รายงานโครงการวิจัย

เรื่อง

การผลิตสารหอมระเหยของมะลิลาในสภาพปลอดเชื้อ

The Production of Essential Oils from *In Vitro* Culture of Jasmine (*Jasminum sambac* Ait.)

RCH
QK
495
.J44
ส8431ก
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 79723
วัน,เดือน,ปี 11 พ.ย. 2551

สุเม อรัญนารถ
พัชนี เจริญยิ่ง
ภาควิชาพืชสวน
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

b 11903080
i

รายงานผลการวิจัยเสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
โครงการสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
ปี 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin ร่วมกับสภาพในที่มีแสง และสภาพในที่มืด ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา โดยนำชิ้นส่วนกลีบดอกมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 0.5 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มีแสงและสภาพในที่มืด เป็นเวลา 16 สัปดาห์ จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มีแสง สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงที่สุด 56.67 เปอร์เซ็นต์และมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุด 2.36 คะแนน ซึ่งการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด 2.19 กรัม

ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการสะสมและผลิตสารหอมระเหยจากอาหารเพาะเลี้ยงและแคลลัสจากชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา โดยนำชิ้นส่วนกลีบดอกมาเพาะเลี้ยงบนอา หารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 1.0 3.0 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มีแสง เป็นเวลา 16 สัปดาห์ จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนกลีบดอกเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงที่สุด 21.79 เปอร์เซ็นต์ และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด 1.10 กรัม

ศึกษาผลของน้ำมะพร้าว และสารสกัดจากยีสต์ ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา ด้วยการนำชิ้นส่วนกลีบดอกมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อลิตรและ สารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากการศึกษาพบว่าการเติมน้ำมะพร้าว 50 มิลลิลิตรต่อลิตร ชักนำให้ชิ้นส่วนกลีบดอกเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงที่สุด 89.00 เปอร์เซ็นต์ และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด 1.74 กรัม และการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 4.25 คะแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิเคราะห์พบสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงและแคลลัสที่ชักนำได้ ซึ่งพบว่ามีสารในแคลลัสปริมาณมากกว่าในอาหาร โดยแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการผลิตสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ได้ปริมาณมากที่สุด คือ 5.031 และ 3.564 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ

ABSTRACT

Effect of plant growth regulators and light condition on induction of callus and production of some essential oils of jasmine (*Jasminum sambac* Ait.) were studied. Flowers were cultured on Murashige and Skoog (1962) medium supplemented with 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 mg/l 2,4-D and 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 3.0 ,5.0 mg/l kinetin under the light and the dark for 16 weeks. The highest percentage of explants forming callus were 56.67% from medium containing 0.5 mg/l 2,4-D and 5.0 mg/l kinetin under the light and gave highest score of growth which were 2.36 . On the other hand , the maximum weight of callus about 2.19 g were obtained on medium containing 0.5 mg/l 2,4-D and 0.2 mg/l kinetin.

Effect of plant growth regulators on induction of callus and production of some essential oils were studied. Flowers were cultured on Murashige and Skoog (1962) medium supplemented with 0.5 mg/l 2,4-D and 0.1, 0.2, 1.0, 3.0 and 5.0 mg/l kinetin under the light for 16 weeks. The highest percentage of explants forming callus (21.79%) and maximum weight of callus (1.10 g) was achieved from medium supplemented with 0.5 mg/l 2,4-D and 3.0 mg/l kinetin. In contrast, the highest score of growth (1.65) were obtained on medium containing 0.5 mg/l 2,4-D and 0.5 mg/l kinetin.

In addition, the effect of coconut water and yeast extract on induction of callus and production of some essential oils were studied. Flowers were cultured on Murashige and Skoog (1962) medium supplemented with 0.5 mg/l 2,4-D and 5.0 mg/l kinetin with 50 and 100 ml/l coconut water and 50 and 1,000 mg/l yeast extract for 12 weeks. The highest percentage of explants forming callus which were 89.00% and the maximum weight which was 1.74 g were achieved from medium containing 0.5 mg/l 2,4-D and 5.0 mg/l kinetin with 50 ml/l coconut water. On the other hand, the highest score of growth (4.25) were produced from medium containing 0.5 mg/l 2,4-D and 5.0 mg/l kinetin with 50 mg/l yeast extract.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

When the 2 kinds of the aromatic compounds (benzyl acetate and benzyl alcohol) were analyzed from medium and calli by GC/MS. The aromatic compounds were found in all calli but not all media. Calli culture from MS medium supplemented with 0.5 mg/l 2,4-D and 0.1 mg/l kinetin under the light yielded the highest benzyl acetate and benzyl alcohol which were of 5.031 and 3.564 mg/g(fresh weight) respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

คำนิยม IV

สารบัญ..... V

สารบัญตาราง..... VI

สารบัญภาพ..... VIII

คำนำ..... 1

การตรวจเอกสาร..... 4

อุปกรณ์และวิธีการ..... 6

ผลการทดลอง..... 12

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin ร่วมกับสภาพแสง และสภาพในที่มืด ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัส และการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา.....12

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการสะสมและผลิตสารหอมระเหยจากอาหารเพาะเลี้ยงและแคลลัสจากชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา.....40

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ ต่อการเกิดแคลลัส และการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา.....52

วิจารณ์ผลการทดลอง.....61

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....64

เอกสารอ้างอิง.....66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆสภาพในที่มีแสง	14
2	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆสภาพในที่มีแสง	19
3	แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆสภาพในที่มีแสง	21
4	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสภาพแสง สัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8	26
5	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส ในสภาพแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์	27
6	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด	31
7	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด	36
8	แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด	38
9	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8	41
10	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์	42
11	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ	44
12	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ	46
13	แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ	46
14	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสัปดาห์ต่างๆ	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
15	แสดงปริมาณสารเบนซิลแอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงในสัปดาห์ต่างๆ.....	50
16	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	50
17	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าวและ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	54
18	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	54
19	แสดงน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	55
20	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8.....	58
21	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา..... 11

2 แสดงลักษณะของชิ้นส่วนที่พบในขณะทำการทดลอง..... 23

3 แสดงลักษณะแคลลัสแบบละเอียด (friable callus) ที่ชักนำได้ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (กำลัง ขยาย1.9X)..... 23

4 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสภาพแสง สัปดาห์ที่ 4 และ 8..... 28

5 แสดงปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสภาพแสง สัปดาห์ที่ 4 และ 8..... 28

6 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส ในสภาพแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์..... 29

7 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ 8..... 43

8 แสดงปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ 8..... 43

9 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์..... 44

10 แสดงผลรวมปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จาก อาหารเพาะเลี้ยงในวิธีการต่างๆ..... 51

11 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส เมื่ออายุ 16 สัปดาห์..... 51

12 แสดงลักษณะชิ้นส่วนเกิดสีดำบริเวณครึ่งล่าง ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (กำลังขยาย 7.62X)..... 56

13 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดสีน้ำตาล ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (กำลังขยาย 6.42X)..... 56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

14 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และ 8..... 59

15 แสดงปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และ 8..... 59

16 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส เมื่ออายุ 12 สัปดาห์..... 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

มะลิลา (*Jasminum sambac* Ait.) หรือมีชื่ออื่น มะลิ มะลิซ้อน (ภาคกลาง) ข้าวแตก เตียมู มะลิหลวง (ภาคเหนือ) เป็นไม้พุ่มสูง 1-2 เมตร เนื้อไม้แข็งแต่เปราะ หักง่าย ใบออกเป็นคู่ตรงข้ามกัน ใบรูปไข่ยาว 5-10 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่งและตามซอกใบ โคนดอกเป็นหลอด ปลายแยกเป็นกลีบสีขาว มีชั้นเดียว ดอกบานและโรยภายในวันเดียว มีกลิ่นหอม นำไปสกัดน้ำหอมได้ นิยมนำไปลอยในน้ำ ทำให้น้ำดื่มมีกลิ่นหอม ดอกตูมนำมาร้อยเป็นพวงมาลัย ตำรายาไทยใช้ดอกแห้งปรุงยาหอม ขยายพันธุ์โดยการปักชำ ตอนและโน้มกิ่ง (ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2538)

น้ำมันหอมระเหย(essential oils) มีบทบาทต่อมนุษย์ในหลายรูปแบบ ที่ชัดเจนที่สุดได้แก่ บทบาทเป็นสารให้ความหอม แต่ก็มีความสำคัญทัดเทียมกันในแง่ของสารปรุงแต่งรสชาติและยา ความแตกต่างดังกล่าวอาจจะไม่ชัดเจน มีการใช้น้ำหอมเพื่อให้มีผลต่ออารมณ์ มีการใช้ประโยชน์ในสุคนธบำบัดซึ่งมีผลมากขึ้นไปอีก โดยการนำไปใช้ในการใช้ปลอบประโลม ทำให้จิตใจสงบหรือมีผลในการบำบัดต่อผู้ป่วย (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2544) น้ำมันหอมระเหย จากดอกมะลิลามีคุณค่ามายาวนาน มีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรค เป็นยาชูกำลัง ทำให้รู้สึกกระปรี้กระเปร่า ทำให้กล้ามเนื้อผ่อนคลาย เช่นใช้ในการคลอดบุตร สันนิษฐานว่าน้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิลาสามารถช่วยอบอุ่นมดลูกจึงทำให้คลอดได้ง่าย นอกจากนี้ยังช่วยแก้อาการไอแก้จุกเสียด ทำให้ระบบประสาทปลอดโปร่งรวมถึงเส้นเอ็นมีการผ่อนคลายได้ และสามารถบรรเทาอาการปวดศีรษะ โรคข้อเข่า และโรคที่เกี่ยวกับข้อต่อได้ดี (Weiss.1997) นอกจากนี้มีการนำน้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิลาไปใช้ประโยชน์ปรุงอาหารและยาเส้น ในประเทศจีนและอินโดนีเซียนิยมใช้ดอกปรุงแต่งรสชาติ และใช้ประโยชน์ในเภสัชกรรม กล่าวกันว่ามีสรรพคุณกระตุ้นระบบสืบพันธุ์ และบรรเทาความเครียดของกล้ามเนื้อโดยการทำให้เส้นประสาทและเอ็นอบอุ่นและอ่อนตัว ดังนั้นความต้องการดอกมะลิลาในอุตสาหกรรมการสกัดน้ำมันหอมระเหยจึงเพิ่มมากขึ้น การเก็บเกี่ยวดอกมะลิต้องใช้แรงงานมาก ต้องใช้เวลาประมาณ 2 - 5 ชั่วโมง ในการเก็บเกี่ยวดอกมะลิหนัก 1 กิโลกรัม นอกจากนี้จะต้องเก็บเกี่ยวดอกในตอนเช้าตรู่ก่อนที่อุณหภูมิจะสูงเกินไป และต้องใช้ดอกหนัก 1,000 กิโลกรัม ในการผลิตน้ำมันหอมระเหย 0.5 กิโลกรัม เป็นผลให้ราคาของน้ำมันหอมระเหยมีราคาสูงมาก (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2544) น้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิเป็นหัวน้ำหอมที่แพงที่สุดในตลาดโลก เพราะเป็นกลิ่นที่ไม่มีสารเคมีชนิดใดสามารถผลิตเลียนแบบได้ (ประเทืองศรี สินชัยศรีและคณะ. 2530; สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์. 2538) การผลิตน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการผลิตสารในสภาพปลอดเชื้อสามารถผลิตได้มากและเร็วกว่าในธรรมชาติ (ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536;รังสฤษดิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กาวีต๊ะ. 2545) ดังนั้นการทดลองนี้จึงมุ่งศึกษาการผลิตสารหอมระเหยจากดอกมะลิลาในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อผลิตสารหอมระเหยโดยเสียค่าใช้จ่ายที่น้อยกว่าการผลิตจากธรรมชาติ

การตรวจเอกสาร

การหาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัสและให้แคลลัสผลิตน้ำมันหอมระเหยของดอกมะลิลานั้น อิทธิพลของแสงในการเจริญเติบโตและการผลิตสาร เริ่มมีการศึกษากันเพิ่มขึ้น โดยทำการเปรียบเทียบผลที่ได้มาจากพืชชนิดต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยง เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของแหล่งของแสง คุณภาพของแสงและปริมาณของรังสีที่ตกกระทบต่อพื้นที่ แสงไม่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์แสงแต่มีส่วนช่วยในการทำงานของเอมไซม์(enzyme) และการเกิดการพัฒนาทางด้านรูปร่างที่เกี่ยวข้องกับแสง ซึ่งมีผลทางอ้อมต่อการผลิตสารทุติยภูมิ(secondary metabolite)(Ramawat,1999) Botta and Monache (1995) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโอแซจ osage orange (*Maclura pomifera*) และการผลิตฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และสารทุติยภูมิอื่นๆ โดยสามารถสร้างแคลลัสได้เป็นจำนวนมากจากลำต้น ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1 mg/l และ kinetin 0.5 mg/l ซึ่งเก็บในที่มืด และนำมาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว พบว่ามีการผลิตฟลาโวนอยด์ และสารทุติยภูมิอื่นๆได้เป็นจำนวนมากกว่าการผลิตในธรรมชาติ Figueiredo et al. (1995) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อyarrow (*Achillea millefolium* L.ssp. millefolium) เพื่อผลิตน้ำมันหอมระเหย โดยการเพาะเลี้ยงส่วนใต้ใบเลี้ยง (hypocotyls) บนอาหาร B5 ร่วมด้วย 2,4-D 1.5 mg/l และ kinetin 0.1 mg/l ในที่มืด พบว่าสามารถชักนำให้มีการสร้างแคลลัสได้และเมื่อนำไปเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวในสภาพมืดเช่นเดียวกัน มีการสร้างน้ำมันหอมระเหย ในปริมาณมาก Furuya and Yoshikawa (1991) ศึกษาการผลิตวิตามิน E โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ของคำฝอย(*Carthamus tinctorius* L.) พบว่าอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1 mg/l และ kinetin 0.1 mg/l เก็บในที่มืดสามารถชักนำให้ตาดอกเกิดแคลลัสได้ดี เกิดแคลลัสได้ในเวลา 3-4 สัปดาห์ และแคลลัสที่ได้มีการสร้างวิตามิน E ด้วย Goleniowski and Silva (1993) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออัลทามิสซา (altamisa) (Ambrosia tenuifolia Spreng) และการผลิตซิโลสเตคิไอโนไลด์ (psilostachyinolides) โดยเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D และ kinetin ในที่มืด สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ภายใน 2 เดือน และมีการผลิตสารซิโลสเตคิไอโนไลด์ในปริมาณที่มากกว่าการผลิตจากพืชทั้งต้น Murooka and Cho (1993) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแตงกวา (*Cucumic sativus* L.) และการผลิตแอสคอร์เบท ออกซิเดส (ascorbate oxidase) โดยการชักนำแคลลัสจากเปลือกเมล็ดในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1.125 mg/l และ BA 0.225 mg/l ในที่มืด พบว่ามีการผลิต แอสคอร์เบท ออกซิเดสได้ในปริมาณที่มาก และมีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลดปล่อยลงในอาหารเมื่อนำมาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว Qi (1995) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออะการ์วูด (agarwood) (Aquilaria species) และการผลิตสารบางชนิด โดยเพาะเลี้ยงลำต้นในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 4 mg/l และ kinetin 0.2 mg/l พบว่าสามารถชักนำลำต้นให้เกิดแคลลัสได้จำนวนมากและเมื่อนำแคลลัสไปเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวที่ร่วมกับสารสกัดจากเชื้อรา (fungal extract) ในสภาพมืด มีการสร้างสารหอมบางชนิดขึ้น Reichling and Beiderbeck (1991) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคาร์โมมายล์ (chamomile) (Chamomilla recutita (L.) Rauschert) และการผลิตสารทุติยภูมิ โดยการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากราก ยอด และดอกของคาร์โมมายล์ในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1 mg/l และ kinetin 1 mg/l ในที่มืดซึ่งแคลลัสที่เพาะเลี้ยงได้จากดอกมีอัตราการเจริญสูงสุดและมีการผลิตน้ำมันหอมระเหยได้ในปริมาณมากที่สุด (ประมาณ 0.06%ของน้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีการสะสมของน้ำมันหอมระเหยหลังจากมีการแทนที่ 2,4-D และ kinetin ด้วยน้ำมะพร้าว 100 ml/l จึงเห็นได้ว่าสภาพแสงและสภาพมืดมีผลต่อการเจริญชักนำให้เกิดแคลลัส และช่วยในการผลิตสารทุติยภูมิซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากพืชจัดว่าเป็นสารทุติยภูมิชนิดหนึ่ง

การหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากแคลลัสดอกมะลิลา ปัจจุบันน้ำหอมกลิ่นมะลิลาเป็นน้ำหอมที่มีราคาแพงที่สุดในโลก เพราะเป็นกลิ่นที่ไม่มีสารเคมีชนิดใด สามารถผลิตเลียนแบบได้ (สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์. 2537) ด้วยสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพื่อการผลิตสารทุติยภูมิในสภาพปลอดเชื้อ นอกจากอาหารพื้นฐานเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ การเติมอาหารเสริมอื่นๆ (yeast extract, malt extract, coconut water) ซึ่งไม่ทราบส่วนประกอบที่แน่นอนก็มีส่วนในการผลิตสารหอมระเหย วุ้นปกติที่ใช้ในอาหารแข็งและความเข้มข้นมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ และมีการสร้างสารทุติยภูมิบางชนิดลงบนวุ้นด้วย เช่น ในยาสูบ(Ramawat,1999) จึงจำเป็นต้องหาปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสร้างน้ำมันหอมระเหยจากแคลลัสดอกมะลิลาให้ได้กลิ่นธรรมชาติและมีปริมาณมากที่สุดโดยวิธีทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

กาญจนา กิระศักดิ์ (2540) ศึกษาอิทธิพลของแร่ธาตุอาหาร น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะลิลาและน้ำมันหอมระเหย พบว่าการเพาะเลี้ยงกิ่งมะลิลาบนอาหาร Murashige and Skoog 1962 (MS) ร่วมด้วย 2,4-D 3 mg/l ร่วมกับ kinetin 3 mg/l สามารถพัฒนาให้แคลลัสมะลิลาเพิ่มน้ำหนักได้ดีที่สุด Charlwood and Charlwood (1991) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจอราเนียม (geranium) (Pelargonium spp.) และการผลิตอะโรมาติก คอมเพานด์ (aromatic compound) โดยทำการเพาะเลี้ยงลำต้นเจอราเนียมในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1 mg/l และ kinetin 0.2 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ภายใน 5-22 วัน และเกิดแคลลัสมากกว่า 90 % ของชิ้นส่วนที่ทำการทดลอง และมีการผลิตน้ำมันหอมระเหยได้ Fujii (1991) ศึกษาการขยายพันธุ์และการผลิตโพโดฟิลโลทอกซิน (podophyllotoxins) ในสภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลอดเชื้อ โดยการเพาะเลี้ยงลำต้นของ Podophyllum spp. ในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1 mg/l และ kinetin 0.2 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่เกาะตัวกันแน่น (hard callus) และชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ และมีการผลิตโพโดฟิลโลทอกซินได้จากรากฝอย He et al. (1995) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Pinellia ternata Breit. และการผลิตอัลคาลอยด์ และสารทุติยภูมิอื่น ๆ โดยเพาะเลี้ยงส่วนของใบเลี้ยงในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 2 mg/l และkinetin 0.5 mg/l พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ภายใน 10 วัน มีสีเหลืองเข้มและมีการผลิตอัลคาลอยด์ (alkaloid)ได้ในปริมาณมาก Ishikura et al. (1983) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Perilla spp. และการผลิต คาเฟอิก เอซิด (caffeic acid) โดยทำการเพาะเลี้ยงใบอ่อน พบว่าแคลลัสที่ได้ มีการสร้างคาเฟอิก เอซิดเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1 mg/l และkinetin 0.1 mg/l Kawaguchi et al. (1976) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแย้มปีนัง (Strophanthus spp.) และการผลิตคาร์ดีโนไลด์ (cardenolides) โดยทำการเพาะเลี้ยงใบ ลำต้น ตาดอก ในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1 mg/l และkinetin 0.1 mg/l ในที่มืดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนมีการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสได้ดี แต่แคลลัสที่ได้ไม่มีการผลิตคาร์ดีโนไลด์ Tamura et al. (1993) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไทม์ (thym) (Thymus valgaris (L.))และการผลิตสารทุติยภูมิ ซึ่งสามารถชักนำแคลลัสได้จากส่วนใบของต้นไทม์ในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1 mg/l และ kinetin 1 mg/l เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แคลลัสที่ได้มีสีเขียวและสีเหลือง และแคลลัสแต่ละสีให้สารประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่แตกต่างกัน Viel et al. (1993) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์แซมเปียน (white campion) (Silene alba) และกระบวนการทางชีวภาพในการผลิตเบนไซล์ไอโซควิโนไลน์ อัลคาลอยด์(benzylisoquinoline alkaloids) โดยทำการเพาะเลี้ยงก้านดอก (flower stalks) ของไวท์ แซมเปียน ในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 0.1 mg/l และ kinetin 1 mg/l ซึ่งแคลลัสที่ได้มีการเจริญเติบโตได้ดี สามารถนำไปเพิ่มปริมาณได้ในอาหารเหลว และมีการผลิตอัลคาลอยด์ ซับสเตรท (alkaloid substrates) Tomada *et al.* (1976) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ให้กลิ่นหอม โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะลิลา (Jasminum sambac Ait.) โดยใช้กลีบดอก ใบ และลำต้นในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1 mg/l และสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) 1,000 mg/l ให้แสง16 ชั่วโมง/วัน สามารถชักนำทุกชิ้นส่วนให้เกิดแคลลัส ซึ่งแคลลัสที่ได้มีสีเขียวและสีน้ำตาลอ่อน ที่มีการผลิตสารหอมบางชนิดเช่น เบนซิล อะซีเทต (benzyl acetate) ได้ และ Zhang and Cheng (1993) ศึกษาการเพิ่มจำนวนและการผลิตน้ำมันหอมระเหย ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของการ์เดน โลเวจ (garden lovage) (Levisticum officinale Koch.) พบว่าชิ้นส่วนลำต้น สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่เกาะกันหลวม (friable callus) ได้ภายใน 7 วัน ในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 2 mg/l และ kinetin 0.1 mg/l และ NA 0.5 mg/l เมื่อนำมาเปลี่ยนอาหารMS โดยเติม สารสกัดจากยีสต์ 1,000 mg/l แคลลัสที่ได้มีสีขาวและมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ ขณะที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลลัสที่นำมาเปลี่ยนอาหารMS โดยไม่เติมสารสกัดจากยีสต์ มีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และมีการผลิตน้ำมันหอมระเหยได้ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในการผลิตยา Everitt and Lockwood (1995) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อผักชีลาว (Anethum graveolens L.) และการผลิตน้ำมันหอมระเหย โดยการเพาะเลี้ยงส่วนของใบเลี้ยง (cotyledon) ในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 2 mg/l และ kinetin 0.1 mg/l ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด และปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สร้างได้ สามารถนำไปใช้ในการค้าได้ และในขณะเดียวกันเมื่อทำการเลี้ยงด้วยอาหาร MS หรือ B5 พบว่าน้ำมะพร้าว 50 ml/l มีผลดีต่อการเจริญเติบโตของแคลลัส Reichling and Beiderbeck (1991) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคาร์โมมายล์ (chamomile) (Chamomilla recutita (L.) Rauschert) และการผลิตสารทุติยภูมิ โดยการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากราก ยอด และดอกของคาร์โมมายล์ในอาหาร MS ร่วมด้วย 2,4-D 1 mg/l และ kinetin 1 mg/l ในที่มืดซึ่งแคลลัสที่เพาะเลี้ยงได้จากดอกมีอัตราการเจริญสูงสุดและมีการผลิตน้ำมันหอมระเหยได้ในปริมาณมากที่สุด (ประมาณ 0.06%ของน้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีการสะสมของน้ำมันหอมระเหยหลังจากมีการแทนที่ 2,4-D และ kinetin ด้วยน้ำมะพร้าว 100 ml/l จะเห็นได้ว่าปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin และอาหารเสริมได้แก่ สารสกัดจากยีสต์ และน้ำมะพร้าว มีความสำคัญต่อการสร้างแคลลัสและสารทุติยภูมิ ทั้งทางด้านปริมาณและคุณภาพที่ได้

ประเทืองศรี สินชัยศรีและคณะ (2530) ศึกษาระยะเวลาการเก็บเกี่ยวและกรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมในดอกมะลิลา พบว่าเมื่อนำดอกมะลิลาที่เก็บในเวลา 18.00-19.00 น.สกัดด้วยตัวทำละลายซึ่งสารสกัดที่ได้จากปิโตรเลียม อีเธอร์ ได้ผลผลิตที่มีกลิ่นหอมมากและเป็นที่ยอมรับจากผู้ใช้เมื่อนำไปผลิตเป็นน้ำหอม บุญส่ง คงคาทิพย์ (2526) ศึกษาการสกัดและวิเคราะห์ทางปริมาณของน้ำมันหอมระเหยจากต้นมะแกว่น โดยสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยปิโตรเลียม อีเธอร์ และโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดด้วยปิโตรเลียม อีเธอร์ จะได้ปริมาณไลโมเนน (limonene) ซึ่งเป็นสารหลักในมันน้ำหอมระเหยจากมะแกว่น จะได้เปอร์เซ็นต์สูงกว่าการกลั่นด้วยไอน้ำเมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วย GC และ NMR เสาวลักษณ์ เพ็ญวิทยาธรรม (2520) ศึกษาการสกัดและคุณสมบัติของน้ำมันจากเมล็ดกระเจี๊ยบ โดยนำเมล็ดกระเจี๊ยบแห้งบดละเอียดสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนและปิโตรเลียม อีเธอร์ ซึ่งค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์น้ำมันกระเจี๊ยบสกัดโดยปิโตรเลียม อีเธอร์ มีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าการสกัดโดยนอร์มอล เฮกเซนเล็กน้อย นอกจากนี้พบว่าน้ำมันกระเจี๊ยบที่ปลูกในประเทศไทยมีคุณสมบัติและคุณภาพของน้ำมันพืชสำหรับบริโภคอีกด้วย และ Rocha et al .(1995) ทำการสกัดสารจากใบและดอกของ Hypericum brasiliense โดยทำการสกัดแยกสารฟลอโรกลูซินอล (phloroglucinols) ด้วยปิโตรเลียม อีเธอร์ ทำการแยกวิเคราะห์สารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบว่าสามารถแยกสารฟลอโรกลูซินอลและสารฟลาโวนอยด์ เช่น แกมป์เฟอร์รอล (kaempferrol) ลูทีโอทิน (luteotin) และเควอซีทิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(quercetin) ได้ ดังนั้นการสกัดและวิเคราะห์สารโดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยสำหรับพืชแต่ละชนิดจำเป็นต้องใช้วิธีการที่จำเพาะแตกต่างกันไป ซึ่งควรเลือกให้เหมาะสมกับสารจุดประสงค์ของงานและความสะดวกในการวิเคราะห์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง คือ ดอกมะลิลาพันธุ์ราษฎร์บูรณะ โดยใช้ดอกที่มีกลีบดอกสีขาว เกือบแย้ม มีขนาดกว้างระหว่าง 1.5 –2.0 เซนติเมตร

2. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ประกอบด้วย กระบอกตวง (cylinder) บีเกอร์ (beakers) ปิเปต (pipette) เครื่องชั่งไฟฟ้า (analysis balance) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ขวดแก้วพร้อมฝาปิด ช้อนตักสาร แท่งแก้วคนสาร ทัพพีตักสารละลาย กระดาษไขนาฬิกาจับเวลา ตะกร้าพลาสติก หนังยาง ถุงพลาสติก

3. เครื่องมือในห้องถ่ายชิ้นส่วน ประกอบด้วย ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ มีดผ่าตัดเล็กพร้อมด้าม ปากคีบ จานแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์ ผ้าขาวบาง บีเกอร์ กระบอกตวง ไฟแช็ค แอลกอฮอล์ 70% และ 95%

4. เครื่องมือที่ใช้ในการสกัดสาร ประกอบด้วย เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) กรวยแยก (separatory funnel) เครื่องเขย่าสาร (shaker) ไมโครเวฟ (microwave oven) ที่วัดอุณหภูมิ (thermometer) ขาตั้ง (stand) โกร่งบดยา แท่งแก้วและขวดเก็บสารตัวอย่าง

5. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร MS (Murashige and Skoog 1962) (ภาคผนวก ก)

6. สารควบคุมการเจริญเติบโต

   2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid)

   kinetin (6-furfurylaminopurine)

7. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย

   ปิโตรเลียม อีเธอร์ (จุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส)

8. อุปกรณ์ในการบันทึกผล

   ไม้บรรทัด กล้องถ่ายรูป เครื่องชั่ง

9. เครื่องวิเคราะห์แบบ Gas Chromatography / Mass Spectrophotometer (GC/ MS)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมอาหาร

1.1 เตรียม stock solution

(1) macroelements ความเข้มข้น 10 เท่า

(2) microelements ความเข้มข้น 100 เท่า

1.2 เตรียมอาหารแข็งสูตรMS 1 ลิตร

1.3 เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

1.4 เติมน้ำตาล 30 กรัม

1.5 ปรับปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

1.6 ปรับ pH 5.5-5.7 ด้วยสารละลาย 1 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ สารละลาย 1 N กรดไฮโดรคลอริก

1.7 เติมวุ้น 8 กรัม

1.8 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาทีและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 2 องศาเซลเซียส

2. การฟอกฆ่าเชื้อ

2.1 การฟอกฆ่าเชื้อกลีบดอกมะลิลา

(1) ฟอกฆ่าเชื้อผิวกลีบดอกด้วยเอทิล แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์นาน 1 นาที ตามด้วย คลอรอกซ์ (clorox) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ ทวีน (tween) 20 2 หยด นาน 15 นาที

(2) ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

3. การสกัดสารจากแคลลัสมะลิลาและอาหารแข็ง

3.1 การสกัดสารจากแคลลัสมะลิลา

(1) แช่แคลลัสในตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเธอร์ ทิ้งไว้ 1 คืน

(2) นำมากรอง และระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

3.2 การสกัดสารจากอาหารแข็งที่เลี้ยงกลีบดอก

(1) ต้มอาหารแข็ง โดยนำอาหารแข็งที่ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก ทำละลายด้วยเตาไมโครเวฟ (microwave oven)

(2) ใส่กรวยแยกเติมปิโตรเลียม อีเธอร์ เขย่าและรอให้สารละลายแยกชั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) นำสารละลายในชั้นของปิโตรเลียม อีเธอร์ ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

4. การวิเคราะห์สารสกัด

นำสารสกัดที่ผ่านการระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC / MS

5. วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin ร่วมกับสภาพในที่มีแสง และสภาพในที่มืด ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลาในสภาพแสง

นำกลีบดอกมะลิลาที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตาม treatment combinations และเก็บไว้ในที่มีแสง 16 ชั่วโมง/วัน วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design มี 24 treatment combinations จำนวน 4 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย ดังนี้

ปัจจัย a คือความเข้มข้นของ 2,4-D มี 4 ระดับ

a1	=	0.5	mg/l
a2	=	1.0	mg/l
a3	=	2.0	mg/l
a4	=	3.0	mg/l

ปัจจัย b คือความเข้มข้นของ kinetin มี 6 ระดับ

b1	=	0.1	mg/l
b2	=	0.2	mg/l
b3	=	0.5	mg/l
b4	=	1.0	mg/l
b5	=	3.0	mg/l
b6	=	5.0	mg/l

การทดลองที่ 1.2 ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลาในสภาพมืด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำกลีบดอกมะลิลาที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตาม treatment combinations และนำไปเก็บไว้ในที่มืดวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design มี 24 treatment combinations จำนวน 4 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย ดังนี้

ปัจจัย a คือความเข้มข้นของ 2,4-D มี 4 ระดับ

a1 = 0.5 mg/l

a2 = 1.0 mg/l

a3 = 2.0 mg/l

a4 = 3.0 mg/l

ปัจจัย b คือความเข้มข้นของ kinetin มี 6 ระดับ

b1 = 0.1 mg/l

b2 = 0.2 mg/l

b3 = 0.5 mg/l

b4 = 1.0 mg/l

b5 = 3.0 mg/l

b6 = 5.0 mg/l

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการสะสมและผลิตสารหอมระเหยจากอาหารเพาะเลี้ยงและแคลลัสจากชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา

นำกลีบดอกมะลิลาที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin โดยเลือกระดับความเข้มข้นและสภาพเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสจากการทดลองที่ 1 มา วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design มี 6 treatments จำนวน 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย

treatment ที่ 1 2,4-D เข้มข้น 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 mg/l

treatment ที่ 2 2,4-D เข้มข้น 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.2 mg/l

treatment ที่ 3 2,4-D เข้มข้น 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 mg/l

treatment ที่ 4 2,4-D เข้มข้น 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 mg/l

treatment ที่ 5 2,4-D เข้มข้น 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 mg/l

treatment ที่ 6 2,4-D เข้มข้น 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 mg/l

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำกลีบดอกมะลิลาที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เข้มข้น 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 mg/l และเก็บไว้ในที่มีแสง 16 ชั่วโมง/วัน โดยเติมสารเสริม 2 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ ตาม treament ที่กำหนดวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 4 treatments จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้

treatment ที่ 1 เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 50 ml/l

treatment ที่ 2 เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 100 ml/l

treatment ที่ 3 เติมสารสกัดจากยีสต์ เข้มข้น 50 mg/l

treatment ที่ 4 เติมสารสกัดจากยีสต์ เข้มข้น 1,000 mg/l

การบันทึกข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส โดยบันทึกทุกสัปดาห์
2. บันทึกการเจริญเติบโตของแคลลัสทุกสัปดาห์ โดยวิธีการให้คะแนน 5 ระดับดังนี้

   คะแนน 1 ชิ้นส่วนตายหรือไม่เกิดแคลลัส (ภาพที่ 1A)

   คะแนน 2 ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสีเหลือง (ภาพที่ 1B)

   คะแนน 3 ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสีขาว กระจายเป็นกลุ่มเล็กๆ (ภาพที่ 1C)

   คะแนน 4 ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสีขาวมีขนาดใหญ่ (ภาพที่ 1D)

   คะแนน 5 ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสีเขียว เขียวอ่อนหรือเขียวเข้ม (ภาพที่ 1E)
3. บันทึกน้ำหนักของแคลลัสทุกเดือน
4. วิเคราะห์หาสารหอมระเหยดอกมะลิลาโดยใช้เครื่อง GC/ MS
5. วิเคราะห์หาสารเบนซิลแอลกอฮอล์
6. วิเคราะห์หาสารเบนซิลอะซีเทต

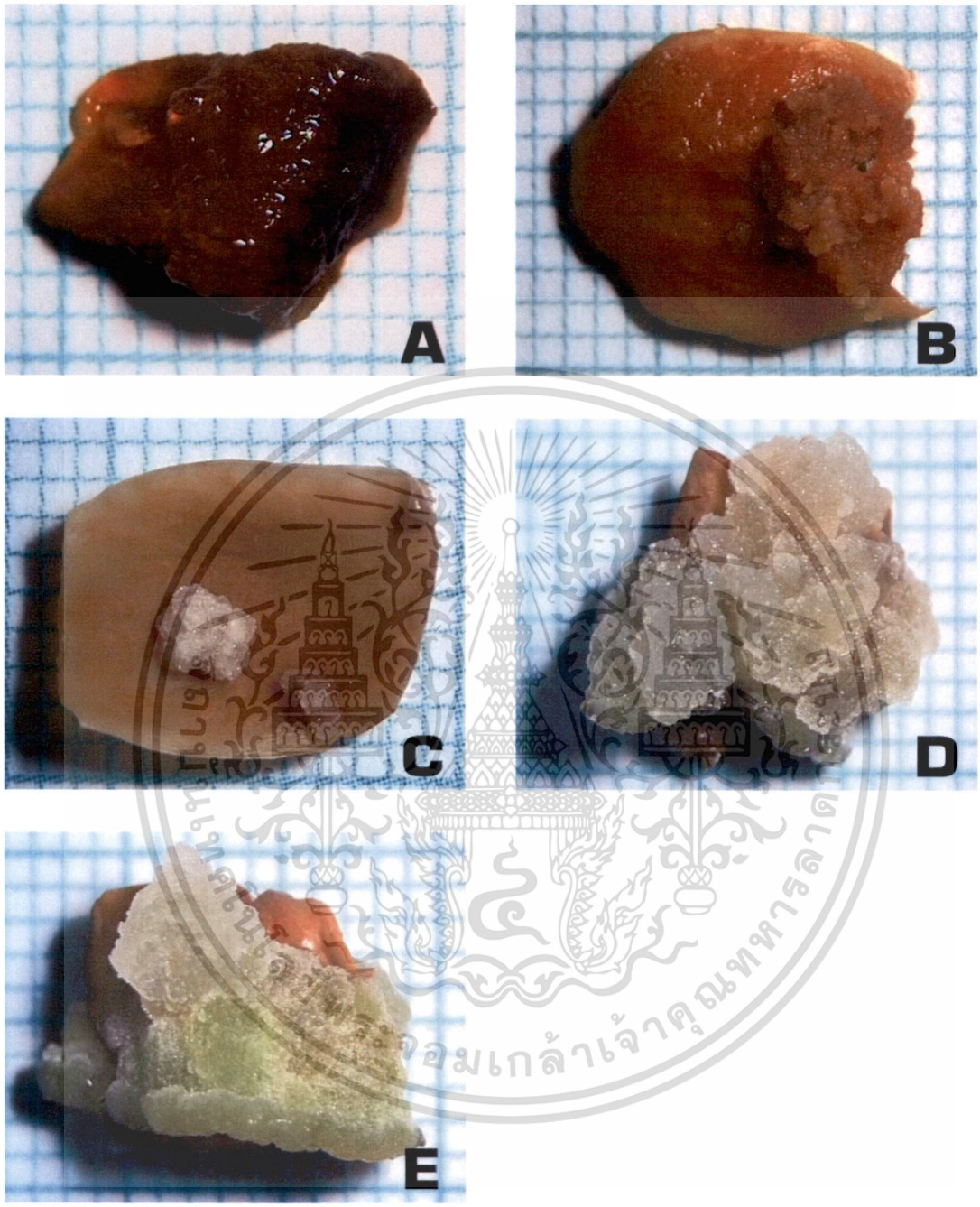
ขั้นตอนและวิธีการในการวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ในระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %และ 99% หาความสัมพันธ์ของปัจจัยโดย Regression Analysis โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา

A แสดงการให้คะแนน 1 คะแนน (กำลังขยาย 4.54X)

B แสดงการให้คะแนน 2 คะแนน (กำลังขยาย 4.54X)

C แสดงการให้คะแนน 3 คะแนน (กำลังขยาย 5.00X)

D แสดงการให้คะแนน 4 คะแนน (กำลังขยาย 4.17X)

E แสดงการให้คะแนน 5 คะแนน (กำลังขยาย 1.79X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin ร่วมกับสภาพในที่มีแสง และสภาพในที่มืด ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา สภาพในที่มีแสง

เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส

จากการนำชิ้นส่วนกลีบดอกมาเพาะเลี้ยง เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D พบว่าเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสในสัปดาห์ที่ 8 4 และ 12 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 1) โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าสูงสุดต่อเนื่องในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 และมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสเพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ ซึ่งมีค่าสูงสุด 20.56 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 16 รองลงมาเป็นการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสคงที่ 3.33 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 12 และในสัปดาห์ที่ 16 ส่วนการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี 2,4-D เข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนไม่มีการเกิดแคลลัสขึ้นเลยตลอดการทดลอง เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ 2,4-D ในแต่ละสัปดาห์ พบว่า มีความสัมพันธ์เป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยในสัปดาห์ที่ 8 เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ 2,4-D มีความสัมพันธ์กันสูง(R=0.617) ซึ่งสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบโพลิโนเมียลยกกำลังสาม(Cubic) คือ $y=23.4480 - 37.9880X + 19.2813X^2 - 3.0747X^3$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสถึง 38.10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสจากความเข้มข้นของ 2,4-D จะมีความคลาดเคลื่อนประมาณ 5.13 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาผลของ kinetin พบว่าเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสในสัปดาห์ที่ 4 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 1) โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าสูงสุด 3.75 เปอร์เซ็นต์ แต่ในช่วงสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าสูงสุดและมีค่าเพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ โดยในสัปดาห์ที่ 16 มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงสุด 19.17 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร 11.25 เปอร์เซ็นต์ โดยในสัปดาห์ที่ 12 และสัปดาห์ที่ 16 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนไม่มีการเกิดแคลลัสขึ้นเลยตลอดการทดลอง และการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าคงที่ที่ 1.67 และ 2.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ kinetin ในแต่ละสัปดาห์ พบว่า มีความสัมพันธ์เช่นเดียวกัน โดยสัปดาห์ที่ 16 เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ kinetin มีความสัมพันธ์กันต่ำ(R=0.478) ซึ่งสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรง (Linear) คือ y = -0.0992+3.4199X การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ kinetin มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส 22.93 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสจากความเข้มข้นของ kinetin จะมีความคลาดเคลื่อนประมาณ 11.74 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่าเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสในสัปดาห์ที่ 8 12 และ 16 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 1) ในสัปดาห์ที่ 4 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงสุด 15.00 เปอร์เซ็นต์ แต่ในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 พบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรMS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าสูงที่สุด โดยในสัปดาห์ที่ 16 มีค่าสูงสุด คือ 56.67 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในแต่ละสัปดาห์ พบว่า ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 ต่อเนื่องไปถึงสัปดาห์ที่ 16 มีความสัมพันธ์เป็นแบบเดียวกัน โดยในสัปดาห์ที่ 8 เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ 2,4-D(X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2) มีความสัมพันธ์กันสูง(R=0.672) ซึ่งสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรง(Linear) คือ $y = 4.9790 - 2.9950\ X_1 + 1.5470X_2$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสถึง 45.10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสจากความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin จะมีความคลาดเคลื่อนประมาณ 4.71 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มีแสง

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส (%) (±SE)[1/]			
		อายุ (สัปดาห์)			
		4	8	12	16
2,4-D	0.5	3.89±2.304a	8.89±3.841a	18.61±8.52a	20.56±9.76a
	1.0	0.28±0.278b	1.67±1.667b	3.33±3.33b	3.33±3.33b
	2.0	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	3.0	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b
F-test		**	**	**	**
Regression		LnsQnsCns	L*Q*C*	LnsQ*C*	L*Q*C*
Kinetin	0.1	0.83±0.83	1.25±1.25bc	1.67±1.67bc	1.67±1.67c
	0.2	0.00±0.00	0.83±0.83bc	2.08±2.08bc	2.08±2.08c
	0.5	0.00±0.00	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00c
	1.0	0.42±0.42	0.83±0.83bc	1.67±1.67bc	1.67±1.67c
	3.0	3.75±3.75	5.00±5.00ab	10.00±10.00b	11.25±11.25b
	5.0	1.25±0.80	7.92±5.15a	17.50±11.81a	19.17±13.36a
F-test		ns	**	**	**
Regression		LnsQnsCns	L*QnsCns	L*QnsCns	L*QnsCns

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส (%) (±SE)[1/] อายุ (สัปดาห์)			
		4	8	12	16
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	3.34±1.93	5.00±3.19cd	6.67±2.72cd	6.67±2.72c
	0.2	0.00±0.00	3.34±1.93cd	8.34±3.85cd	8.34±4.19bc
	0.5	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	1.0	1.67±1.67	3.33±0.00cd	6.67±4.71cd	6.67±4.71cd
	3.0	15.00±6.87	20.00±6.67ab	40.00±14.14ab	45.00±9.57a
	5.0	3.34±1.93	21.67±5.00a	50.00±6.38a	56.67±3.33a
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	0.2	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	0.5	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	1.0	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	3.0	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	5.0	1.67±1.67	10.00±5.77cd	20.00±6.67bc	20.0±6.67b
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	0.2	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	0.5	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	1.0	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	3.0	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	5.0	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	0.2	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	0.5	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	1.0	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	3.0	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
	5.0	0.00±0.00	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.0±0.00d
F- test		ns	**	**	**
Regression		Lns	L**	L**	L**
CV(%)		56.07	65.96	66.46	49.93

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear Q = Quadratic C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตของแคลลัส

จากการนำชิ้นส่วนกลีบดอกมาเพาะเลี้ยง เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D พบว่าคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยในทุกสัปดาห์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 2) โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุดและน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด ซึ่งคะแนนการเจริญ เติบโตเฉลี่ย และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่าเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยทำให้ชิ้นส่วนมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุด ในทุกสัปดาห์ของการทดลอง โดยมีค่าสูงสุด 1.37 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 16 และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด (ตารางที่ 3) ในทุกสัปดาห์ของการทดลองเช่นเดียวกัน โดยในสัปดาห์ที่ 16 หนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด 1.51 กรัม เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและความเข้มข้นของ 2,4-D พบว่า ในสัปดาห์ที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและระดับความเข้มข้นของ 2,4-D มีความสัมพันธ์กัน(R=0.560) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบโพลิโนเมียลยกกำลังสาม (Cubic) คือ $y=1.4280-0.6467X+0.3447X^2-0.0547X^3$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D จะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 32.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยจะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.108 คะแนน และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยและระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ในแต่ละสัปดาห์ พบว่า ทุกสัปดาห์น้ำหนักเฉลี่ยไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ 2,4-D

เมื่อพิจารณาผลของ kinetin ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงที่สุดและน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด 1.03 คะแนน และ 0.38 กรัม ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงที่สุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 2) โดยมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด 1.47 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 16 และมีผลทำให้น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 8 และ 12 มีค่ามากที่สุด 0.55 กรัมและ 0.39 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนไม่สามารถชักนำแคลลัสได้ตลอดการทดลอง(ตารางที่2) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและความเข้มข้นของ kinetin พบว่า ในสัปดาห์ที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและระดับความเข้มข้นของ kinetin มีความสัมพันธ์กัน(R=0.567) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบโพลิโนเมียลยกกำลังสาม(Cubic) คือ $y=1.4280-0.6847X+0.3447X^2-0.0547X^3$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ kinetin จะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 32.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์คะแนนการเจริญเติบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โตเฉลี่ย จะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.108 คะแนน และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย และระดับความเข้มข้นของ kinetin ในแต่ละสัปดาห์ พบว่า ทุกสัปดาห์น้ำหนักเฉลี่ยไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ kinetin

เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่าคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยในทุกสัปดาห์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 2) ในสัปดาห์ที่ 4 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุด 1.57 คะแนน และมีผลทำให้น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด 1.12 กรัมด้วย โดยน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัย สำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) ซึ่งในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย มีค่าสูงที่สุด 2.36 คะแนน และในสัปดาห์ที่ 16 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากสุด 2.19 กรัม เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 ต่อเนื่องถึงสัปดาห์ที่ 16 มีความสัมพันธ์เป็นแบบเดียวกัน โดยในสัปดาห์ที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-D (X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2) มีความสัมพันธ์กันสูง(R=0.676) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง(Linear) คือ $y=1.1680-0.1070X_1+0.0631X_2$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin จะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยถึง 45.80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยจะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.178 คะแนน และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยและความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ในสัปดาห์ที่ 8 น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยกับระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย2,4-D(X_1)ร่วมกับ kinetin (X_2) มีความสัมพันธ์กันสูง(R=0.679) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง(Linear) คือ $y=0.6140-0.2940X_1+0.0739X_2$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin จะมีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยถึง 46.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยจะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.361 กรัม

จากการสังเกตพบว่าเมื่อชิ้นส่วนอายุ 1-3 สัปดาห์ ชิ้นส่วนกลีบดอกมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น โดยชิ้นส่วนมีการเปลี่ยนสีจากสีขาวนวลไปเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาลอ่อน ชิ้นส่วนเริ่มมีสีน้ำตาลเมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์ และชิ้นส่วนส่วนใหญ่จะมีสีน้ำตาลเข้มมากขึ้น ซึ่งบางส่วนกลายเป็นสีดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปจนถึงสัปดาห์ที่ 16 และพบลักษณะบางใส และเหี่ยว (ภาพที่ 2) ได้ในทุกวิธีการ ชิ้นส่วนมีการเกิดแคลลัสได้ และเกิดแคลลัสในบางวิธีการ โดยสามารถชักนำแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
79723

ได้ในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง แคลลัสที่ชักนำได้ส่วนมากเกิดบริเวณขอบด้านล่างของชิ้นส่วนที่อยู่ในวุ้น แคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นจุดเล็ก ๆ มีสีขาว หรือสีเหลืองอ่อน ขนาดประมาณ 1 – 2 มิลลิเมตร และพบการเกิดแคลลัสได้ที่บริเวณโคนของชิ้นส่วน โดยมีลักษณะเป็นก้อนกลมขนาดเล็ก ซึ่งส่วนมากมีสีเหลืองอ่อน แคลลัสที่ได้มีการเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) (ภาพที่ 3) แคลลัสในช่วงอายุ 8 และ 12 สัปดาห์ มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยแคลลัสมีการขยายขนาดและเปลี่ยนสี ส่วนมากมีการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองไปเป็นสีขาว แต่มีแคลลัสบางส่วนที่เปลี่ยนจากสีเหลืองหรือสีขาวไปเป็นแคลลัสที่มีสีเขียวได้ และในสัปดาห์ที่ 12 แคลลัสบางส่วนเริ่มเกิดสีน้ำตาลบริเวณด้านบน พบเป็นจำนวนมากในแคลลัสที่มีสีขาว ซึ่งแคลลัสเกิดสีน้ำตาลเป็นบริเวณกว้างขึ้นเมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปจนอายุ 16 สัปดาห์

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์จากอาหารเพาะเลี้ยงสภาพในที่มีแสง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสูตร MS ที่มี 2-4,D เข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มีแสง โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสัปดาห์ที่ 4 มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด โดยมีสารเบนซิล อะซีเทต 0.088 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และมีสารเบนซิล แอลกอฮอล์ 0.011 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต มากที่สุด 0.177 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 4) ในสัปดาห์ที่ 4 และในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต มากที่สุด 1.214 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 4) และพบว่าปริมาณของสารเบนซิล อะซีเทตในสัปดาห์ที่ 8 ส่วนใหญ่มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น จากสัปดาห์ที่ 4 (ภาพที่ 4) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและระดับความเข้มข้นของทั้ง 2 ปัจจัย 2,4-D (X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2) มีความสัมพันธ์กัน (R=0.571) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง (Linear) คือ $y=-0.0181+0.02144X_1+0.0070X_2$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin จะมีผลต่อปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตถึง 32.60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์ปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตจะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.036 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ สภาพในที่มีแสง

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย (คะแนน) (±SE)[1/]			
		อายุ (สัปดาห์)			
		4	8	12	16
2,4-D	0.5	1.14±0.09a	1.17±0.08a	1.31±0.15a	1.37±0.21a
	1.0	1.00±0.00b	1.03±0.03b	1.09±0.09b	1.09±0.09b
	2.0	1.00±0.00b	1.00±0.00b	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	3.0	1.04±0.00b	1.00±0.00b	1.00±0.00b	1.00±0.00b
F-test		**	**	**	**
Regression		LnsQnsCns	L*Q*C*	L*QnsCns	L*Q*Cns
Kinetin	0.1	1.03±0.03ab	1.04±0.04b	1.04±0.04b	1.05±0.05b
	0.2	1.00±0.00b	1.02±0.02b	1.06±0.06b	1.06±0.06b
	0.5	1.00±0.00b	1.00±0.00b	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	1.0	1.01±0.01b	1.01±0.01b	1.01±0.01b	1.01±0.01b
	3.0	1.14±0.14a	1.05±0.13b	1.09±0.09b	1.09±0.09b
	5.0	1.02±0.02ab	1.19±0.04a	1.37±0.24a	1.47±0.32a
F-test		*	**	**	**
Regression		LnsQnsCns	L*Q*C*	L*Q*Cns	L*Q*Cns

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ)

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย (คะแนน) (±SE)[1/] อายุ (สัปดาห์)			
		4	8	12	16
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	1.11±0.11b	1.15±0.09bc	1.17±0.08c	1.18±0.07bcd
	0.2	1.00±0.00b	1.06±0.05bcd	1.25±0.14bc	1.25±0.14bcd
	0.5	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00d	1.00±0.00d
	1.0	1.05±0.05b	1.05±0.05cd	1.05±0.05c	1.05±0.05cd
	3.0	1.57±0.28a	1.18±0.06bc	1.37±0.23bc	1.38±0.23bc
	5.0	1.07±0.06b	1.55±0.08a	1.98±0.37a	2.36±0.29a
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	0.2	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	0.5	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	1.0	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	3.0	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	5.0	1.02±0.02b	1.20±0.11b	1.51±0.17b	1.51±0.17b
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	0.2	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	0.5	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	1.0	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	3.0	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	5.0	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	0.2	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	0.5	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	1.0	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	3.0	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
	5.0	1.00±0.00b	1.00±0.00d	1.00±0.00c	1.00±0.00d
F- test		**	**	**	**
Regression		Lns	L*	L**	L**
CV(%)		12.36	7.18	18.53	16.17

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear Q = Quadratic C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มีแสง

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย (กรัม) (±SE)[1/]			
		อายุ (สัปดาห์)			
		4	8	12	16
2,4-D	0.5	0.50±0.19a	0.88±0.20a	1.07±0.23a	1.51±0.32a
	1.0	0.01±0.01b	0.14±0.14b	0.02±0.02b	0.03±0.03b
	2.0	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	3.0	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b
F-test		**	**	**	**
Regression		LnsQnsCns	L*Q*C*	L*Q*Cns	L*Q*Cns
Kinetin	0.1	0.08±0.08	0.29±0.29ab	0.37±0.37ab	0.49±0.49
	0.2	0.00±0.00	0.17±0.17b	0.28±0.28ab	0.55±0.55
	0.5	0.00±0.00	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00
	1.0	0.16±0.16	0.23±0.23b	0.23±0.23ab	0.45±0.45
	3.0	0.38±0.38	0.29±0.29ab	0.36±0.36ab	0.37±0.37
	5.0	0.23±0.22	0.55±0.33 a	0.39±0.35a	0.46±0.39
F-test		ns	**	**	ns
Regression		LnsQnsCns	LnsQnsCns	LnsQnsCns	LnsQnsCns

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 (ต่อ)

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย (กรัม) (±SE)[1/]			
		อายุ (สัปดาห์)			
		4	8	12	16
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	0.34±0.25b	1.18±0.37b	1.50±0.77a	1.69±0.36a
	0.2	0.00±0.00c	0.67±0.23bc	1.14±0.32a	2.19±0.64a
	0.5	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.0±0.00b	0.00±0.00b
	1.0	0.64±0.16bc	0.93±0.27bc	0.94±0.55a	1.82±0.53b
	3.0	1.12±0.28a	1.17±0.39a	1.43±0.39a	1.47±0.37a
	5.0	0.89±0.42a	1.36±0.21a	1.45±0.42a	1.64±0.39a
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	0.2	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	0.5	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	1.0	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	3.0	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	5.0	0.04±0.04c	0.86±0.27bc	0.12±0.53a	0.21±0.07b
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	0.2	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	0.5	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	1.0	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	3.0	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	5.0	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	0.2	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	0.5	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	1.0	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	3.0	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	5.0	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
F- test		*	**	*	*
Regression		L*	L**	L**	L**
CV(%)		9.30	11.13	12.96	15.17

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

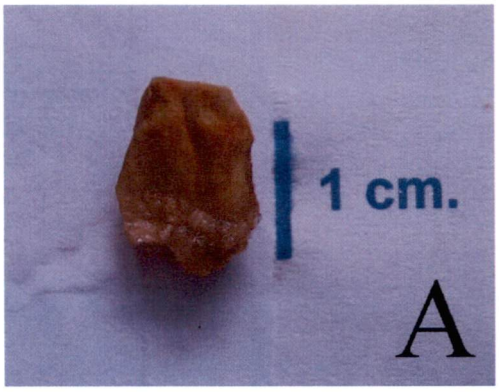
* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

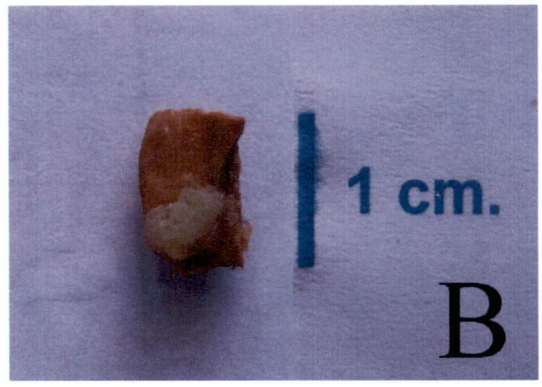
** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear Q = Quadratic C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





ภาพที่ 2 แสดงลักษณะของชิ้นส่วนที่พบในขณะทำการทดลอง A แสดงลักษณะบางใส ได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (กำลังขยาย 2X) B แสดงลักษณะเหี่ยว ได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร(กำลังขยาย 2.2 X)

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะแคลลัสเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0มิลลิกรัมต่อลิตร (กำลัง ขยาย1.9X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสัปดาห์ที่ 8 อาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.013 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 4) ในสัปดาห์ที่ 4 และอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.2 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.001 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดเท่ากัน ในสัปดาห์ที่ 8 (ตารางที่ 4) และจากผลการวิเคราะห์สารพบว่าส่วนใหญ่มีแนวโน้มการสะสมของสารได้ดีในสัปดาห์ที่ 4 (ภาพที่ 5) และสารมีการสลายไปในสัปดาห์ที่ 8 และมีเพียงส่วนน้อยที่พบการสะสมได้ในสัปดาห์ที่ 8 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์และความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์และระดับความเข้มข้นของทั้ง 2 ปัจจัย 2,4-D(X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2) ไม่มีความสัมพันธ์กัน

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากแคลลัสภาพในที่มีแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากแคลลัสที่ชักนำได้ในอาหารสูตร MS ที่มี 2-4,D เข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพแสง พบว่าแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2-4,D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด โดยมีสารเบนซิล อะซีเทต 8.052 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดและมีสารเบนซิล แอลกอฮอล์ 0.450 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 5) และแคลลัสที่ชักนำได้ในทุกวิธีการ สามารถผลิตสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ได้ทั้ง 2 ชนิด และพบว่าปริมาณของสารเบนซิล อะซีเทตที่ผลิตได้มีมากกว่าสารเบนซิลแอลกอฮอล์ (ภาพที่ 6) จากแคลลัสที่ชักนำได้ทุกวิธีการ

แคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2-4,D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซิเทต ที่ผลิตได้มากที่สุด 8.052 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 5) และแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2-4,D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตน้อยที่สุด 0.269 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 5) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิลอะซีเทตและระดับความเข้มข้นของทั้ง 2 ปัจจัย 2,4-D(X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2) ไม่มีความสัมพันธ์กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2-4,D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.907 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 5) และแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2-4,D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิลแอลกอฮอล์น้อยที่สุด 0.050 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 5) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิลแอลกอฮอล์และความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์และระดับความเข้มข้นของทั้ง 2 ปัจจัย 2,4-D(X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2) ไม่มีความสัมพันธ์กัน

การทดลองที่ 1.2 ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลาสภาพในที่มืด

เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส

จากการนำชิ้นส่วนกลีบดอกมาเพาะเลี้ยง เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสในทุกสัปดาห์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 6) โดยมีการชักนำแคลลัสได้ในสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลองและมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงสุด 9.17 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าคงที่ในสัปดาห์ที่ 12 และสัปดาห์ที่ 16 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าคงที่ 0.56 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าคงที่ในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 และไม่มีการเกิดแคลลัสเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ 2,4-D ในแต่ละสัปดาห์ พบว่า มีความสัมพันธ์เช่นเดียวกัน โดยสัปดาห์ที่ 8 เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ kinetin มีความสัมพันธ์กันสูง(R=0.851) ซึ่งสมการของความสัมพันธ์ เป็นแบบโพลิโนเมียลยกกำลังสาม(Cubic) คือ $y = 26.330-46.6017X + 24.9383X^2 - 4.1100X^3$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-Dมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสถึง 72.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนจากความเข้มข้นของ 2,4-D จะมีความคลาดเคลื่อนประมาณ 2.50 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาผลของ kinetin พบว่าทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 6) และสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในทุกๆ วิธีการ โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มีแสง สัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม)			
		สารเบนซิล อะซีเทต		สารเบนซิล แอลกอฮอล์	
		อายุ (สัปดาห์)		อายุ (สัปดาห์)	
		4	8	4	8
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	0.000	0.000	0.000	0.000
	0.2	0.000	0.000	0.000	0.000
	0.5	0.018	0.000	0.013	0.000
	1.0	0.088	0.000	0.011	0.000
	3.0	0.000	0.002	0.003	0.000
	5.0	0.000	0.000	0.000	0.000
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	0.000	0.000	0.000	0.000
	0.2	0.004	0.000	0.000	0.000
	0.5	0.000	0.022	0.000	0.000
	1.0	0.024	0.000	0.005	0.000
	3.0	0.018	0.053	0.002	0.000
	5.0	0.027	0.031	0.005	0.000
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	0.011	0.107	0.000	0.000
	0.2	0.003	0.036	0.000	0.000
	0.5	0.012	0.034	0.000	0.000
	1.0	0.006	0.025	0.000	0.000
	3.0	0.005	1.214	0.000	0.000
	5.0	0.004	0.008	0.000	0.000
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	0.007	0.022	0.000	0.0006
	0.2	0.046	0.011	0.000	0.001
	0.5	0.060	0.040	0.000	0.0006
	1.0	0.066	0.062	0.000	0.000
	3.0	0.078	0.009	0.000	0.001
	5.0	0.177	0.250	0.000	0.000
Regression		L*	Lns	Lns	Lns

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

L = linear

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

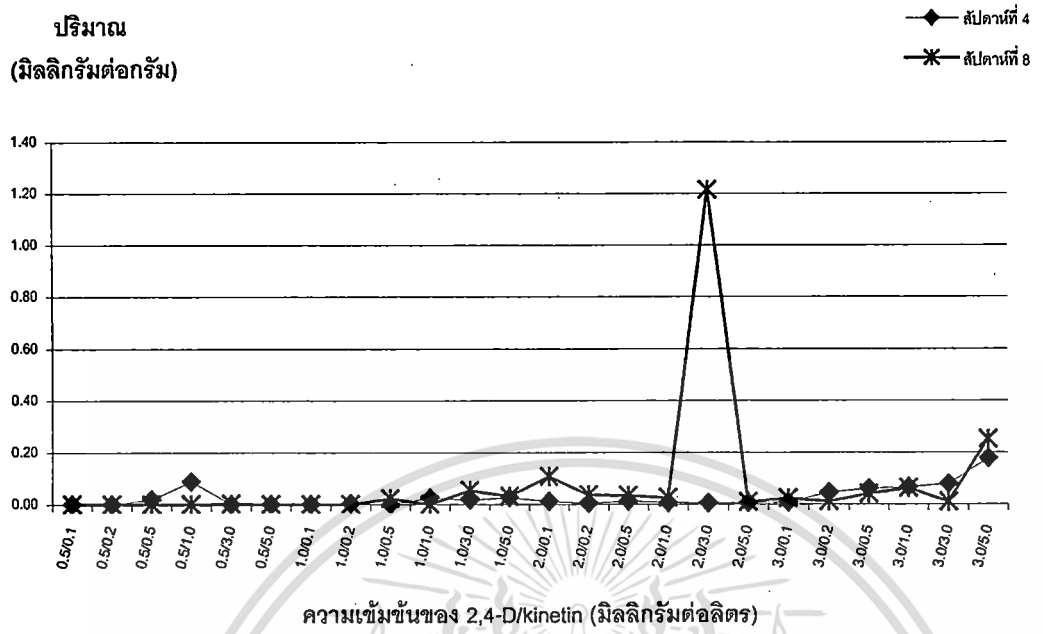
ตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จาก แคลลัส สภาพในที่มีแสง. เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ปริมาณ(มิลลิกรัมต่อกรัม)	
		สารเบนซิล อะซีเทต	สารเบนซิล แอลกอฮอล์
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	0.270	0.050
	0.2	1.945	0.083
	0.5	0.000	0.000
	1.0	8.052	0.450
	3.0	1.621	0.163
	5.0	1.359	0.153
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	0.000	0.000
	0.2	0.000	0.000
	0.5	0.000	0.000
	1.0	0.000	0.000
	3.0	0.000	0.000
	5.0	4.316	0.907
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	0.000	0.000
	0.2	0.000	0.000
	0.5	0.000	0.000
	1.0	0.000	0.000
	3.0	0.000	0.000
	5.0	0.000	0.000
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	0.000	0.000
	0.2	0.000	0.000
	0.5	0.000	0.000
	1.0	0.000	0.000
	3.0	0.000	0.000
	5.0	0.000	0.000
Regression		Lns	Lns

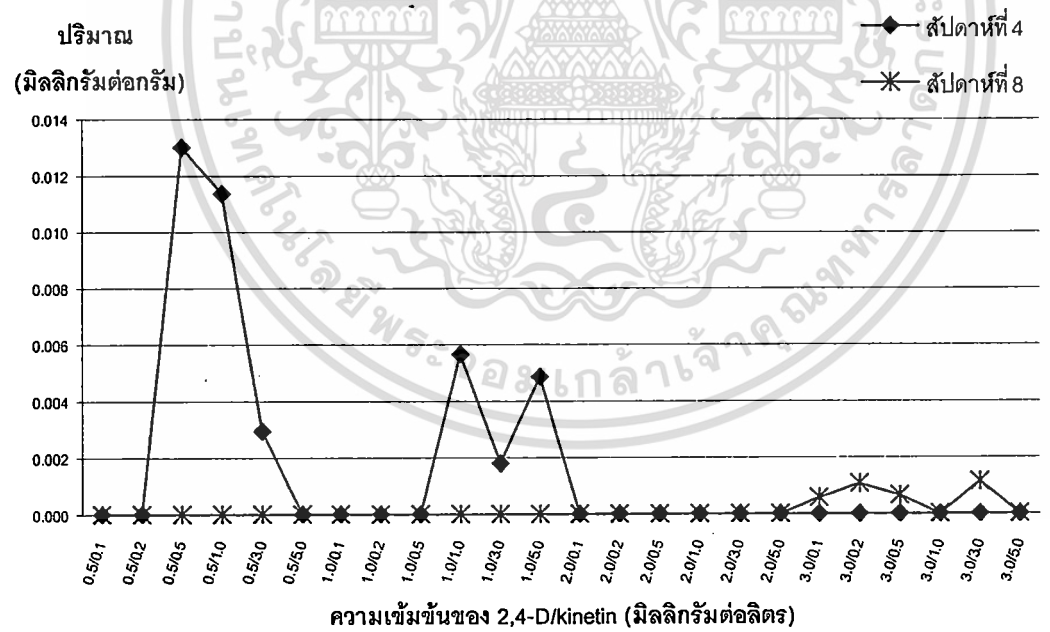
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

L = linear

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

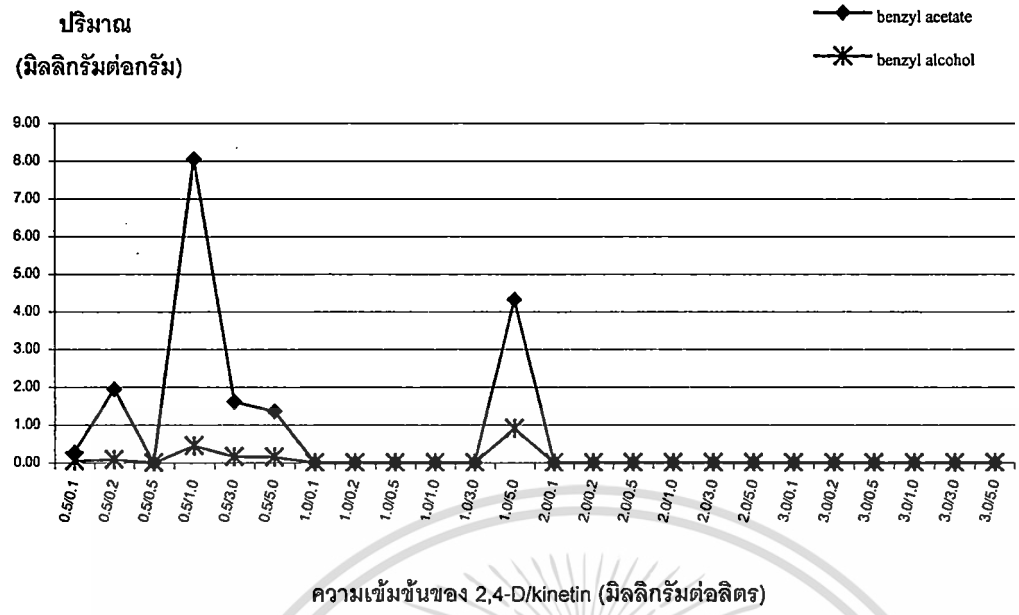


ภาพที่ 4 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มีแสง สัปดาห์ที่ 4 และ 8



ภาพที่ 5 แสดงปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มีแสง สัปดาห์ที่ 4 และ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัสสภาพในที่มีแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

เกิดแคลลัสมากที่สุด 4.17 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 12 และ มีค่าคงที่จนถึงสัปดาห์ที่ 16 จากการสังเกตพบว่าเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 0.5 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสและระดับความเข้มข้นของ kinetin ในแต่ละสัปดาห์ พบว่าทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ kinetin

เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่าเปอร์เซ็นชิ้นส่วนเกิดแคลลัสในทุกสัปดาห์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6) ในสัปดาห์ที่ 8 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่ามากที่สุด 15 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าคงที่ในสัปดาห์ที่ 12 และสัปดาห์ที่ 16 โดยมีค่ามากที่สุด 15.50 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่ามากที่สุด 16.67 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าคงที่ในสัปดาห์ที่ 12 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 จากการสังเกตพบว่าเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าคงที่ตลอดการทดลองเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 0.5 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสและความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 ต่อเนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถึงสัปดาห์ที่ 16 มีความสัมพันธ์เป็นแบบเดียวกัน โดยในสัปดาห์ที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสและระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-D(X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2) มีความสัมพันธ์กันสูง(R=0.612) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง(Linear) คือ $y=6.529-2.7640X_1+0.1770X_2$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin จะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสถึง 37.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสจะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 3.687 เปอร์เซ็นต์

การเจริญเติบโตของแคลลัส

จากการนำชิ้นส่วนกลีบดอกมาเพาะเลี้ยง เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D พบว่าคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยในทุกสัปดาห์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 7) ในสัปดาห์ที่ 8 มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด 1.09 คะแนน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุดต่อเนื่องในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 และมีค่าสูงสุดคงที่ 1.10 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 12 และ 16 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่า 1.01 คะแนน โดยมีค่าคงที่และต่อเนื่องในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 และมีผลทำให้น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด 0.082 กรัม ในสัปดาห์ที่ 16 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 8) และในการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนไม่สามารถชักนำแคลลัสได้เลยตลอดการทดลอง เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและความเข้มข้นของ 2,4-D พบว่า ในสัปดาห์ที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและระดับความเข้มข้นของ 2,4-D มีความสัมพันธ์กันสูง(R=0.812) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบโพลิโนเมียลยกกำลังสาม(Cubic) คือ $y = 1.2737-0.4767X+0.2528X^2-0.0444X^3$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D จะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยถึง 65.92 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยจะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.031 คะแนน และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย และความเข้มข้นของ 2,4-D ในสัปดาห์ที่ 16 พบว่า น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ 2,4-D

เมื่อพิจารณาผลของ kinetin พบว่าทุกสัปดาห์คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7) และชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตได้ในทุกวิธีการ โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุดที่ 1.05 คะแนนและมีค่าสูงสุดต่อเนื่องไปจนถึงสัปดาห์ที่ 16 ซึ่ง มีค่าคงที่ตลอดการทดลอง และในทุกวิธีการ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส เมื่อเพาะชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลาในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ สภาพในที่มืด

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส (%) (±SE)[1/]		
		อายุ (สัปดาห์)		
		8	12	16
2,4-D	0.5	8.75±2.89a	9.17±2.23a	9.17±2.23a
	1.0	0.56±0.56b	0.56±0.56b	0.56±0.56b
	2.0	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b
	3.0	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b
F-test		**	**	**
Regression		L*Q*C*	L**Q**C**	L**Q**C**
Kinetin	0.1	1.67±1.67	1.67±1.67	1.67±1.67
	0.2	2.08±2.08	2.08±2.08	2.08±2.08
	0.5	0.83±0.83	0.83±0.83	0.83±0.83
	1.0	3.54±3.54	4.17±4.17	4.17±4.17
	3.0	3.75±3.75	3.75±3.75	3.75±3.75
	5.0	2.08±1.25	2.08±1.25	2.08±1.25
F-test		ns	ns	ns
Regression		LnsQnsCns	LnsQnsCns	LnsQnsCns

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 (ต่อ)

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส (%) (±SE)[1/]		
		อายุ (สัปดาห์)		
		8	12	16
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	6.67±4.71bc	6.67±4.71bc	6.67±4.71bc
	0.2	8.33±1.66ab	8.33±1.66ab	8.33±1.66ab
	0.5	3.33±3.33cd	3.33±3.33cd	3.33±3.33cd
	1.0	14.17±3.93a	16.67±1.67a	16.67±1.67a
	3.0	15.00±1.67a	15.50±1.67a	15.50±1.67a
	5.0	5.00±3.19bcd	5.00±3.19bcd	5.00±3.19bcd
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	0.2	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	0.5	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	1.0	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	3.0	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	5.0	3.34±1.92bcd	3.34±1.92bcd	3.34±1.92bcd
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	0.2	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	0.5	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	1.0	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	3.0	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	5.0	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	0.2	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	0.5	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	1.0	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	3.0	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
	5.0	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d
F- test		**	**	**
Regression		L**	L**	L**
CV(%)		42.40	40.73	40.73

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear Q = Quadratic C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อลิตร พบว่าน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 8) โดยน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด 0.1273 กรัม ในสัปดาห์ที่ 16 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและความเข้มข้นของ kinetin พบว่า ในสัปดาห์ที่ 16 ความ สัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและระดับความเข้มข้นของ kinetin มีความสัมพันธ์กัน (R=0.556) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบควอดราติก (Quadratic) คือ $y = 1.051-0.0662X+0.0260X^2$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ kinetin จะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยถึง 30.91 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยจะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.200 คะแนน และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยและระดับความเข้มข้นของ kinetin ในสัปดาห์ที่ 16 พบว่า น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ kinetin

เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่าคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 7) ในทุกสัปดาห์ของการทดลอง ซึ่งเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุด 1.18 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 8 และมีค่าสูงสุดต่อเนื่องตลอดการทดลองโดยคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุด 1.19 คะแนน และมีค่าคงที่ ในสัปดาห์ที่ 12 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยมีค่าสูงสุด 0.4935 กรัม ในสัปดาห์ที่ 16 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า มีความสัมพันธ์เป็นแบบเดียวกัน ตลอดการทดลอง โดยในสัปดาห์ที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตและระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-D(X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2) มีความสัมพันธ์กันสูง(R=0.675) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง(Linear) คือ $y=1.1680 -0.1070X_1+0.0631X_2$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin จะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยถึง 45.60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยจะมีค่าความคลาด เคลื่อนประมาณ 0.178 คะแนน และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยและความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในสัปดาห์ที่ 16 พบว่าน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยและระดับความเข้มข้นของทั้ง 2 ปัจจัย 2,4-D ร่วมกับ kinetin ไม่มีความสัมพันธ์กัน

จากการสังเกตพบว่า ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตโดยมีการเกิดแคลลัสบริเวณส่วนโคนและกลางชิ้นส่วน ซึ่งแคลลัสที่ชักนำได้ มีลักษณะเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ เกิดเป็นกลุ่มก้อนขนาดเล็กและมีสีเหลือง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปแคลลัสมีการพัฒนาเป็นสีขาวหรือสีเขียวได้น้อยมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชิ้นส่วนเป็นจำนวนมากไม่มีการพัฒนาให้เห็น และเริ่มกลายเป็นสีน้ำตาล มีการตาย ชิ้นส่วนเปลี่ยน เป็นสีดำ ซึ่งเกิดขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในสัปดาห์ที่ 5 เป็นต้นไป

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์จากอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มืด ที่ใช้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสัปดาห์ที่ 4 มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.151 และ 0.009 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 9) และอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 3.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ อาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพบสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ได้ทั้ง 2 ชนิด และในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 0.5 1.0 3.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบทั้งสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ (ตารางที่ 9) และในสัปดาห์ที่ 8 สามารถพบสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 9)

พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต มากที่สุด 0.165 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 9) ในสัปดาห์ที่ 4 และในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต มากที่สุด 0.313 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 9) พบว่าส่วนใหญ่ปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต ในสัปดาห์ที่ 4 มีแนวโน้มลดลงเมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปในสัปดาห์ที่ 8 (ภาพที่ 7) และพบว่ามีบางวิธีการเกิดการสะสมของสารได้เมื่อสัปดาห์ที่ 8 (ภาพที่ 7) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตกับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-D(X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2) มีความสัมพันธ์กัน(R=0.515) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง(Linear) คือ $y=0.0668-0.0242X_1-0.0015X_2$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin จะมีผลต่อปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตถึง 26.60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตจะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.0415 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.009 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 9) ในสัปดาห์ที่ 4 และอาหารสูตร MS ที่มี 2-4,D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.171 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ในสัปดาห์ที่ 8 (ตารางที่ 9) และพบว่าปริมาณของสารในสัปดาห์ที่ 8 ส่วนใหญ่ เพิ่มมากขึ้นจากสัปดาห์ที่ 4 (ภาพที่ 8) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์กับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์และระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-D(X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2) มีความสัมพันธ์กันต่ำ(R=0.384) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง (Linear) คือ $y=0.0033-0.0014X_1+0.0003X_2$ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin จะมีผลต่อปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ถึง 14.80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์ปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์จะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.0037 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากแคลลัสสภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากแคลลัสที่ชักนำได้ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มืด พบว่าแคลลัสที่ชักนำได้ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้น ที่สามารถผลิตสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ได้ทั้ง 2 ชนิด คือ 6.028 และ 0.615 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 10) แคลลัสที่ผลิตได้ส่วนมากมีการผลิตสารเบนซิล อะซีเทตได้ดีกว่าสารเบนซิล แอลกอฮอล์ (ภาพที่ 8)ปริมาณสารเบนซิล อะซิเทต ที่ผลิตได้จากแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณมากที่สุด 6.028 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด(ตารางที่ 10) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิลอะซีเทตกับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-D(X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย (คะแนน) (±SE)[y]		
		อายุ (สัปดาห์)		
		8	12	16
2,4-D	0.5	1.09±0.02a	1.10±0.03a	1.10±0.03a
	1.0	1.01±0.01b	1.01±0.01b	1.01±0.01b
	2.0	1.00±0.00b	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	3.0	1.00±0.00b	1.00±0.00b	1.00±0.00b
F-test		**	**	**
Regression		L**Q**C**	L**Q**C**	L**Q**Cns
Kinetin	0.1	1.02±0.01	1.02±0.01	1.02±0.01
	0.2	1.02±0.02	1.02±0.02	1.02±0.02
	0.5	1.01±0.01	1.01±0.01	1.01±0.01
	1.0	1.05±0.05	1.05±0.05	1.05±0.05
	3.0	1.04±0.04	1.04±0.04	1.04±0.04
	5.0	1.03±0.02	1.03±0.02	1.03±0.02
F-test		ns	ns	ns
Regression		LnsQnsCns	LnsQnsCns	L**Q**Cns

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 (ต่อ)

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย (คะแนน) (±SE)[1/] อายุ (สัปดาห์)		
		8	12	16
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	1.06±0.06c	1.06±0.06b	1.06±0.06b
	0.2	1.08±0.02bc	1.08±0.02b	1.08±0.02b
	0.5	1.03±0.03c	1.03±0.03b	1.03±0.03b
	1.0	1.18±0.04a	1.19±0.05a	1.19±0.05a
	3.0	1.15±0.02ab	1.16±0.02a	1.16±0.02a
	5.0	1.06±0.02c	1.06±0.02b	1.06±0.02b
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	0.2	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	0.5	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	1.0	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	3.0	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	5.0	1.05±0.03c	1.05±0.03b	1.05±0.03b
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	0.2	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	0.5	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	1.0	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	3.0	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	5.0	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	0.2	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	0.5	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	1.0	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	3.0	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
	5.0	1.00±0.00c	1.00±0.00b	1.00±0.00b
F- test		**	**	**
Regression		L**	L*	L**
CV(%)		3.85	3.95	3.95

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear Q = Quadratic C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงบนอาหารMS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		น้ำหนักแคลลัส/ชิ้นส่วน (กรัม) (±SE)[1/]
		อายุ 16 สัปดาห์
2,4-D	0.5	0.0065±0.0023b
	1.0	0.0822±0.0822a
	2.0	0.0000±0.0000b
	3.0	0.0000±0.0000b
F-test		*
Regression		LnsQnsCns
Kinetin	0.1	0.0007±0.0007b
	0.2	0.0011±0.0011b
	0.5	0.0011±0.0011b
	1.0	0.0001±0.0001b
	3.0	0.0003±0.0027b
	5.0	0.1273±0.1221a
F-test		*
Regression		LnsQnsCns

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 (ต่อ)

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		น้ำหนักแคลลัส/ชิ้นส่วน (กรัม) (±SE)" อายุ 16 สัปดาห์
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	0.0028±0.0011b
	0.2	0.0045±0.0036b
	0.5	0.0646±0.0011b
	1.0	0.0004±0.0003b
	3.0	0.0109±0.0085b
	5.0	0.0159±0.0051b
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	0.0000±0.0000b
	0.2	0.0000±0.0000b
	0.5	0.0000±0.0000b
	1.0	0.0000±0.0000b
	3.0	0.0000±0.0000b
	5.0	0.4935±0.1425a
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	0.0000±0.0000b
	0.2	0.0000±0.0000b
	0.5	0.0000±0.0000b
	1.0	0.0000±0.0000b
	3.0	0.0000±0.0000b
	5.0	0.0000±0.0000b
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	0.0000±0.0000b
	0.2	0.0000±0.0000b
	0.5	0.0000±0.0000b
	1.0	0.0000±0.0000b
	3.0	0.0000±0.0000b
	5.0	0.0000±0.0000b
F- test		**
Regression		Lns
CV(%)		2.59

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

" ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear Q = Quadratic C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 15.777 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์น้อยที่สุด 0.6151 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 10) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์กับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิลอะซีเทตและระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-D(X_1) ร่วมกับ kinetin(X_2)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการสะสมและผลิตสารหอมระเหยจากอาหารเพาะเลี้ยงและแคลลัสจากชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา

เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือและยืนยันผลที่ได้จากการทดลองที่ 1 จึงได้เลือกระดับความเข้มข้นและสภาพที่เหมาะสม ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยมาทดสอบอีกครั้ง

เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสในทุกสัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 11) โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าสูงสุดตลอดการทดลอง โดยมีเปอร์เซ็นต์เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงสุด 15.39 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 8 และมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงสุดคงที่ 21.79 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 12 และในสัปดาห์ที่ 16

จากการสังเกตพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส มีค่าคงที่ในสัปดาห์ที่ 12 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 16 และเป็นเช่นเดียวกันในทุกวิธีการทดลอง โดยชิ้นส่วนไม่มีการสร้างแคลลัสเพิ่มขึ้นอีก เมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 12 สัปดาห์ขึ้นไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม)			
		สารเบนซิล อะซีเทต		สารเบนซิล แอลกอฮอล์	
		อายุ (สัปดาห์)		อายุ (สัปดาห์)	
		4	8	4	8
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	0.025	0.000	0.004	0.017
	0.2	0.051	0.000	0.000	0.001
	0.5	0.029	0.000	0.000	0.000
	1.0	0.030	0.000	0.000	0.000
	3.0	0.151	0.000	0.009	0.016
	5.0	0.034	0.000	0.001	0.007
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	0.077	0.144	0.005	0.004
	0.2	0.000	0.000	0.000	0.012
	0.5	0.165	0.000	0.000	0.001
	1.0	0.000	0.000	0.009	0.000
	3.0	0.020	0.313	0.000	0.000
	5.0	0.014	0.000	0.009	0.000
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	0.000	0.000	0.000	0.000
	0.2	0.000	0.032	0.000	0.000
	0.5	0.000	0.000	0.000	0.000
	1.0	0.000	0.006	0.000	0.000
	3.0	0.000	0.040	0.000	0.000
	5.0	0.000	0.000	0.000	0.000
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	0.000	0.047	0.000	0.000
	0.2	0.000	0.007	0.000	0.000
	0.5	0.000	0.000	0.000	0.000
	1.0	0.000	0.000	0.000	0.000
	3.0	0.000	0.000	0.000	0.000
	5.0	0.000	0.022	0.000	0.000
Regression		L*	Lns	L**	Lns

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

L=Linear

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

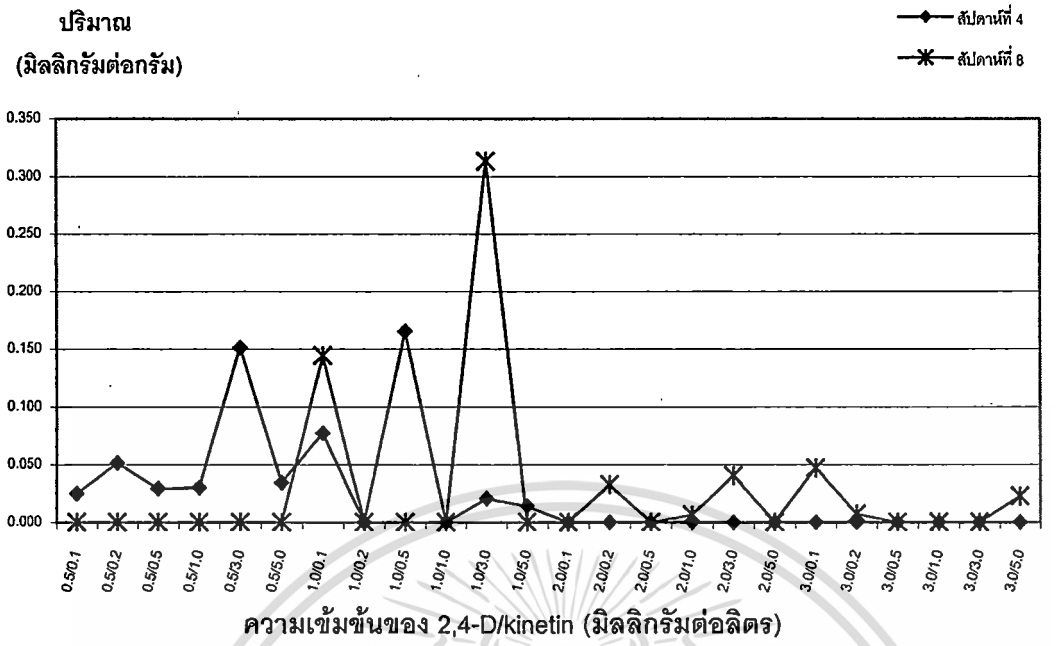
ตารางที่ 10 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส สภาพในที่มืด ในสัปดาห์ที่ 16

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ปริมาณ(มิลลิกรัมต่อกรัม)	
		สารเบนซิล อะซีเทต	สารเบนซิล แอลกอฮอล์
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	0.000	15.777
	0.2	0.000	0.000
	0.5	0.000	5.623
	1.0	0.000	0.000
	3.0	0.000	0.000
	5.0	0.000	0.000
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	0.000	0.000
	0.2	0.000	0.000
	0.5	0.000	0.000
	1.0	0.000	0.000
	3.0	0.000	0.000
	5.0	6.028	0.615
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	0.000	0.000
	0.2	0.000	0.000
	0.5	0.000	0.000
	1.0	0.000	0.000
	3.0	0.000	0.000
	5.0	0.000	0.000
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	0.000	0.000
	0.2	0.000	0.000
	0.5	0.000	0.000
	1.0	0.000	0.000
	3.0	0.000	0.000
	5.0	0.000	0.000
Regression		Lns	Lns

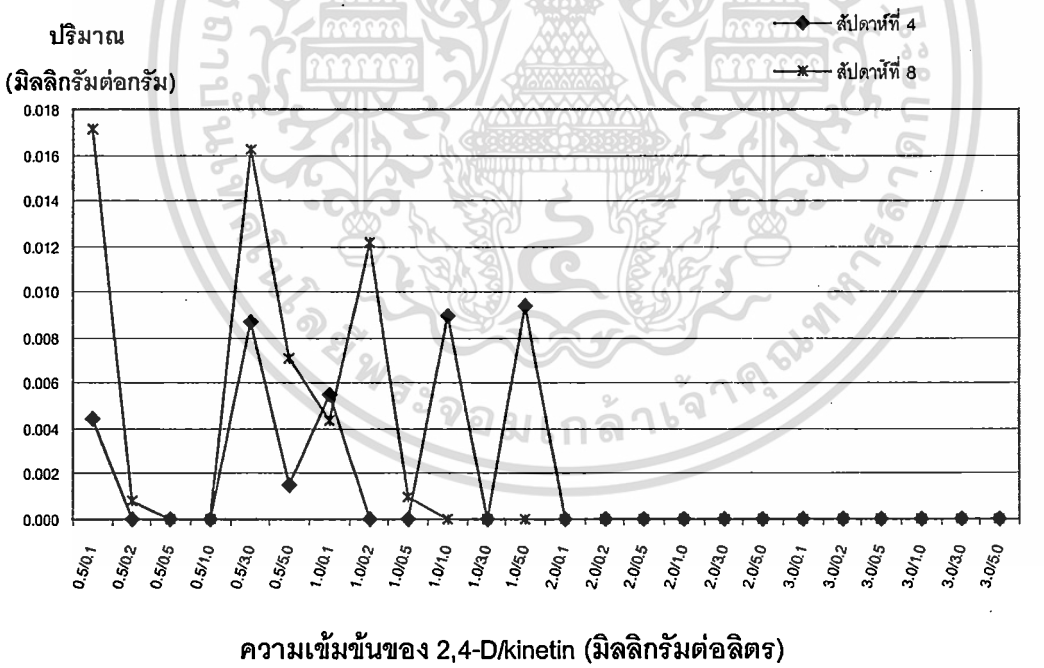
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

L=Linear

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

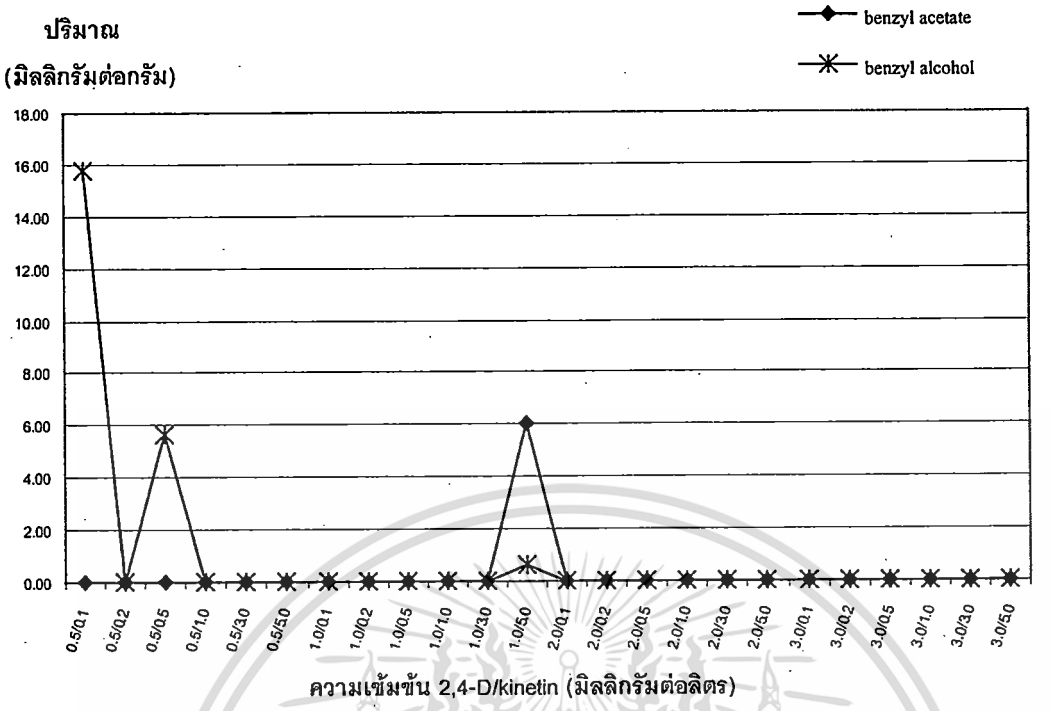


ภาพที่ 7 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ 8



ภาพที่ 8 แสดงปริมาณสารเบน ซิลแอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

ตารางที่ 11 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส (%) (±SE) อายุ (สัปดาห์)		
2,4-D	kinetin	8	12	16
0.5	0.1	6.22±1.46	8.90±2.15	8.90±2.15
0.5	0.2	3.41±1.41	4.60±1.75	4.60±1.75
0.5	1.0	6.08±2.42	8.47±3.35	8.47±3.35
0.5	3.0	15.39±4.68	21.79±7.29	21.79±7.29
0.5	5.0	8.57±2.02	19.89±5.87	19.89±5.87
1.0	5.0	6.84±2.93	8.04±3.73	8.04±3.73
F-test		ns	ns	ns
CV(%)		37.94	45.59	45.58

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตของแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 12 และตารางที่ 13) การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุดและน้ำหนักแคลสัสเฉลี่ยมีค่ามากสุด ในสัปดาห์ที่ 8 และสัปดาห์ที่ 12 โดยคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุด 1.31 และ 1.74 คะแนน และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากสุด 0.11 และ 0.27 กรัม ตามลำดับ ซึ่งน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยยังคงมีค่ามากที่สุดเช่นเดียวกับในสัปดาห์ที่ 16 โดยมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากสุด 1.10 กรัม ซึ่งน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 13)

จากการสังเกตพบว่าชิ้นส่วนเริ่มมีการสร้างแคลลัสได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 และสัปดาห์ที่ 7 ในทุกวิธีการทดลอง ซึ่งมีการสร้างแคลลัสเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นพบได้ทั้งบริเวณด้านล่าง ตรงกลาง และด้านบนของชิ้นส่วน โดยเกิดเป็นจุดเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไปหรือจับตัวเป็นกลุ่มก้อน ซึ่งพบแคลลัสได้ทั้ง 2 ด้านของชิ้นส่วน แคลลัสที่ได้นี้มีการเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) ส่วนใหญ่มักมีสีขาว มีลักษณะใส และในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 12 แคลลัสมีการสร้างสารสีและขยายขนาดเพิ่มขึ้น โดยแคลลัสบางส่วนมีการเปลี่ยนจากสีขาวไปเป็นสีเขียวอย่างเห็นได้ชัดเจน แต่ส่วนใหญ่ยังคงมีสีขาวเหมือนเดิมตั้งแต่ครั้งแรกที่เกิดขึ้น และมีการเพิ่มขนาดมากขึ้นจากเดิมนอกจากนี้ยังพบแคลลัสที่มีสีเหลือง ซึ่งแคลลัสสีเหลืองนี้มักเกิดเป็นกระจุกขนาดเล็ก อยู่บริเวณชิ้นส่วนด้าน ล่างอีกด้วย และในสัปดาห์ที่ 16 แคลลัสยังคงมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้น โดยมีการสร้างแคลลัสเพิ่มขึ้นจากด้านล่างของชิ้นส่วนซึ่งแคลลัสที่เกิดขึ้นใหม่มักจะมีสีขาวเป็นส่วนมาก

พบว่าในสัปดาห์ที่ 14 แคลลัสเริ่มมีสีน้ำตาลเกิดขึ้นบริเวณด้านบน ซึ่งแคลลัสกลายเป็นสีน้ำตาลเริ่มจากด้านบนของแคลลัส และค่อยๆกลายเป็นสีน้ำตาลเรื่อยลงไปยังแคลลัสด้านล่าง โดยมีสีน้ำตาลเกิดขึ้นกระจายไปยังบริเวณโดยรอบของแคลลัส ซึ่งพบได้จากด้านบนของชิ้นส่วนแคลลัสเท่านั้น พบได้ทั้งในแคลลัสที่มีสีขาวและแคลลัสที่มีสีเขียว และเริ่มพบมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 15 เรื่อยไปจนสิ้นสุดการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		คะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน (±SE) อายุ (สัปดาห์)		
2,4-D	kinetin	8	12	16
0.5	0.1	1.15±0.06	1.16±0.07	1.22±0.06
0.5	0.2	1.09±0.23	1.11±0.22	1.16±0.22
0.5	1.0	1.23±0.45	1.27±0.44	1.34±0.43
0.5	3.0	1.31±0.67	1.74±0.60	1.55±0.63
0.5	5.0	1.25±0.94	1.49±0.89	1.65±0.90
1.0	5.0	1.22±1.20	1.23±1.20	1.41±1.16
F-test		ns	ns	ns
CV(%)		9.23	22.40	14.97

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 13 แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		น้ำหนักแคลลัส/ชิ้นส่วน (±SE)[1/] อายุ (สัปดาห์)		
2,4-D	Kinetin	8	12	16
0.5	0.1	0.05±0.24	0.12±0.22	0.35±0.16b
0.5	0.2	0.02±0.49	0.13±0.47	0.35±0.43b
0.5	1.0	0.03±0.74	0.19±0.71	0.45±0.66ab
0.5	3.0	0.11±0.97	0.27±0.93	1.10±0.76a
0.5	5.0	0.09±1.23	0.15±1.21	0.47±1.14a
1.0	5.0	0.03±1.49	0.11±1.47	0.17±1.46ab
F-test		ns	ns	**
CV(%)		2.58	6.15	7.48

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากอาหารเพาะเลี้ยง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสูตรMS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเมื่อ 4 8 12 และ 16 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสัปดาห์ที่ 8 มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ มากที่สุด 0.252 และ 0.305 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 14 และ ตารางที่ 15) พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต มากที่สุด 0.096 และ 0.164 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ในสัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 12 ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า อาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต มากที่สุด 0.252 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และในสัปดาห์ที่ 16 อาหารสูตร MS ที่มี 2-4,D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต มากที่สุด 0.035 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด โดยปริมาณสารเบนซิล อะซิเทตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่14) ในทุกสัปดาห์ของการทดลอง และพบว่าผลรวมปริมาณของสารเบนซิล อะซีเทตในทุกวิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 14) โดยอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณเท่ากันและมีปริมาณมากที่สุด 0.101 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

จากการสังเกตพบว่าปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตในทุกวิธีการทดลอง มีปริมาณมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 8 และทุกวิธีการมีปริมาณลดลงในสัปดาห์ที่ 12 และลดน้อยลงอีกเรื่อยๆ โดยมีปริมาณเบนซิล อะซีเทตน้อยที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 พบว่าผลรวมปริมาณของสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณมากกว่าผลรวมปริมาณของสารเบนซิล อะซีเทต (ภาพที่ 10) ในทุกวิธีการ

ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ มากที่สุด 0.216 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และมีปริมาณลดลงในสัปดาห์ที่ 8 และสัปดาห์ที่ 12 โดยในสัปดาห์ที่ 16 มีปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์น้อยที่สุด 0.021 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เบนซิล แอลกอฮอล์ไปในทิศทางเดียวกัน โดยจะมีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ มากที่สุดในสัปดาห์ที่ 8 และมีปริมาณลดลง ในสัปดาห์ที่ 12 และมีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยมีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์น้อยที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 โดยมีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ 0.080 0.036 และ 0.015 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.163 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และมีปริมาณลดลงจากสัปดาห์ที่ 12 โดยมีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์เพียง 0.061 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ในสัปดาห์ที่ 16 และอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ของการทดลอง โดยมีปริมาณมากที่สุด 0.272 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ในสัปดาห์ที่ 16 ซึ่งปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 15) และผลรวมปริมาณของสารเบนซิล แอลกอฮอล์ในทุกวิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 15) โดยอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณเท่ากันและมีปริมาณมากที่สุด 0.167 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากแคลลัส เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากแคลลัสที่ชักนำได้ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 0.2 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 5.031 และ 3.564 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับและแคลลัสส่วนใหญ่มีการผลิตสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้ในปริมาณที่มากกว่าสารเบนซิล อะซีเทต (ภาพที่ 11) และพบว่าปริมาณสารเบนซิล อะซิเทตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 16) ในทุกสัปดาห์ โดยปริมาณสารเบนซิล อะซิเทต ที่ผลิตได้จากแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณมากที่สุด 5.031 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต น้อยที่สุด 0.994 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด แคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 4.948 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์น้อยที่สุด 1.864 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ซึ่งปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 16) ในทุกสัปดาห์

ตารางที่ 14 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสัปดาห์ต่าง ๆ

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม) (±SE) สัปดาห์				
2,4-D	kinetin	4	8	12	16	ผลรวม
0.5	0.1	0.000 ±0.000	0.252±0.123	0.122±0.032	0.030±0.018	0.101±0.056
0.5	0.2	0.000±0.000	0.111±0.340	0.135±0.030	0.030±0.015	0.069±0.032
0.5	1.0	0.096 ±0.070	0.126±0.089	0.164±0.065	0.018±0.008	0.101±0.031
0.5	3.0	0.000±0.000	0.150±0.028	0.068±0.031	0.011±0.003	0.057±0.034
0.5	5.0	0.008±0.006	0.123±0.050	0.098±0.044	0.024±0.015	0.063±0.028
1.0	5.0	0.004±0.004	0.159±0.039	0.045±0.027	0.035±0.015	0.061±0.034
F-test		ns	ns	ns	ns	ns
CV(%)		2.95	6.49	3.95	1.40	3.41

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 แสดงปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงในสัปดาห์ต่าง ๆ

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม)(±SE) สัปดาห์				
2,4-D	kinetin	4	8	12	16	ผลรวม
0.5	0.1	0.001±0.008	0.305±0.151	0.100±0.029	0.080±0.024	0.122±0.065
0.5	0.2	0.000±0.000	0.131±0.038	0.163±0.024	0.061±0.016	0.089±0.036
0.5	1.0	0.117±0.063	0.131±0.104	0.147±0.047	0.272±0.169	0.167±0.035
0.5	3.0	0.093±0.065	0.215±0.023	0.072±0.033	0.036±0.004	0.104±0.039
0.5	5.0	0.216±0.157	0.102±0.047	0.108±0.043	0.021±0.009	0.112±0.040
1.0	5.0	0.017±0.014	0.185±0.053	0.037±0.019	0.015±0.006	0.064±0.041
F-test		ns	ns	ns	ns	ns
CV(%)		6.82	7.22	3.23	6.18	3.92

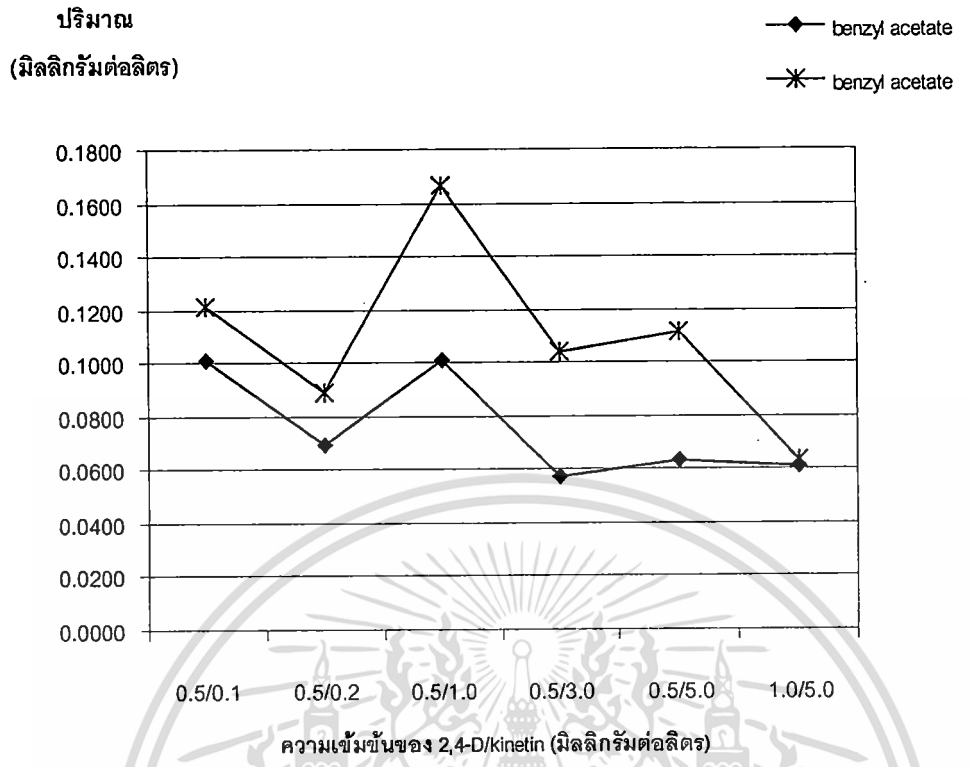
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 16 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

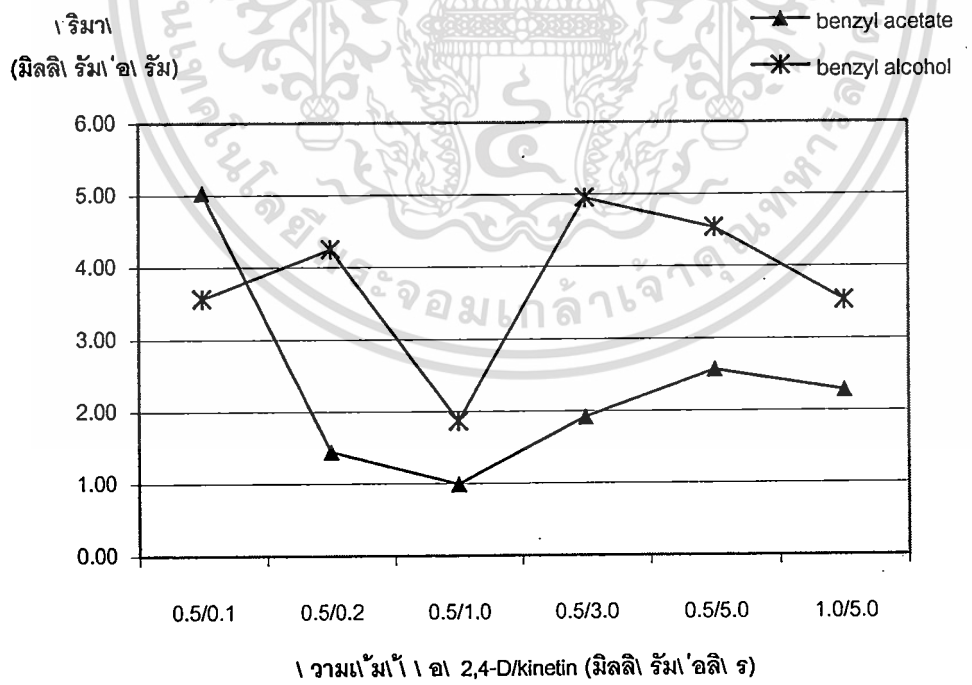
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม)(±SE)	
2,4-D	kinetin	สารเบนซิล อะซีเทต	สารเบนซิล แอลกอฮอล์
0.5	0.1	5.031±1.494	3.564±0.824
0.5	0.2	1.445±0.895	4.248±2.587
0.5	1.0	0.994±0.569	1.864±0.770
0.5	3.0	1.917±1.250	4.948±1.613
0.5	5.0	2.571±0.249	4.536±1.386
1.0	5.0	2.283±1.084	3.530±1.610
F-test		ns	ns
CV(%)		32.74	37.93

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 แสดงผลรวมปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงในสัปดาห์ต่าง ๆ



ภาพที่ 11 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์จากแคลลัสเมื่ออายุ 16 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลาในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าวและสารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆกันพบว่า ทุกสัปดาห์ของการทดลองเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 17) โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงที่สุด 89.00 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 12 และมีค่าสูงสุดตลอดการทดลอง รองลงมาเป็นการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าวเข้มข้น 100 มิลลิลิตรต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส 85.00 และ 78.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าทุกสัปดาห์มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสน้อยที่สุด

จากการสังเกตพบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อลิตร เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าคงที่ในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 12 ซึ่งแตกต่างจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีการเพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ของการทดลอง และการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสได้อย่างรวดเร็ว และมีปริมาณมากที่สุดโดยมีการชักนำแคลลัสได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง

การเจริญเติบโตของแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลาในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าวและสารสกัดจากยีสต์ ในระดับความเข้มข้นต่างๆกัน พบว่าคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 18) ในทุกสัปดาห์ของการทดลอง โดยชิ้นส่วนกลีบดอกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อลิตร มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด และมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดในทุกสัปดาห์ของการทดลอง โดยมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 3.20 3.95 และ 4.25 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 4 8 และ 12 ตามลำดับ ชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลาที่ทำการเพาะเลี้ยงในทุกวิธีการ มีการเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในช่วงหลังสัปดาห์ที่ 4 ไป จนถึงสัปดาห์ที่ 8 คือมีการสร้างแคลลัสเพิ่มขึ้น และแคลลัสมีการพัฒนาได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการสร้างสารสีและขยายขนาดมากขึ้น (ตารางที่ 18 และ 19) และหลังจากสัปดาห์ที่ 8 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 12 พบว่ามีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเช่นกันแต่แคลลัสมีการพัฒนาอย่างช้าๆ โดยมีการสร้างสารสีและขนาดเพิ่มขึ้นอีกเพียงเล็กน้อย และในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าแคลลัสมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดยเริ่มจากด้านบนลงมา ซึ่งพบได้ทั้งจากแคลลัสที่มีสีขาวและสีเขียว นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 19) โดยมีผลทำให้น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด 0.072 กรัม ในสัปดาห์ที่ 4

และการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลาในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนไม่มีการเจริญเติบโตเกิดขึ้น ในสัปดาห์ที่ 4 โดยชิ้นส่วนที่ทำการเพาะเลี้ยงมีลักษณะเป็นสีดำบริเวณครึ่งล่างของชิ้นส่วน (ภาพที่ 12) และชิ้นส่วนไม่มีการสร้างแคลลัส แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปในสัปดาห์ที่ 6 ชิ้นส่วนเริ่มมีการสร้างแคลลัสขึ้น โดยแคลลัสที่ได้นั้นมีลักษณะเป็นก้อนกลม กระจุกตัวกัน ซึ่งส่วนใหญ่มีสีเหลืองหรือสีน้ำตาล แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไป ในสัปดาห์ที่ 8 จนถึง 12 แคลลัสจึงมีการพัฒนาไปเป็นสีขาว มีความใสและกระจายตัวออก บางส่วนมีสีเขียวอ่อนจนถึงสีเขียวเข้ม

นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตได้ดี มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 4 8 และ 12 คือ 2.88 3.94 4.14 และ 2.53 3.40 3.50 คะแนน ตามลำดับ (ตารางที่ 18) โดยแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยง จะมีสีเขียวเป็นส่วนมาก และมีการเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ (friable callus) การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร ในสัปดาห์ที่ 10 พบว่าแคลลัสเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น โดยบริเวณด้านบนของแคลลัสกลายเป็นสีน้ำตาลซึ่งพบได้มากในแคลลัสที่มีสีขาว (ภาพที่13) และเกิดต่อเนื่องไปจนสิ้นสุดการทดลอง และในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร มีผลทำให้น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่าสูงที่สุด 1.74 กรัมและรองลงมา 1.64 กรัม (ตารางที่ 4.19) เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 100 มิลลิลิตรต่อลิตร และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่าเพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ของการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดสาร		เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส (%) (±SE)[1/] อายุ (สัปดาห์)		
		4	8	12
น้ำมะพร้าว	50 ml/l	80.00±1.63a	89.00±1.00a	89.00±1.00a
	100 ml/l	60.00±2.83b	78.00±1.15b	78.00±1.15b
yeast extract	50 mg/l	80.00±3.31a	84.00±1.63ab	85.00±1.91ab
	1,000 mg/l	0.00±0.00c	21.00±3.00c	22.00±3.46c
F-test		**	**	**
CV(%)		7.27	5.50	6.04

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

ตารางที่ 18 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดสาร		คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย (คะแนน) (±SE)[1/] อายุ (สัปดาห์)		
		4	8	12
น้ำมะพร้าว	50 ml/l	2.88±0.09ab	3.94±0.17a	4.14±0.14ab
	100 ml/l	2.53±0.14b	3.40±0.15a	3.70±0.08b
yeast extract	50 mg/l	3.20±0.06a	3.95±0.07a	4.25±0.05a
	1,000 mg/l	1.00±0.00c	1.49±0.13b	1.66±0.15c
F-test		**	**	**
CV(%)		6.03	12.95	8.31

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%และ 99%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 19 แสดงน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดสาร		น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย (กรัม) (±SE)[1/] อายุ (สัปดาห์) 4	8	12
น้ำมะพร้าว	50 ml/l	0.047±0.235a	0.252±0.189	1.74±0.20
	100 ml/l	0.055±0.486a	0.267±0.432	1.64±0.14
yeast extract	50 mg/l	0.072±0.731a	0.262±0.681	1.39±0.21
	1,000 mg/l	0.000±1.000b	0.192±0.956	0.91±0.35
F-test		**	ns	ns
CV(%)		49.60	26.19	33.78

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

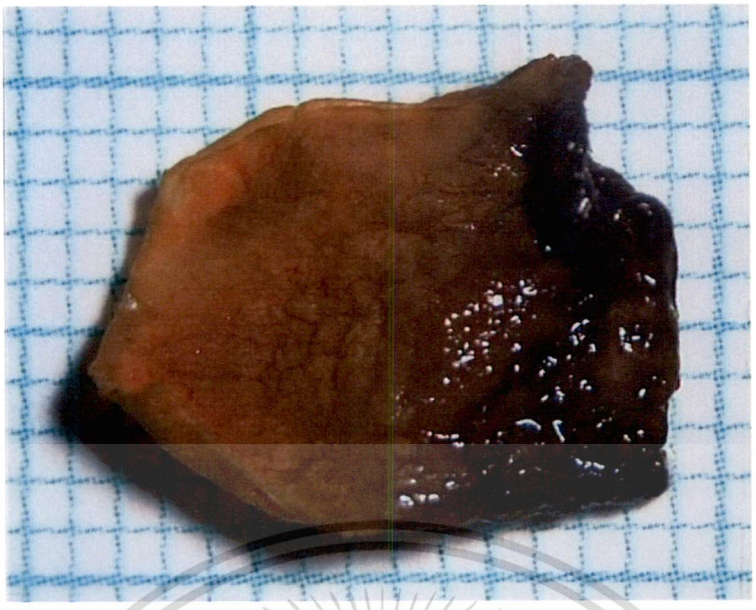
** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

[1/] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%และ 99%

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากอาหารเพาะเลี้ยง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าวและสารสกัดจากยีสต์ ในปริมาณต่างๆที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเมื่ออายุ 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ มากที่สุด 0.026 และ 0.003 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 20) และในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อลิตร และสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบทั้งสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ (ตารางที่ 20) พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงวิธีการเดียวเท่านั้นที่มี สารเบนซิล อะซีเทตและมีปริมาณ 0.263 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 20) (ภาพที่ 14) และอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงวิธีการเดียวเช่นกันที่มีสารเบนซิล แอลกอฮอล์ (ภาพที่ 15) โดยมีปริมาณ 0.003 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 20) ในสัปดาห์ที่ 4 และในสัปดาห์ที่ 8 สามารถพบสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้ในอาหารสูตร ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร (ตารางที่ 20) เพียงวิธีการเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 แสดงลักษณะชิ้นส่วนเกิดสีดำบริเวณครึ่งล่าง ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (กำลังขยาย 7.62X)

ภาพที่ 13 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดสีน้ำตาล ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (กำลังขยาย 6.42X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์จากแคลลัสเมื่ออายุ 12 สัปดาห์

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากแคลลัสที่ชักนำได้ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าวและสารสกัดจากยีสต์ ในปริมาณต่างๆเป็นเวลา 12 สัปดาห์ แคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.183 และ 0.014 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 21) ซึ่งแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถผลิตสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ได้ทั้ง 2 ชนิด และแคลลัสมีการผลิตสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้ในทุกวิธีการ แต่ผลิตสารเบนซิล อะซีเทตได้ในบางวิธีการเท่านั้น (ภาพที่ 16)

แคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซิเทตที่ผลิตได้มากที่สุด 0.183 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณน้อยที่สุด 0.007 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 21)

แคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.014 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 21) และแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร และสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์น้อยที่สุด 0.003 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 21) โดยแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถผลิตได้เพียงสารเบนซิล แอลกอฮอล์เท่านั้น (ตารางที่ 21)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

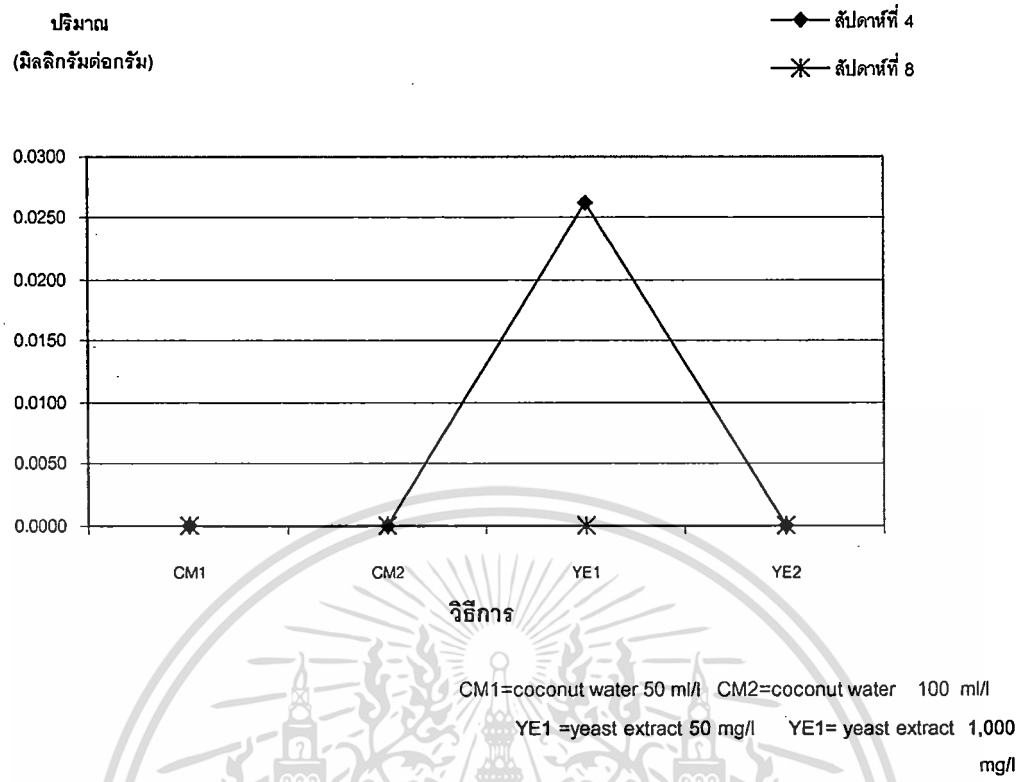
ตารางที่ 20 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8

ชนิดสาร		ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม)			
		สารเบนซิล อะซีเทต		สารเบนซิล แอลกอฮอล์	
		อายุ (สัปดาห์)		อายุ (สัปดาห์)	
		4	8	4	8
น้ำมะพร้าว	50 ml/l	0.000	0.000	0.000	0.003
	100 ml/l	0.000	0.000	0.000	0.000
yeast extract	50 mg/l	0.026	0.000	0.003	0.000
	1,000 mg/l	0.000	0.000	0.000	0.000

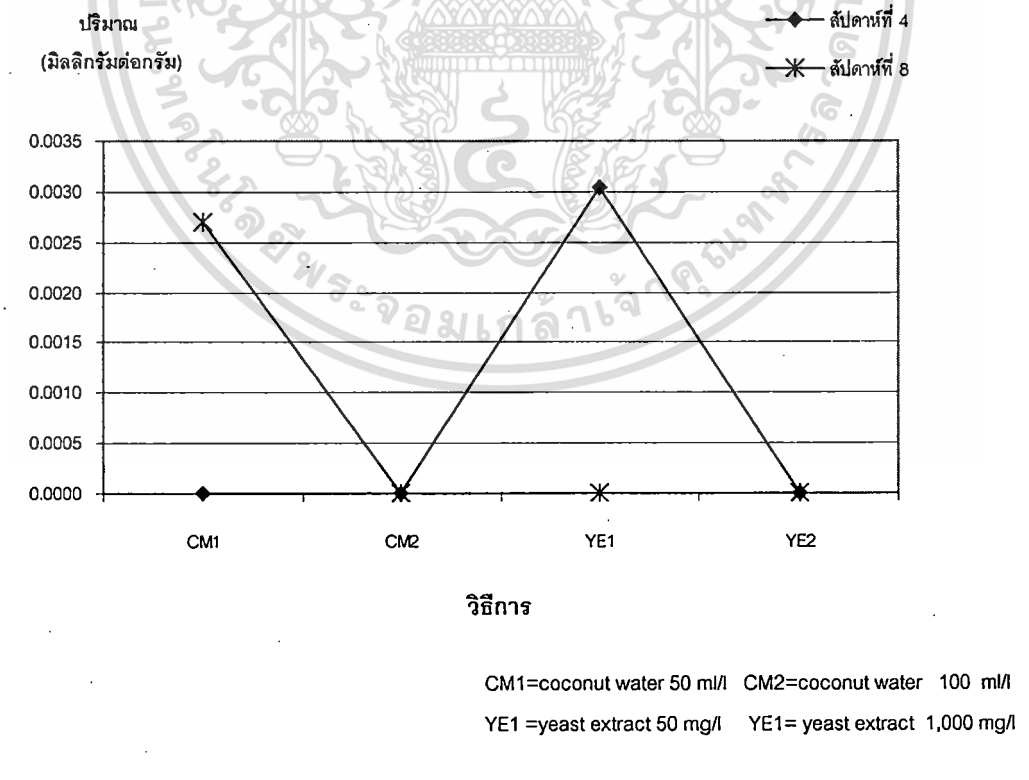
ตารางที่ 21 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

ชนิดสาร		ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม)	
		สารเบนซิล อะซีเทต	สารเบนซิล แอลกอฮอล์
น้ำมะพร้าว	50 ml/l	0.000	0.003
	100 ml/l	0.000	0.006
yeast extract	50 mg/l	0.007	0.003
	1,000 mg/l	0.183	0.014

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

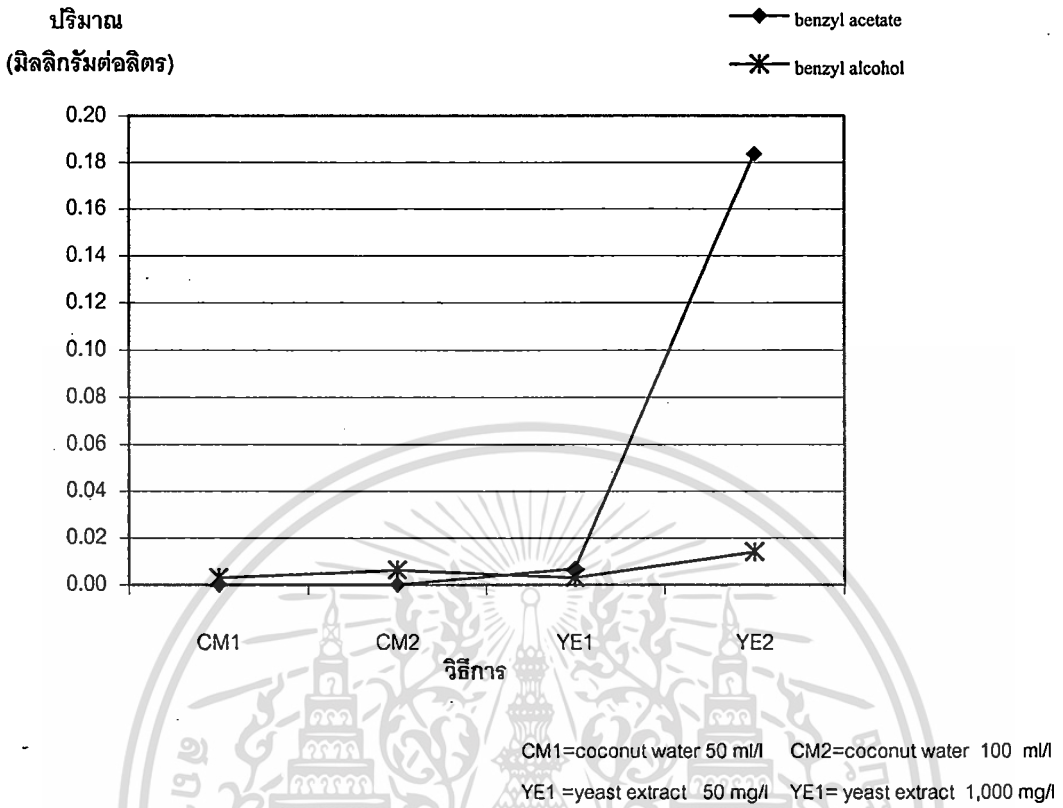


ภาพที่ 14 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และ 8



ภาพที่ 15 แสดงปริมาณและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 16 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยบางชนิดของมะลิลาในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มีแสง สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลาเกิดแคลลัสได้ดี ใกล้เคียงกับการทดลองของ Ágnes *et al.* (1995) ที่สามารถชักนำแคลลัสได้จากเมล็ดของต้นฝอยทอง ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากในการชักนำและพัฒนาของแคลลัสขึ้นอยู่กับสัดส่วนของออกซินและไซโตไคนิน ซึ่งสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 กลุ่มนี้ โดยทั่วไปแล้วถ้าอยู่ในปริมาณที่สมดุล เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงจะมีการพัฒนาไปเป็นแคลลัสต่อไป (ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536: รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. 2545) ซึ่งไซโตไคนินมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเนื้อเยื่อที่มีหรือได้รับออกซินในระดับที่เหมาะสม สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดนี้ มีส่วนร่วมกันในการควบคุมวงจรเซลล์ แต่ออกซินนั้นอาจไปควบคุมการชักนำให้เกิดการจำลองดีเอ็นเอ ในขณะที่ไซโตไคนินไปควบคุมในส่วนชักนำให้เกิดไมโตซิส (รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. 2545) จากผลการทดลองพบว่าชิ้นส่วนกลีบดอกที่เพาะเลี้ยงสภาพในที่มีแสง ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมด้วย kinetin เข้มข้นที่ระดับต่างๆ มีความเหมาะสมในการชักนำให้ชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลาเกิดแคลลัส ได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงในสภาพมืด ซึ่งแคลลัสที่ชักนำได้ในสภาพแสงมีจำนวนมากกว่าและ มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า เนื่องจากแสงมีความจำเป็นต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงพัฒนาทางด้านสัณฐานที่ถูกควบคุมด้วยพันธุกรรม (morphogenic process) (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2545)

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 – 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนไม่มีการเจริญเติบโต เกิดแคลลัสได้น้อย หรือไม่เกิดแคลลัสเลยตลอดการทดลอง โดยชิ้นส่วนกลีบดอกเปลี่ยนจากสีขาวนวลไปเป็นสีน้ำตาลและกลายเป็นสีดำในที่สุด เนื่องจากชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตและระดับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ความเข้มข้นสูง ซึ่ง 2,4-D มีคุณสมบัติเป็นสารกำจัดวัชพืช การใช้ 2,4-D ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจะเป็นประโยชน์แก่พืช แต่ถ้าใช้ในระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไปอาจเป็นพิษแก่เนื้อเยื่อพืชได้ (สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2527)

จากผลการทดลอง พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว ชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ดีกว่าการเติมสารสกัดจากยีสต์ในทุกความเข้มข้น เนื่องจากในน้ำมะพร้าวมีสารเร่งการเจริญเติบโตอยู่หลายชนิด เช่น ซีเอทีน (zeatin) ซึ่งเป็นไซโตไคนินธรรมชาติ ช่วยกระตุ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแบ่งเซลล์ เมื่อนำมาใช้ร่วมกับออกซินจะช่วยกระตุ้นให้แคลลัสเจริญได้ดีขึ้น (ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546) โดยการเติมน้ำมะพร้าวทำให้ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตได้ดีและมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้สูงที่สุด และแคลลัสที่ได้มีน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุด แต่แคลลัสที่ชักนำได้ไม่มีการผลิตสารเบนซิล อะซีเทตและพบสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้เพียงเล็กน้อย เนื่องจากชิ้นส่วนได้นำสารปฐมภูมิมาใช้ในการเจริญเติบโต มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว มีการสร้างแคลลัส ทำให้ไม่มีการสะสมของสารทุติยภูมิ และเกิดการสังเคราะห์สารในปริมาณน้อยมากหรือเกือบจะไม่มีให้เห็น (Ramawat. 1999) ซึ่งแตกต่างจากแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ที่มีการผลิตได้ทั้งสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอกอฮอล์ เช่นเดียวกับการทดลองของ Tomada *et al.* (1976) ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะลิลาจากชิ้นส่วนกลีบดอก กิ่ง ในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแคลลัสที่ชักนำได้มีการผลิตสารเบนซิล อะซีเทตได้ และสอดคล้องกับการทดลองของ Zhang and Cheng (1993) ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นของการ์เดน โลเวจ ซึ่งแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถผลิตน้ำมันหอมระเหยได้

จากผลการวิเคราะห์หาสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอกอฮอล์ จากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วน ทำให้ทราบว่าชิ้นส่วนมีการปลดปล่อยสารที่ผลิตได้ลงสู่อาหารด้วย แต่เมื่อเปรียบเทียบกับแคลลัสแล้วจะพบว่า ปริมาณสารทั้ง 2 ชนิด ที่พบในแคลลัสจะมีปริมาณมากกว่าในอาหารเพาะเลี้ยง เนื่องจากในกลีบดอกมะลิลามีการสร้างและสะสมของสารหอมทั้ง 2 ชนิดนี้ บริเวณเซลล์อิพิเดอมิส (ประเทืองศรี สินชัยศรี. 2537) เมื่อนำกลีบดอกมาเพาะเลี้ยง เซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิตสารหอมมีการเจริญเติบโตและยังมีการผลิตสารหอมได้ ทำให้แคลลัสที่ชักนำได้มีการสะสมของสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ได้ในปริมาณมาก

แคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ มีการผลิตสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ได้ปริมาณมากที่สุด ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ใช้ในการผลิตสาร ใกล้เคียงกับการทดลองของ Ishikura *et al.* (1983) ที่พบว่าแคลลัส มีการผลิตสารคาเฟอิกเอซิดได้ จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ทั้ง 2 ชนิด มีอิทธิพลต่อการผลิตสารทุติยภูมิในพืช โดยมีผลทำให้ปริมาณเพิ่มขึ้นหรือน้อยลง (Ramawat. 1999) และปริมาณของสารทั้ง 2 ชนิดนี้มีมากในอาหารเพาะเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 8 และปริมาณเริ่มลดลงในสัปดาห์ที่ 12 ดังนั้นอาหารเพาะเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 8 มีความเหมาะสมในการนำไปสกัด เนื่องจากชิ้นส่วนอยู่ในระยะการเจริญเติบโตในช่วงสเตชั่นนารี เฟส (stationary phase) ที่มีการสังเคราะห์สารทุติยภูมิเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก โดยเซลล์มีการเจริญเติบโตลดลงมาก ทำให้สารปฐมภูมิทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมดเปลี่ยนมาสังเคราะห์เป็นสารทุติยภูมิแทน และมีการสะสมของสารทุติยภูมิในปริมาณมาก (Ramawat. 1999) และมีการปลดปล่อยลงสู่อาหารจึงพบการสะสมของสารเบนซิล อะซีเทต และพบสารเบนซิล แอกอฮอล์ ในปริมาณมากกว่าในสัปดาห์อื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin ร่วมกับสภาพในที่มีแสง และสภาพในที่มืด ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มีแสง มีความเหมาะสมต่อการเกิดแคลลัส มีการชักนำให้ชิ้นส่วนกลีบดอกเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงที่สุด 56.67 เปอร์เซ็นต์ และคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมากที่สุด 2.36 คะแนน

จากการวิเคราะห์พบสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงและจากแคลลัสที่ชักนำได้จากสภาพในที่มีแสง และสภาพในที่มืด ซึ่งปริมาณที่พบในแคลลัสมีมากกว่าในอาหารเพาะเลี้ยง โดยแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มีแสง มีการผลิตสารทั้ง 2 ชนิดได้ ปริมาณมากที่สุด 8.052 และ 0.450 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ

ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการสะสมและผลิตสารหอมระเหยจากอาหารเพาะเลี้ยงและแคลลัสจากชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา

จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มีแสง สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนกลีบดอกเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงที่สุด 21.79 เปอร์- เซ็นต์และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด 1.10 กรัม

จากการวิเคราะห์พบสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงและแคลลัส ซึ่งปริมาณที่พบจากแคลลัสมีมากกว่าในอาหารเพาะเลี้ยง โดยแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 5.031 และ 3.564 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศึกษาผลของน้ำมะพร้าว และสารสกัดจากยีสต์ ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว 50 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนกลีบดอกเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้น ส่วนเกิดแคลลัสสูงที่สุด 89.00 เปอร์เซ็นต์ และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด 1.74 กรัม ซึ่งการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุด 4.25 คะแนน

จากการวิเคราะห์พบสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงและแคลลัส ซึ่งปริมาณที่พบจากแคลลัสมีมากกว่าในอาหารเพาะเลี้ยง โดยแคลลัสที่ชักนำได้ในอาหารสูตร MS ที่มี 2-4,D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.183 และ 0.014 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

ข้อเสนอแนะ

การนำดอกมะลิลาในช่วงปลายฤดูฝน มาทำการเพาะเนื้อเยื่อจะให้ผลดีกว่า ดอกมะลิลาในช่วงต้นฤดูฝน โดยจะมีการปนเปื้อนของชิ้นส่วนน้อย ชิ้นส่วนชักนำแคลลัสได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนา กิระศักดิ์. 2540. "อิทธิพลของแร่ธาตุอาหาร น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะลิลาและน้ำมันหอมหอมระเหยในสภาพปลอดเชื้อ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย,มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บุญส่ง คงคาทิพย์. 2526. **การสกัดและการวิเคราะห์ทางปริมาณคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยจากต้นมะแกว่น :โครงการวิจัย**: กรุงเทพฯ. ภาควิชาเคมี. มหาวิทยาลัยเกษตร ศาสตร์.

ประเทืองศรี สินชัยศรี. 2537. **มะลิ**. เอกสารพิมพ์แจกในงานวันเกษตรแห่งชาติ. กองการเกษตรเคมี. กรมวิชาการเกษตร.

ประเทืองศรี สินชัยศรี สุรพงษ์ รัตนโกศล รัตนาภรณ์ รัตนานุกูล สรรเสริญ พิริยะธำรง และประเสริฐ อนุพันธ์. 2530. **ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวและกรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมในดอกมะลิบางสายพันธุ์**. ศรีสะเกษ: ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ.ผลงานวิจัยของกองการเกษตรเคมี. กรมวิชาการเกษตร.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536. **เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.

ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2538. **พรรณไม้ในวรรณคดี**. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.

ผกาเวียง ช่อกระถิน. 2545. "การชักนำการสร้างสารสีจากการเพาะเลี้ยงหัวรางเงิน รางทอง และรางนาก (*Hippeastrum* spp.)." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพันธุศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2545. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ:หลักการและเทคนิค**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. อุดรธานี. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2544. **ทรัพยากรพืชในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ลำดับที่ 19 พืชที่ให้น้ำมันหอม**. นนทบุรี : สหมิตรพริ้นติ้ง.

สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2527. **ฮอร์โมนพืช**. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์. 2538. **สรีรวิทยาพืชสวน**. พิมพ์ครั้งที่1. ขอนแก่น : ศิริภัณฑ์ออฟเซ็ท.

Ágnes, B. Miklό, F. Ottό, T. and Miklό, L. 1995. "Plant Regeneration from Seedling-Derived Callus of Dodder (*Cuscuta trifolii* Bab.et Giggs)." **Plant Science**. 109(1) : 95-101.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Botta, B. and Monache, G. D. 1995. "*Maclura pomifera* (Osage Orange) : *In Vitro* Culture and the Formation of Flavonoids and Other Secondary Metabolites." 276-295. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.33, Medicinal and Aromatic Plants VIII.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Charlwood, B. V. and Charlwood, K. A. 1991. "*Pelargonium* spp. (Geranium):*In Vitro* Culture and the Production of Aromatic Compounds." 339-352. In Y.P.S.Bajaj (ed.).**Biotechnology in Agriculture and Forestry,Vol.15,Medicinal and Aromatic Plants III.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Everitt, Z. and Lockwood, G. B. 1995. "*Anethum graveolens* L. (Dill) : *In Vitro* Culture and Metabolism of Volatile Constiuents." 21-35. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.33, Medicinal and Aromatic Plants VIII.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Figueiredo, A. C. Pais, M. S. S. and Scheffer,J. J. C. 1995. "*Achillea millefolium* L.ssp. *millefolium* (Yarrow) : *In Vitro* Culture and Production of Essential Oils." 1-20. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.33, Medicinal and Aromatic Plants VIII.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Fujii, Y. 1991. "*Podophyllum* spp.: *In Vitro* Regeneration and the Production of Podophyllotoxins." 362-375. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.15, Medicinal and Aromatic Plants III.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Furuya, T. and Yoshikawa, T. 1991. "*Carthamus tinctorius* L. (Safflower) Production of Vitamin E in Cell Culture." 142-155. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.15, Medicinal and Aromatic Plants III.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Gamborg, O. L. Miller, R. A. and Ojima, K. 1968. "Nutrient Requirements of Suspension Cultures of Soybean Root Cells." **Exp. Cell Res.** 50 : 151-158.

Goleniowski, M. E. and Silva, G. L. 1993. "*Ambrosia tenuifolia* Spreng (Altamisa) : *In Vitro* Culture and the Production of Psilostachyinoldes." 41-53. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.24, Medicinal and Aromatic Plants V.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

He, Y. K. Lu, T. G. and Sun, C. S . 1995. "*Pinellia ternata* Breit (Chinese name Banhsia) : *In Vitro* Culture and the Production of Alkaloids and Other Secondary Metabolites." 361-375. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.33, Medicinal and Aromatic Plants VIII.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Ishikura, N. Iwata, M. and Mitsui, S. 1983. "The Influence of Some Inhibitors on the Formation of Caffeic Acid in Culture of *Perilla* Cell Suspensions." **Bot. Mag. (Tokyo)** 96:111-120.

Kawaguchi, K. Hirotani, M. and Furuya, T. 1976. "*Strophanthus* species (Member of the Dogbane family) : *In Vitro* Culture and the Production of Cardenolides." 371-386. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.21, Medicinal and Aromatic Plants IV.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. "A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue Culture." **Physio.Plant.** 15 : 473-497.

Murooka, Y. and Cho, H. J. 1993. "*Cucumis sativus* L. (Cucumber) : *In Vitro* Culture and the Production of Ascorbate Oxidase." 148-163.In Y.P.S.Bajaj (ed.).**Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.24, Medicinal and Aromatic Plants V.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Qi, S. Y. 1995. "*Aquilaria* Species: *In Vitro* Culture and Production of Eaglewood (Agarwood)." 36-46. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.33, Medicinal and Aromatic Plants VIII.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Ramawat, K. G. 1999. **Production in Culture : Optimization.** 123-143. In K.G.Rama and J.M.Merillon (ed.). **Biotechnology Secondary Metabolites.** Science Publishers,Inc. India.

Reichling, J. and Beiderbeck, R. 1991. "*Chamomilla recutita*(L.) Rauschert (Chamomile) ; *In Vitro* Culture and the Production of Secondary Metabolites." 156-174. In Y.P.S.Bajaj (ed.).**Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.15, Medicinal and Aromatic Plants III.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rocha, L. A. Marston, O. Potterat, M. Auxilliaora, C. Kaplan, H. and Eans, S. 1995. "Antibacterial Phloroglucinols and Flavonoids from *Hypericum brasiliense*." **Phytochemistry**. 40(5):1447-1452.

Tamura, H. Takebayashi, T. and Sugisawa, H. 1993. "*Thymus vulgaris* L. (Thyme) : *In Vitro* Culture and the Production of Secondary Metabolites." 413-426. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.21, Medicinal and Aromatic Plants IV.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Tomada, G. Matsuyama, J. and Ikubo, H. 1976. "Tissue Culture of Fragrant Plants." **Bull. Fac. Agric. Tamagawa-Univ. Jpn.** 16 : 16-22.

Viel, C. F. Miel, F. M. and Guignard, J. L. 1993. "*Silene alba* (White Campion) : *In Vitro* Culture and Benzylisoquinoline Alkaloids Biotransformation." 326-338. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.15, Medicinal and Aromatic Plants III.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

Weiss, E. A . 1997. **Essential Oil Crops.** Cambridge :UK University Press.

Zhang, S. Y. and Cheng, K. C. 1993. "*Levisticum officinale* Koch (Garden Lovage) Micropopagation and Production of Essential Oils." 229-240. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.24, Medicinal and Aromatic Plants V.** Berlin-Heidelberg : Springer –Verlag.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้