตรที่มี 2,4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีลักษณะแข็ง เกาะตัวกันแน่น สีขาวปนเขียว และมีแคลลัส เกาะตัวกันหลวม ๆ สีเหลือง ขนาดเล็ก ๆ อยู่ด้านบน

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ (2557 : หน้า 7-14) ได้ศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการชักนำยอดพรหมมีโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีจำนวนยอดพรหมมีได้สูงสุด และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA (0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุด คือ 7.9 ราก เมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนพรหมมีบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด ส่วนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของยอดและอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากสูงสุดอยู่ที่ 18.3 ถึง 24.3 ราก

อรพิน เสละคร (2557 : หน้า 86-93) ได้รายงานผลของ BA (6-Benzyladenine) และ IBA (3-Indolebutyric acid) ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณหน่อและการเกิดรากของยอดผักหวานป่า ในสภาพปลอดเชื้อ โดยตัดยอดผักหวานป่าจากการเพาะเมล็ดในห้องปฏิบัติการ นำมาเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) เติมน้ำ BA ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงบนชั้นที่ให้แสง 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงยอดผักหวานป่าเป็นเวลา 90 วัน สูตรอาหารที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการเพิ่มปริมาณหน่อมากที่สุด คือ 5.4 หน่อต่อชิ้นส่วน ผลของ IBA ต่อการชักนำให้เกิดรากของยอดผักหวานป่าเมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 60 วัน พบว่าชิ้นส่วนผักหวานป่าไม่สามารถเกิดรากใหม่ได้บนอาหารที่เพาะเลี้ยงทุกสูตร

Toshinari Godo et al (2010 หน้า 127-139) ได้ชักนำแคลลัสของ *Lysionotus pauciflorus* ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Gesneriaceae โดยเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA

0.5–2 μM และ เต็ม BA 1 μM จากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 32 μM หรือ zeatin 0.5 μM เพื่อกระตุ้นการเกิดยอดของแคลลัส



ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี