

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตสารหอมระเหยบางชนิดจากแคลลัสของมะลิลา  
ในสภาพปลอดเชื้อ

THE PRODUCTION OF SOME ESSENTIAL OILS FROM  
IN VITRO CALLUS CULTURE OF JASMINE  
(*Jasminum sambac* Ait. )



สรัญญา สมุทรานุภาพ  
SARANYA SAMUTTRANUPHAP

กพ.  
ค 349ก  
2549

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน.....  
วัน,เดือน,ปี.....

b. 11b35b17  
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชสวน

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2549

ISBN 974-15-2480-3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 2006**

**SCHOOL OF GRADUATE STUDIES**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตสารหอมระเหยบางชนิดจากแคลลัสของมะลิลาในสภาพปลอดเชื้อ
ชื่อนักศึกษา	นางสาวสรวิญญา สมุทธานุภาพ
รหัสประจำตัว	44066211
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขา	พืชสวน
พ.ศ.	2549
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.สุเม อรัญนารถ
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

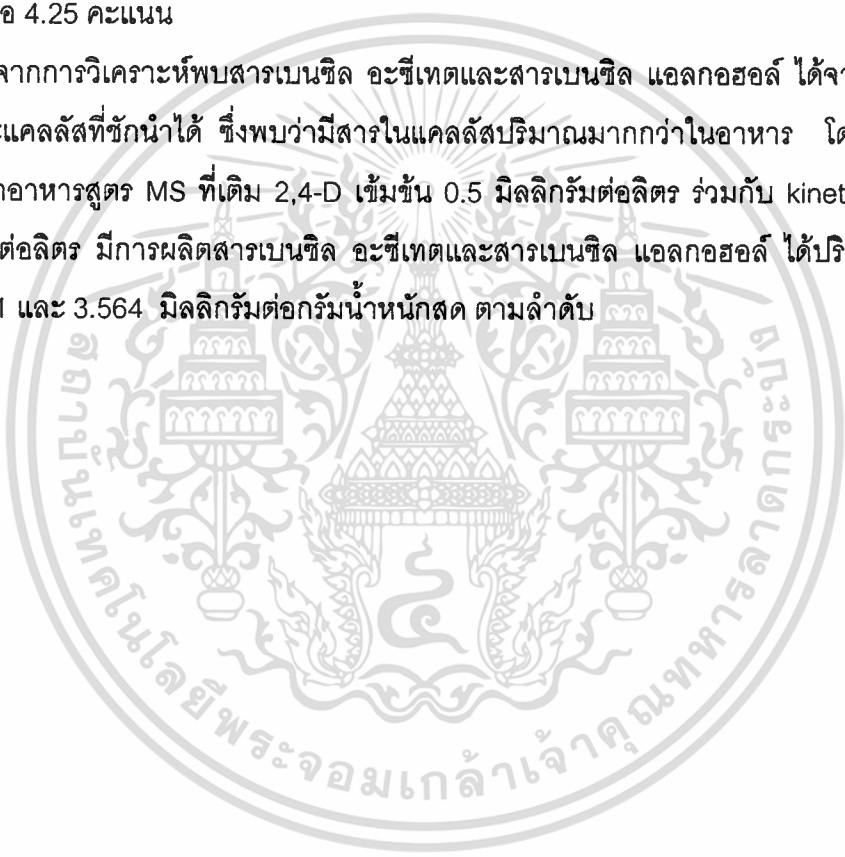
### บทคัดย่อ

ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin ร่วมกับสภาพในที่มืด และสภาพในที่แสง 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 สภาพในที่มืดและสภาพในที่แสง เป็นเวลา 16 สัปดาห์ จากการศึกษาพบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มืด สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงที่สุด 56.67 เปอร์เซ็นต์ และมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุด 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 โดยนำชิ้นส่วนกลีบดอกมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร 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 สภาพในที่มืด เป็นเวลา 16 สัปดาห์ จากการศึกษาพบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร 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

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



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.

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

# กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุเม อรัญนารถ และผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง อาจารย์ผู้ควบคุม  
วิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ แนวทางการแก้ไขปัญหา ในการศึกษาทดลองและตรวจแก้ไข  
วิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ กราบขอบพระคุณ รศ.ดร.วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ และ รศ.ช.ณิฏฐ์ศิริ สุข  
สุวรรณ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและชี้แนะในการเรียบเรียงวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอบคุณ คุณสุนิสา บุญใช้ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาพืชสวน  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้ห้อง  
ปฏิบัติการ

ขอบคุณ คุณมนตรี ไซยะตะญากร คุณจิตเกษม เทียงจิตต์ และคุณภักวดี ภัคดิงาม ที่ช่วย  
แนะนำวิธีการวิเคราะห์ผล regression และอนุเคราะห์อุปกรณ์ถ่ายภาพ

ขอบคุณ คุณอัจฉนา ตระการสกุลวงศ์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการจัดพิมพ์รูปเล่ม  
และตกแต่งภาพ

สุดท้ายนี้กราบขอบพระคุณ คุณแม่สุนันทา คุณพ่อภาณุมาศ และ คุณอามะลิ สมุทรานู  
ภาพ และขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกคนที่เป็นกำลังใจ และสนับสนุนช่วยเหลือ จนวิทยานิพนธ์  
ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณย่าเกี้ยว แซ่จั้งและผู้มี  
พระคุณทุกท่าน

สรัญญา สมุทรานูภาพ

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	XV
คำย่อและสัญลักษณ์.....	XVII
<b>บทที่ 1 บทนำ.....</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์การศึกษา.....	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา.....	2
1.4 ขั้นตอนการศึกษา.....	2
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
<b>บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	<b>4</b>
2.1 ความรู้เกี่ยวกับมะลิลา.....	4
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	5
2.3 น้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิลา.....	8
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	9
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง.....</b>	<b>16</b>
3.1 อุปกรณ์.....	16
3.2 วิธีการทดลอง.....	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 การบันทึกข้อมูล.....	20
3.4 ขั้นตอนและวิธีการในการวิเคราะห์ข้อมูล.....	21
3.5 สถานที่ทำการทดลอง.....	21
<b>บทที่ 4 ผลการทดลอง.....</b>	<b>23</b>
4.1 ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin ร่วมกับสภาพแสง และสภาพในที่มืด ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสและ การผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา.....	23
4.2 ศึกษาผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสและ การผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา.....	51
4.3 ศึกษาผลของน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ ต่อการเกิดแคลลัส และการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา.....	63
<b>บทที่ 5 วิจัยรณผลการทดลอง.....</b>	<b>72</b>
<b>บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....</b>	<b>75</b>
<b>บรรณานุกรม.....</b>	<b>77</b>
<b>ภาคผนวก.....</b>	<b>83</b>
ภาคผนวก ก.....	84
ภาคผนวก ข.....	85
ภาคผนวก ค.....	87
ภาคผนวก ง.....	110
<b>ประวัติผู้เขียน.....</b>	<b>112</b>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 25
4.2	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 30
4.3	แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 32
4.4	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสภาพแสง สัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8..... 37
4.5	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส ในสภาพแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์..... 38
4.6	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด..... 42
4.7	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด..... 47
4.8	แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด..... 49
4.9	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8..... 52
4.10	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์..... 53
4.11	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 55
4.12	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 57
4.13	แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 57
4.14	แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสัปดาห์ต่างๆ..... 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.15 แสดงปริมาณสารเบนซิลแอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสัปดาห์ต่างๆ.....	61
4.16 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จาก แคลลัส เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	61
4.17 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหาร สูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าวและ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	65
4.18 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	65
4.19 แสดงน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหาร สูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	66
4.20 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้ จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8.....	69
4.21 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้ จากแคลลัส เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	69
ก1 สูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962).....	84
ข1 แสดงสภาวะเครื่อง gas chromatography/mass spectrophotometer (GC/ MS).....	85
ค1 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก มะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation).....	87
ค2 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก มะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ (Arcsine Transformation).....	87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ค3	การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (Arcsine Transformation).....	88
ค4	การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ (Arcsine Transformation).....	88
ค5	การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 4 สัปดาห์.....	89
ค6	การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 8 สัปดาห์.....	89
ค7	การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	90
ค8	การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	90
ค9	การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	91
ค10	การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	91
ค11	การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ค12	การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักรากแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	92
ค13	การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพมืด เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	93
ค14	การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพมืด เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	93
ค15	การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพมืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	94
ค16	การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพมืด เมื่ออายุ 8 สัปดาห์.....	94
ค17	การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพมืด เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	95
ค18	การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพมืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	95
ค19	การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักรากแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ในสภาพมืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	96
ค20	การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 8 สัปดาห์.....	96

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ค21	การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	97
ค22	การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	97
ค23	การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 8 สัปดาห์.....	98
ค24	การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	98
ค25	การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	99
ค26	การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 8 สัปดาห์.....	99
ค27	การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	100
ค28	การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	100
ค29	การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบซิล อะซีเทตจากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 4 ( $\sqrt{x+1}$ Transformation).....	101
ค30	การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบซิล อะซีเทตจากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 8 ( $\sqrt{x+1}$ Transformation).....	101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ XII อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค31 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบซิล อะซีเทตจากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน กลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 12 ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	101
ค32 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบซิล อะซีเทตจากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน กลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 16 ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	102
ค33 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล อะซีเทตจากสารสกัดแคลลัสมะลิลา ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	102
ค34 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน กลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 4 ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	102
ค35 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน กลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 8 ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	103
ค36 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน กลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 12 ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	103
ค37 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน กลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 16 ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	103
ค38 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดแคลลัสมะลิลา ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	104
ค39 การวิเคราะห์ผลของผลรวมปริมาณเบนซิล อะซีเทตจากสารสกัดแคลลัสมะลิลา ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	104
ค40 การวิเคราะห์ผลของผลรวมปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดแคลลัสมะลิลา ( $\sqrt{X+1}$ Transformation).....	104
ค41 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอก มะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์.....	105
ค42 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอก มะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 8 สัปดาห์.....	105

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค43 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	106
ค44 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์.....	106
ค45 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 8 สัปดาห์.....	107
ค46 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	107
ค47 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์.....	108
ค48 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 8 สัปดาห์.....	108
ค49 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	109
ง1 แสดงกราฟมาตรฐานของสารเบนซิล อะซีเตต.....	110
ง2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารเบนซิล แอลกอฮอล์.....	110
ง3 แสดงโครมาโทแกรมของสารเบนซิล อะซีเตต และ สารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากดอกมะลิลา.....	111

# สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
3.1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา.....	22
4.1 แสดงลักษณะของชิ้นส่วนที่พบในขณะทำการทดลอง.....	34
4.2 แสดงลักษณะแคลลัสแบบละเอียด (friable callus) ที่ชักนำได้ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (กำลัง ขยาย1.9X).....	34
4.3 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสภาพแสง สัปดาห์ที่ 4 และ 8.....	39
4.4 แสดงปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสภาพแสง สัปดาห์ที่ 4 และ 8.....	39
4.5 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส ในสภาพแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	40
4.6 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ 8.....	54
4.7 แสดงปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ 8.....	54
4.8 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	55
4.9 แสดงผลรวมปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จาก อาหารเพาะเลี้ยงในวิธีการต่างๆ.....	62
4.10 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	62
4.11 แสดงลักษณะชิ้นส่วนเกิดสีดำนบริเวณครึ่งล่าง ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติม สารสกัดจากยีสต์ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (กำลังขยาย 7.62X).....	67
4.12 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดสีน้ำตาล ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (กำลังขยาย 6.42X).....	67

## สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.13 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และ 8.....	70
4.14 แสดงปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และ 8.....	70
4.15 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลด์ส เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....	71



## คำย่อและสัญลักษณ์

%	percent
2,4-D	2,4-dichlorophenoxy acetic acid
B5	Gamborg <i>et al.</i> (1968)
BA	benzyladenine
BAP	benzylaminopurine
NAA	$\alpha$ -naphthalene acetic acid
MS	Murashige and Skoog (1962)
mg/l	milligram per liters
ml/l	milliliters per liters
Tween-20	polyethylene -20- sorbitan monolaurate
spp.	species
ssp.	subspecies



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะลิลา (*Jasminum sambac* Ait.) หรือมีชื่ออื่น มะลิ มะลิซ้อน (ภาคกลาง) ช้าวแตก เตี้ยมูมะลิหลวง (ภาคเหนือ) เป็นไม้พุ่มสูง 1-2 เมตร เนื้อไม้แข็งแต่เปราะ หักง่าย ใบออกเป็นคู่ตรงข้ามกัน ใบรูปไข่ยาว 5-10 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่งและตามซอกใบ โคนดอกเป็นหลอดปลายแยกเป็นกลีบสีขาว มีชั้นเดียว ดอกบานและโรยภายในวันเดียว มีกลิ่นหอม นำไปสกัดน้ำหอมได้ นิยมนำไปลอยในน้ำ ทำให้น้ำดื่มมีกลิ่นหอม ดอกตูมนำมาร้อยเป็นพวงมาลัย ตำรายาไทย ใช้ดอกแห้งปรุงยาหอม ขยายพันธุ์โดยการปักชำ ตอนและโน้มกิ่ง (ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2538)

น้ำมันหอมระเหย(essential oils) มีบทบาทต่อมนุษย์ในหลายรูปแบบ ที่ชัดเจนที่สุดได้แก่บทบาทเป็นสารให้ความหอม แต่ก็มีความสำคัญทัดเทียมกันในแง่ของสารปรุงแต่งรสชาติและความแตกต่างดังกล่าวอาจจะไม่ชัดเจน มีการใช้น้ำหอมเพื่อให้มีผลต่ออารมณ์ มีการใช้ประโยชน์ในสุนทรบำบัดซึ่งมีผลมากขึ้นไปอีก โดยการนำไปใช้ในการใช้ปลอบประโลม ทำให้จิตใจสงบหรือมีผลในการบำบัดต่อผู้ป่วย (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2544) น้ำมันหอมระเหย จากดอกมะลิมีคุณค่ามายาวนาน มีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรค เป็นยาชูกำลังทำให้รู้สึกกระปรี้กระเปร่า ทำให้กล้ามเนื้อผ่อนคลาย เช่นใช้ในการคลอดบุตร สันนิษฐานว่าน้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิสามารถช่วยอบอุ่มดลูกจึงทำให้คลอดได้ง่าย นอกจากนี้ยังช่วยแก้อาการไอแก้จุกเสียด ทำให้ระบบประสาทปลอดโปร่งรวมถึงเส้นเอ็นมีการผ่อนคลายได้ และสามารถบรรเทาอาการปวดศีรษะ โรคข้อเข่า และโรคที่เกี่ยวข้องข้อต่อได้ดี (Weiss.1997) นอกจากนี้มีการนำน้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิไปใช้ประโยชน์ปรุงอาหารและยาเส้น ในประเทศจีนและอินโดนีเซียนิยมใช้ดอกปรุงแต่งรสชาติ และใช้ประโยชน์ในเภสัชกรรม กล่าวกันว่ามีสรรพคุณกระตุ้นระบบสืบพันธุ์ และบรรเทาความเครียดของกล้ามเนื้อโดยการทำให้เส้นประสาทและเอ็นอบอุ่นและอ่อนตัว ดังนั้นความต้องการดอกมะลิในอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันหอมระเหยจึงเพิ่มมากขึ้น การเก็บเกี่ยวดอกมะลิต้องใช้แรงงานมาก ต้องใช้เวลาประมาณ 2 - 5 ชั่วโมง ในการเก็บเกี่ยวดอกมะลิน้ำหนัก 1 กิโลกรัม นอกจากนี้จะต้องเก็บเกี่ยวดอกในตอนเช้าตรู่ก่อนที่อุณหภูมิจะสูงเกินไป และต้องใช้ดอกหนัก 1,000 กิโลกรัม ในการผลิตน้ำมันหอมระเหย 0.5 กิโลกรัม เป็นผลให้ราคาของน้ำมันหอมระเหยมีราคาสูงมาก (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2544) น้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิเป็นหัวน้ำหอมที่แพงที่สุดในตลาดโลก เพราะเป็นกลิ่นที่ไม่มีสารเคมีชนิดใดสามารถผลิตเลียนแบบได้ (ประเทืองศรี สันชัยศรีและคณะ. 2530;สัมฤทธิ์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อจันท์. 2538) การผลิตน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการผลิตสารในสภาพปลอดเชื้อสามารถผลิตได้มากและเร็วกว่าในธรรมชาติ (ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536; รังษฤษดิ์ กาวีตะ. 2545) ดังนั้นการทดลองนี้จึงมุ่งศึกษาการผลิตสารหอมระเหยจากดอกมะลิลาในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อผลิตสารหอมระเหยโดยเสียค่าใช้จ่ายที่น้อยกว่าการผลิตจากธรรมชาติ

## 1.2 วัตถุประสงค์การศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต และสภาพแสงที่มีผลต่อการชักนำกลีบดอกมะลิลาให้เกิดแคลลัสและการสร้างสารหอมระเหยบางชนิด

1.2.2 เพื่อศึกษาอิทธิพลของอาหารเสริมต่อการชักนำแคลลัสให้สร้างสารหอมระเหยบางชนิดของดอกมะลิลา

1.2.3 เพื่อศึกษาการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากแคลลัสดอกมะลิลา

## 1.3 ขอบเขตการศึกษา

เทคโนโลยีการผลิตสารทุติยภูมิโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ตั้งแต่การผลิต การวิเคราะห์ และการนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์

## 1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1.4.1 ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin ร่วมกับสภาพแสง และสภาพในที่มืด ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

1.4.2 ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการสะสมและผลิตสารหอมระเหยจากอาหารเพาะเลี้ยงและแคลลัสจากชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา

1.4.3 ศึกษาผลของน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

1.4.4 วิเคราะห์ผลและจัดทำรูปเล่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.5.1 ทราบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารเสริม และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการชักนำกลีบดอกมะลิลาให้เกิดเป็นแคลลัสและมีการผลิตสารให้ความหอมได้
- 1.5.2 ทราบวิธีการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากกลีบดอกที่มีการผลิตสารให้ความหอมในปริมาณที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในทางอุตสาหกรรมเชิงพาณิชย์ได้
- 1.5.3 ทราบเทคนิคที่เหมาะสมในการแยกสารสกัด สารหอมระเหยของดอกมะลิลา
- 1.5.5 ทราบข้อมูลสำหรับการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากมะลิลาและเป็นแนวทางสำหรับการผลิตน้ำมันหอมระเหยของพืชชนิดอื่นๆ



## 1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารเสริม และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการชักนำกลีบดอกมะลิลาให้เกิดเป็นแคลลัสและมีการผลิตสารให้ความหอมได้

1.5.2 ทราบวิธีการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากกลีบดอกที่มีการผลิตสารให้ความหอมในปริมาณที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในทางอุตสาหกรรมเชิงพาณิชย์ได้

1.5.3 ทราบเทคนิคที่เหมาะสมในการแยกสารสกัด สารหอมระเหยของดอกมะลิลา

1.5.5 ทราบข้อมูลสำหรับการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากมะลิลาและเป็นแนวทางสำหรับการผลิตน้ำมันหอมระเหยของพืชชนิดอื่นๆ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ความรู้เกี่ยวกับมะลิลา

#### 2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชื่อไทย มะลิลา ข้าวแตก (แม่ฮ่องสอน) มะลิขี้ไก่ (เชียงใหม่) มะลิป้อม (เหนือ)

ชื่อสามัญ Arabian Jasmine

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Jasminum sambac* (L.) Ait.

ชื่อวงศ์ OLEACEAE

ถิ่นกำเนิด อาระเบียและอินเดีย

ลักษณะทั่วไป ไม้พุ่มกึ่งเลื้อย สูง 1-2 เมตร แตกกิ่งจำนวนมาก ต้นที่มีอายุหลายปี จะเลื้อยปลายกิ่งมักขนานกับพื้น กิ่งเปราะ

- ต้น ไม้พุ่มกึ่งเลื้อย สูง 1-2 เมตร

- ใบ เป็นใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามเป็นคู่ ใบรูปไข่แกมรูปรี กว้าง 3-5 เซนติเมตร ยาว 6-10 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ด้านท้องใบเห็นเส้นใบชัดเจน

- ดอก ช่อดอกสีขาว ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง โคนกลีบดอกจะเชื่อมกันเป็นหลอด ยาว 1.5 เซนติเมตร ปลายแยกเป็น 5-8 กลีบ เมื่อดอกย่อยบานมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 เซนติเมตร ดอกที่อยู่ตรงกลางจะบานก่อน มีกลิ่นหอมแรง ดอกเริ่มบานและส่งกลิ่นหอมในช่วงกลางวัน ดอกบานวันเดียวแล้วจะโรยในช่วงบ่าย

2.1.2 การขยายพันธุ์ : ขยายพันธุ์โดยทับกิ่ง ปักชำ และตอนกิ่ง กิ่งชำออกรากง่าย การปักชำควรใช้ส่วนปลายของกิ่ง ยาว 10-15 เซนติเมตร และมีข้อ 2-3 ข้อ ปักชำในทรายผสมขี้เถ้าและวางกระบะทำในกระโจมจะมีเปอร์เซ็นต์การออกรากดีขึ้น

2.1.3 สภาพที่เหมาะสม : เหมาะที่จะปลูกเป็นไม้กระถาง หรือปลูกลงแปลงกลางแจ้ง ชอบดินขึ้น แสงแดดจัด ต้นที่มีใบจำนวนมากและทรงพุ่มแน่นที่พบว่าไม่ค่อยออกดอก จึงควรลิดใบทิ้งบ้างหรือตัดแต่งกิ่งให้ทรงพุ่มโปร่ง (วชิรพงศ์ หวลบุตตา, 2542) มะลิลาเป็นพืชที่ให้ดอกตลอดปีแต่ปริมาณและคุณภาพของดอกจะแตกต่างกันไปตามสภาพอากาศ โดยจะให้ดอกมากในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน เพราะมีอุณหภูมิสูงกว่าในช่วงฤดูหนาว ส่วนในฤดูหนาวเป็นช่วงที่ให้ดอกน้อยที่สุดและดอกยังมีขนาดเล็กด้วย ส่งผลให้ราคาดอกมะลิในช่วงนี้มีราคาสูงมาก

## 2.1.4 พันธุ์มะลิลา

2.1.4.1 พันธุ์แม่กลอง เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะทรงต้นและพุ่มต้นใหญ่ หนาดก และทึบ เจริญเติบโตเร็ว ใบมีขนาดใหญ่และหนา ใบมีสีเขียวเข้มเกือบดำ รูปทรงใบค่อนข้างกลม ปลายใบมน ชวงข้อใบห่าง ดอกใหญ่และกลม ลักษณะช่อดอกมักมี 1 ชูด ๆ ละ 3 ดอก พันธุ์แม่กลอง จะให้ปริมาณดอกน้อยกว่าพันธุ์ราชบุรณะและพันธุ์ชุมพร

2.1.4.2 พันธุ์ราชบุรณะ ลักษณะทรงพุ่มเล็กกว่าพันธุ์แม่กลองแต่พุ่มค่อนข้างทึบ ใบมีขนาดเล็กบาง มีสีเขียวไม่เข้ม รูปใบเรียวยาว ชวงใบค่อนข้างถี่ ดอกมีขนาดเล็ก เรียวแหลม ลักษณะช่อดอกมักมี 1-2 ชูด ๆ ละ 3 ดอก เป็นพันธุ์ที่ให้ดอกดก โดยจะทยอยให้ดอกเรื่อย ๆ

2.1.4.3 พันธุ์ชุมพร มีลักษณะทรงต้นคล้ายพันธุ์ราชบุรณะ แต่ดูโปร่งกว่าเล็กน้อย ใบมีลักษณะคล้ายพันธุ์ราชบุรณะ แต่เรียกว่า สีอ่อนกว่าและบางกว่า มีชวงข้อใบถี่ ลักษณะดอกคล้ายพันธุ์ราชบุรณะคือมีขนาดเล็กเรียวแหลม ลักษณะช่อดอกมักมีมากกว่า 2 ชูด ๆ ละ 3 ดอก เป็นพันธุ์ที่ให้ดอกดกมาก แต่จะทิ้งระยะห่างเป็นชวง ๆ (สายชล มาลัยแก้ว. 2541)

## 2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหมายถึง การเลี้ยงชิ้นส่วนใด ๆ ของพืช เนื้อเยื่อ รวมทั้งเซลล์เดี่ยว ๆ ในอาหารสังเคราะห์ (synthetic media) ซึ่งประกอบด้วย เกลือ แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ (aseptic conditions) ในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และแสง (อรดี สหวัชรินทร์. 2539; อารีย์ วรรณญวัฒน์. 2541)

### 2.2.1 การเพาะเลี้ยงแคลลัส

โดยหลักการแล้วในการผลิตสารในสภาพปลอดเชื้ออวัยวะหรือเนื้อเยื่อของพืชที่นำมาสกัดสารจะไม่เหมือนกัน ดังนั้นจึงควรเลือกอวัยวะหรือเนื้อเยื่อของพืชส่วนที่สร้างสารเหล่านั้นมาเพาะเลี้ยงให้เป็นแคลลัส แล้วนำมาเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อสกัดสารต่อไป

2.2.1.1 ปัจจัยที่มีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของแคลลัส (ประศาสตร์ เกี่ยมณี. 2536; อารีย์ วรรณญวัฒน์. 2541 ; บุญยีน กิจวิจารณ์. 2544 ; รั้งฤชดี กาวีติตะ. 2545)

- สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulators)

โดยเฉพาะสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น ออกซิน และไซโตไคนิน ซึ่งการพัฒนาของพืชจะขึ้นอยู่กับสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตสองกลุ่มนี้ หากอยู่ในสัดส่วนที่ปานกลางหรือสมดุลก็จะพัฒนาไปเป็นแคลลัส

นอกจากธาตุที่เป็นส่วนประกอบทั่ว ๆ ไปของสูตรอาหารแล้วพบว่า อาหารเสริมจำพวก กรดอะมิโน (amino acid) เช่น กลูตามีน (glutamine) แอสปาราจีน (asparagines) อารีย์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จินีน (arginine) พูรีน (purine) และไพริมิดีน (pyrimidine) เป็นต้น เคซีนไฮโดรไลเซต (casein hydrolysate) สารสกัดจากมอลต์ (malt extract) สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) และน้ำมะพร้าว (coconut milk) มีส่วนสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส

- แหล่งคาร์บอน (carbon sources)

แหล่งคาร์บอนที่สำคัญคือ น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลแซคคาไรส ความเข้มข้น 2-4 เปอร์เซ็นต์

- ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (environmental factors)

เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 25 องศาเซลเซียส และ แสง การเพาะเลี้ยงแคลลัสต้องการแสงความเข้มต่ำหรือไม่ใช้แสงเลย

- สถานะของอาหารที่ใช้เลี้ยง (media status)

แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารแข็งเจริญเติบโตได้น้อยกว่าแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารเหลว ทั้งนี้เป็นเพราะมีพื้นที่ผิวที่สัมผัสกับอาหารน้อยกว่า และตรงตำแหน่งที่ขึ้นส่วนของแคลลัสสัมผัสกับอาหาร จะมีสารที่มีผลต่อการเติบโต ซึ่งเป็นของเสียจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolic wastes) ที่เซลล์ปล่อยออกมา

- ชนิดของชิ้นส่วน (explant material)

ชิ้นส่วนเกือบทุกส่วนของพืชสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ชิ้นส่วนที่นำมาทำการเพาะเลี้ยง จะต้องเป็นส่วนที่มีการสร้างหรือสะสมสารทุติยภูมิ (คิวพองส์ จาร์สตันส์, 2546) เซลล์ที่ทำการเพาะเลี้ยงมีการสังเคราะห์สารทุติยภูมิได้ค่อนข้างสูงแต่ก็มีการเลี้ยงเซลล์ของพืชอีกหลายชนิดที่ไม่สามารถผลิตสารทุติยภูมิได้หรือทำได้ในปริมาณที่น้อย อาจเป็นเพราะเซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยงมีความแตกต่าง จากที่อยู่ในต้นพืชหลาย ๆ ด้าน เช่น ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และเซลล์วิทยา (บุญยืน กิจวิจารณ์, 2544)

## 2.2.2 ปัจจัยที่มีบทบาทต่อการผลิตสารทุติยภูมิ (Ramawat, 1999)

### 2.2.2.1 ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม

- แสง

อิทธิพลของแสงในการเจริญและการผลิตสารเริ่มมีการศึกษากันเพิ่มขึ้นโดยทำการเปรียบเทียบผลที่ได้มาจากพืชชนิดต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงเมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของแหล่งของแสงคุณภาพของแสงและปริมาณของรังสีที่ตกกระทบต่อพื้นที่ แสงไม่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์แสงแต่มีส่วนช่วยในการทำงานของเอนไซม์ (enzyme) และการเกิดการพัฒนาทางด้านรูปร่างที่เกี่ยวข้องกับแสง ซึ่งมีผลทางอ้อมต่อการผลิตสารทุติยภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### - อุณหภูมิ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยปกติจะเจริญในช่วงอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ในอุณหภูมิที่สูงจะช่วยกระตุ้นการผลิตสาร อุณหภูมิอาจจะมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์สารบางชนิด เช่น ระดับของการอิมมัตูวของกรดไขมัน การพักตัวของเซลล์แขวนลอยของถั่วเหลืองที่อุณหภูมิต่ำ (15 องศาเซลเซียส) การทำให้กรดไขมันอิมมัตูวเพิ่มขึ้นสามารถทำได้โดยการให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้น

### - ค่า pH

pH โดยปกติที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์จะอยู่ในช่วง pH 5-6 มีงานทดลองมากมายที่พิสูจน์ให้เห็นว่า pH ของอาหารมีอิทธิพลอย่างมากในการผลิตสารทางเคมีของพืชจากเซลล์ที่ทำการเพาะเลี้ยง

### - การให้ออกซิเจน

การให้ออกซิเจนของอาหารเหลวโดยการเขย่าหรือปฏิกิริยาทางชีวภาพ เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการผลิตสารทุติยภูมิ ในสภาพที่ปราศจากออกซิเจนมีผลโดยตรงต่อสารปฐมภูมิ จึงมีผลต่อการผลิตสารทุติยภูมิ หรือมีผลกระทบโดยตรงต่อเอนไซม์ที่ช่วยในการผลิตสารทุติยภูมิ กิจกรรมของแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) มาลิกเอนไซม์ (malic enzyme) และไนเตรตรีดักเตส (nitrate reductase) จะเพิ่มขึ้น ภายใต้สภาวะที่ขาด ออกซิเจน กิจกรรมของไกลโคไลซิส (glycolysis) จะเพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้เกิดการสะสมของแอลกอฮอล์

### 2.2.2.2 อิทธิพลของธาตุอาหาร

ในการศึกษาสภาพที่เหมาะสมในการผลิตสารทุติยภูมิ โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ทำได้ดังนี้

- ความเข้มข้นของออกซิน (auxin) ที่สูง ๆ ในอาหาร โดยเฉพาะ 2,4-D จะยับยั้งการผลิตสารทุติยภูมิ
- ความเข้มข้นของฟอสเฟต (phosphate) ที่สูง ๆ ในอาหารเป็นเหตุให้เซลล์มีการเจริญเติบโตและในความเข้มข้นต่ำ ๆ จะช่วยส่งเสริมให้มีการผลิตสารทุติยภูมิในปริมาณมากขึ้น
- ระดับของคาร์โบไฮเดรต(carbohydrate)ที่ต่ำ จะทำให้เซลล์มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น ในขณะที่ความเข้มข้นสูง ๆ จะยับยั้งการเจริญเติบโต แต่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตสารทุติยภูมิ
- ระดับไนโตรเจน (nitrogen) ที่สูงในอาหารจะช่วยส่งเสริมการเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งในทางกลับกันความเข้มข้นของไนโตรเจนต่ำจะช่วยเพิ่มการผลิตสารทุติยภูมิ
- การเพิ่มการสังเคราะห์สารทุติยภูมิ จะพบได้ระหว่างสแตชันนารีเฟส (stationary phase) ของคัลเจอร์ (culture) เมื่อสารปฐมภูมิและการเพิ่มจำนวนเซลล์เกิดการหยุดชะงัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 น้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิลา

มะลิลา เป็นพืชที่สามารถสกัดน้ำมันหอมระเหยได้จากดอก ซึ่งในดอกจะมีสารสำคัญ 2 ชนิด คือเบนซิล แอลกอฮอล์ (benzyl alcohol) และเบซิลลิต อะซีเตต (benzyl acetate) อยู่บริเวณ เซลล์อีพิดERMิส (cell epidermis) ของกลีบ ที่มีผลทำให้ดอกมะลิลา มีกลิ่นหอม สำหรับดอกมะลิลา ใช้วิธีการสกัด 3 วิธีด้วยกันคือ สกัดด้วยน้ำ ไชมัน และด้วยตัวทำละลายซึ่งช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บดอกมะลิลา เพื่อการสกัดน้ำมันหอมระเหย จะต้องเก็บช่วงที่ดอกมะลิลาบานเต็มที่ มีกลิ่นหอมและมีคุณภาพดีที่สุด คือช่วงเวลาดังแต่ 16.30 – 20.30 น. (ประเทืองศรี สิ้นชัยศรีและคณะ. 2530)

สำหรับสารเบนซิล แอลกอฮอล์ และเบนซิล อะซีเตต ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ทำให้เกิดกลิ่นหอมในดอกมะลิลา นั้น นักเคมีเรียกว่าสารประกอบอะโรมาติก (aromatic compound) คือสารหอมที่เป็นองค์ประกอบรวมที่ทำให้เกิดกลิ่นหอม (fragrances) โดยสารหอมเหล่านี้เป็นสารเคมีที่มีกลิ่นเฉพาะตัว ถ้าสารอยู่รวมกันหลายชนิดในอัตราส่วนที่เหมาะสมทำให้เกิดกลิ่นที่ดีขึ้นมาก สารเคมีเหล่านี้พบได้ทั้งในพืชสัตว์ และจากการสังเคราะห์ (กาญจนา กิระศักดิ์. 2540)

สำหรับสารเคมีเหล่านี้ที่พบในพืชเกิดจากผลที่ได้ของกระบวนการเผาผลาญภายในพืช แล้วถูกลำเลียงไปเก็บรักษาไว้ตามส่วนต่าง ๆ แนนอนของพืช เช่น ต้น ดอก ใบ ผล เมล็ด และเปลือก เป็นต้น สารที่ได้จากเปลือก ผล และเมล็ด จะมีมากและราคาถูก แต่สารหอมที่ได้จากดอกจะมีน้อยและราคาแพง

### 2.3.1 การสกัดสารหอมระเหย

วิธีการสกัดโดยใช้สารที่เป็นตัวทำละลายเป็นวิธีการที่พัฒนามาจากวิธีการแบบดั้งเดิมที่ผสมดอกไม้ที่มีกลิ่นหอมกับกรดไขมันเพื่อสกัดกลิ่นหอม หลักการดังกล่าวนำไปสู่การพัฒนาวิธีการที่เรียกว่าเอ็นฟลูเรจ (enfleurage) สามารถสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกไม้ที่มีความละเอียดอ่อน ซึ่งมีการผลิตสารที่มีกลิ่นหอม สารที่นำมาใช้เป็นตัวทำละลายต้องมีการคัดเลือกอย่างระมัดระวัง ควรเป็นสารที่ละลายสารที่มีกลิ่นหอมอย่างรวดเร็วและละลายสารเจือปน เช่น ไข สารสี ออกมาน้อยที่สุด ต้องไม่ดูดซับน้ำ เพราะว่ายากต่อการเอาออกจากส่วนที่สกัดได้ สารที่มีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ได้แก่ปิโตรเลียม อีเธอร์ (petroleum ether) เบนซีน (benzene) และแอลกอฮอล์ การผลิตจัสมีน คอนกรีต (jasmine concrete) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์หลักทางการค้า ได้จากการสกัดโดยใช้สารปิโตรเลียม อีเธอร์ นอร์มอล เฮกเซน (*n*-hexane) หรือคาร์บอนไดออกไซด์เหลว (liquid carbon dioxide) จากดอกสดและแสงอาจทำให้คุณภาพของแอบโซลูท (absolute) ลดลง โดยเฉพาะมีผลทำให้สารเบนซิล อะซีเตตและเบนซิล เบนโซเอต (benzyl benzoate) สลายตัว (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารหอม (Aromatic Substance in Fragrances)

วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารหอมที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหย แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) (GC) เป็นเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์หาสารหอมในน้ำหอมต่างๆ ไป นิยมใช้มากที่สุด เป็นการตรวจวัดสารหอมพื้นฐานว่ามีอะไรบ้าง จำนวนเท่าไรในน้ำหอมนั้น หลักการคือใช้แก๊สเป็นตัวพา (carrier) เอาสารหอมที่อยู่ในสถานะที่เป็นไอ (vapor) ผ่านแพคกิ้งแมททีเรียล (packing material) ที่บรรจุอยู่ภายในคอลัมน์ (column) ชนิดแคปิลารี (capillary) สารแต่ละชนิดในน้ำมันหอมจะถูกพาออกจากคอลัมน์ ในเวลาที่แตกต่างกันตามคุณสมบัติทางเคมี ฟิสิกส์ และการถูกจับด้วยแพคกิ้ง แมททีเรียลในคอลัมน์ เมื่อถูกพาออกมาแล้วจะเข้าสู่ตัวตรวจวัด (detector) ที่นิยมใช้มากที่สุด คือเอฟไอดี (FID) (Flame Ionized Detector) สารหอมทุกตัวที่ออกจากคอลัมน์จะถูกทำให้แตกตัวเป็นแทน (ion) ที่ตัวตรวจวัด และจะแปรเป็นสัญญาณไฟฟ้าเข้าสู่เครื่องโครมาโทแพค (Chromatopac) ที่เป็นคอมพิวเตอร์ (computer) เพื่อบันทึกผล สัญญาณคอมพิวเตอร์จะแสดงให้เห็นกราฟเป็นพีค (peak) โดยพีคแต่ละพีคจะแสดงถึงสารหอมแต่ละชนิด พื้นที่และความสูงของพีค จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของสารหอมที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยนั้นๆ (ประทีองศรี ลินชัยศรี, 2540)

## 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.4.1 งานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ดารณี แก้วมณีวงศ์ (2536) ทดลองผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพริกขี้หนูในอาหาร Murashige and Skoog 1962 (MS) พบว่าเมื่อใช้ 2,4-D เข้มข้น 0.5 - 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ทุกส่วนของพริกที่นำมาเลี้ยงเกิดแคลลัสปริมาณมากที่สุด

กาญจนา กิระศักดิ์ (2540) ศึกษาอิทธิพลของแร่ธาตุอาหาร น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะลิลาและน้ำมันหอมระเหย พบว่าการเพาะเลี้ยงกิ่งมะลิลาบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาให้แคลลัสมะลิลาเพิ่มน้ำหนักได้ดีที่สุด

ผกาเวียง ช่อกระถิน (2545) ทำการชักนำการสร้างสารสีจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อห้วงเงินรางทอง และรางนาก (*Hippeastum* spp.) พบว่าสามารถชักนำการสร้างสีได้จากการเพาะเลี้ยงห้วงเงินรางทอง และรางนาก (*Hippeastum* spp.) ด้วยอาหารสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 6.0 5.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มีดได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kawaguchi et al. (1976) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแยมปีนัง (*Strophanthus* spp.) และการผลิตคาร์ดีโนไลด์ (cardenolides) โดยทำการเพาะเลี้ยงใบ ลำต้น ตาดอก ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มีดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนมีการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสได้ดี แต่แคลลัสที่ได้ไม่มีการผลิตคาร์ดีโนไลด์

Sugisawa and Ohnishi (1976) สามารถชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของ *Perilla frutescens* var. *crispa* ได้ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีการสร้างแคลลัสได้เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพียง 7 วัน

Tomada et al. (1976) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ให้กลิ่นหอม โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะลิลา (*Jasminum sambac* Ait.) โดยใช้กลีบดอก ใบและลำต้นในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน สามารถชักนำทุกชิ้นส่วนให้เกิดแคลลัส ซึ่งแคลลัสที่ได้มีสีเขียวและสีน้ำตาลอ่อน ที่มีการผลิตสารหอมบางชนิดเช่น เบนซิล อะซีเตตได้

Ishikura et al. (1983) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Perilla* spp. และการผลิตคาเฟอิกเอซิด (caffeic acid) โดยทำการเพาะเลี้ยงใบอ่อน พบว่าแคลลัสที่ได้ มีการสร้างคาเฟอิกเอซิดเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

Hatano et al. (1987) ศึกษาการชักนำไซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิส (embryogenesis) และการสร้างต้นใหม่ (regeneration) จากอับละของเรณูของ *Aconitum carmichaeli* Debx โดยสามารถชักนำแคลลัสได้จากอับละของเรณู ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และต้นใหม่ที่สร้างได้มีการเจริญเติบโตเต็มที่ เมื่ออายุ 5 เดือน

Wakhlou and Barna (1989) ศึกษาการชักนำแคลลัส การเจริญเติบโตและการสร้างต้นใหม่ของเทียนเกล็ดหอย (*Plantago ovata* Forsk) พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนไฮโปคอติล (hypocotyl) ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการชักนำแคลลัสและมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด และต้นใหม่ที่สร้างได้สามารถย้ายปลูกลงในกระถางได้เป็นผลสำเร็จ

Charlwood and Charlwood (1991) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจอราเนียม (*geranium*) (*Pelargonium* spp.) และการผลิตสารประกอบอะโรมาติก (aromatic compound) โดยทำการเพาะเลี้ยงลำต้นเจอราเนียมในอาหาร MS ร่วมกับ 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ

kinetin เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ภายใน 5-22 วันและเกิดแคลลัสมากกว่า 90 % ของชิ้นส่วนที่ทำการทดลอง และมีการผลิตน้ำมันหอมระเหยได้

Fujii (1991) ศึกษาการผลิตโพอโดฟิลโลทอกซิน (podophyllotoxins) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยการเพาะเลี้ยงลำต้นของ *Podophyllum* spp. ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่เกาะตัวกันแน่น (hard callus) ที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ และมีการผลิตโพอโดฟิลโลทอกซินได้จากรากฝอย

Furuya and Yoshikawa (1991) ศึกษาการผลิตวิตามินอี โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ของต้นคำฝอย (*Carthamus tinctorius* L.) พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เก็บในที่มืดสามารถชักนำให้ตาดอกเกิดแคลลัสได้ดี เกิดแคลลัสได้ในเวลา 3-4 สัปดาห์ และแคลลัสที่ชักนำได้มีการสร้างวิตามินอี

Jameel et al. (1991) ศึกษาการตอบสนองต่อจีโนไทป์-ดีเพนเดนท (genotype-dependent) ของสายพันธุ์ผักขมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส และการสร้างต้นใหม่ ในสภาพปลอดเชื้อ โดยทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของต้นผักขม 4 สายพันธุ์ ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสได้มากที่สุดและมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุดด้วย

Reichling and Beiderbeck (1991) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคาร์โมมายล์ (chamomile) (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert) และการผลิตสารทุติยภูมิ โดยการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากราก ยอด และดอกของคาร์โมมายล์ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืดซึ่งแคลลัสที่เพาะเลี้ยงได้จากดอกมีอัตราการเจริญสูงสุดและมีการผลิตน้ำมันหอมระเหยได้ในปริมาณมากที่สุด (ประมาณ 0.06 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีการสะสมของน้ำมันหอมระเหยหลังจากมีการแทนที่ 2,4-D และ kinetin ด้วยน้ำมะพร้าวเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

Roy and Sarkar (1991) ศึกษาการสร้างต้นใหม่และไมโครโพพากชัน (micropopagation) ของว่านหางจระเข้ (*Aloe vera* L.) พบว่าการเพาะเลี้ยงตาข้างในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำแคลลัสได้ดีที่สุด และสามารถสร้างยอดจากแคลลัสได้อย่างรวดเร็ว เมื่อลดความเข้มข้นของ 2,4-D และเพิ่มความเข้มข้นของ kinetin

Trautmann and Visser (1991) ศึกษาหน้าที่ของสารพินอลิกที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของ กวายุล (*guayule: Parthenium argentatum* gray) โดยสามารถชักนำแคลลัสได้เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และทราบว่าสารฟีนอลิกมีหน้าที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของ กวายุล โดยสารฟีนอลิกที่สะสมจะลดจำนวนและความมีชีวิตของเซลล์แขวนลอย

Trautmann *et al.* (1991) ทำการตรวจหาน้ำยางจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกวายุล โดยทำการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนตายอด และต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเปรียบเทียบกับน้ำยางกับต้นแม่ พบว่าน้ำยางจากต้นแม่มีค่าประมาณ 11 % ขณะที่ยอดจากแพลนท์เล็ทมี 2 % และไม่พบน้ำยางจากแคลลัสที่ผลิตได้

Baumert *et al.* (1992) ศึกษาการผลิตสารทุติยภูมิ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Ruta* หลายชนิดโดยสามารถชักนำแคลลัสได้จากชิ้นส่วนไฮโปคอติลของ *R.bracteosa*, *R. chalepensis* และ *R. macrophylla* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบสารอะคริโตน (acridone) สารฟูโรควิโนลีน (furoquinoline) สารอัลคาร์ลอยด์ส (alkaloids) และสารคูมารินส์ (coumarins) ได้จากแคลลัสที่มีอายุ 4 สัปดาห์

Goleniowski and Silva (1993) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออัลทามิสซา (*altamisa* : *Ambrosia tenuifolia* Spreng) และการผลิตซิโลสเทคิไอนิโไลด์ (*psilostachyinoiides*) โดยเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.002 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0.0002 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืด สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ภายใน 2 เดือน และมีการผลิตสารซิโลสเทคิไอนิโไลด์ในปริมาณที่มากกว่าการผลิตจากพืชทั้งต้น

Murooka and Cho (1993) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแตงกวา (*Cucumis sativus* L.) และการผลิตแอสคอร์เบท ออกซิเดส (ascorbate oxidase) โดยการชักนำแคลลัสจากเปลือกเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.125 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA เข้มข้น 0.225 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืด พบว่ามีการผลิตแอสคอร์เบท ออกซิเดสได้ในปริมาณที่มาก และมีการปลดปล่อยลงในอาหารเมื่อนำมาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว

Tamura *et al.* (1993) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไทม์ (*thym* : *Thymus vulgaris* L.) และการผลิตสารทุติยภูมิ ซึ่งสามารถชักนำแคลลัสได้จากส่วนใบของต้นไทม์ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แคลลัสที่ได้มีสีเขียวและสีเหลือง และแคลลัสแต่ละสีให้สารประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่แตกต่างกัน

Viel *et al.* (1993) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์ แคมเปียน (*white campion* : *Silene alba*) และกระบวนการทางชีวภาพ ในการผลิตเบนซิลไอโซควิโนไลน์ อัลคาลอยด์ (*benzylisoquinoline alkaloids*) โดยทำการเพาะเลี้ยงก้านดอก (flower stalks) ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแคลลัสที่ได้มีการเจริญเติบโตได้ดี สามารถนำไปเพิ่มปริมาณได้ในอาหารเหลว และมีการผลิตสารพวกอัลคาลอยด์ (alkaloids)

Zhang and Cheng (1993) ศึกษาการเพิ่มจำนวนและการผลิตน้ำมันหอมระเหย ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของการ์เดน โลเวจ (garden lovage :*Levisticum officinale* Koch.) พบว่าชิ้นส่วนลำต้น สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่เกาะกันหลวม (friable callus) ได้ภายใน 7 วัน ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำมาเปลี่ยนอาหารสูตร MS โดยเติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสที่ได้มีสีเขียวและมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ ขณะที่แคลลัสที่นำมาเปลี่ยนอาหารสูตร MS โดยไม่เติมสารสกัดจากยีสต์ มีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และมีการผลิตน้ำมันหอมระเหยได้ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในการผลิตยา

Botta and Monache (1995) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโอแซจ ออเรนจ์ (*osage orange :Maclura pomifera*) และการผลิตฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และสารทุติยภูมิอื่นๆ โดยสามารถสร้างแคลลัสได้เป็นจำนวนมากจากลำต้น ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเก็บในที่มืด และนำมาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว พบว่ามีการผลิตฟลาโวนอยด์ และสารทุติยภูมิอื่น ๆ ได้เป็นจำนวนมากกว่าการผลิตในธรรมชาติ

Everitt and Lockwood (1995) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อผักชีลาว (*Anethum graveolens* L.) และการผลิตน้ำมันหอมระเหย โดยการเพาะเลี้ยงส่วนของใบเลี้ยง (cotyledon) ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด และปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สร้างได้ สามารถนำไปใช้ในการค้าได้ และในขณะเดียวกันเมื่อทำการเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS หรือ B5 พบว่าน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการเจริญเติบโตของแคลลัส

Figueiredo et al. (1995) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบริโรว (yarrow :*Achillea millefolium* L.ssp. *millefolium*) เพื่อผลิตน้ำมันหอมระเหย โดยการเพาะเลี้ยงส่วนใต้ใบเลี้ยง (hypocotyls) ในอาหาร B5 ร่วมกับ 2,4-D เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืด พบว่าสามารถชักนำให้มีการสร้างแคลลัสได้และเมื่อนำไปเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว ในสภาพมืดเช่นเดียวกัน มีการสร้างน้ำมันหอมระเหย ในปริมาณมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

He et al. (1995) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Pinellia ternata* Breit. และการผลิตอัลคาลอยด์ และสารทุติยภูมิอื่น ๆ โดยเพาะเลี้ยงส่วนของใบเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ภายใน 10 วัน มีสีเหลืองเข้มและมีการผลิตอัลคาลอยด์ (alkaloid) ได้ในปริมาณมาก

Qi (1995) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออะการ์วูด (agarwood : *Aquilaria* species) และการผลิตสารบางชนิด โดยเพาะเลี้ยงลำต้นในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำลำต้นให้เกิดแคลลัสได้จำนวนมาก และเมื่อนำแคลลัสไปเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวที่เติมสารสกัดจากเชื้อรา (fungal extract) ในสภาพมืด มีการสร้างสารหอมบางชนิดขึ้น

Nazif et al. (2000) ศึกษาการกระตุ้นการผลิตสารแอนทราควิโนน (anthraquinone) จากเซลล์แขวนลอยของ *Cassia acutifolia* โดยใช้ซอลท์ สเตรสส์ (salt stress) ทำการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนราก ไฮโปคอติล (hypocotyl) และคอติลีดอน (cotyledon) ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพิ่มความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) ซึ่งมีส่วนช่วยเพิ่มการสร้างสารแอนทราควิโนนและลดการเจริญของเนื้อเยื่อ

Villarreal et al. (2001) ศึกษาการผลิตสารไดเทอร์พีนิก เอซิด (diterpenic acid) จาก *Montanoa tometosa* ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการสะสมของสารคายูรินอยด์ส เพิ่มขึ้น เมื่อแคลลัสอายุได้ 6 เดือน ซึ่งไม่พบในใบตามธรรมชาติ แต่พบได้ในสภาพปลอดเชื้อเท่านั้น

Narayan et al. (2005) พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแครอท (*Daucus carota*) ในอาหารที่มี kinetin เข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วยส่งเสริมให้แคลลัสมีการผลิตสารแอนโธไซยานินได้ในปริมาณมากที่สุดและมีการผลิตสารแอนโธไซยานิน ในอาหารแข็งมีปริมาณมากกว่าในอาหารเหลว

#### 2.4.2 รายงานการสกัดและวิเคราะห์สาร

บุญส่ง คงคาทิพย์ (2526) ศึกษาการสกัดและวิเคราะห์ทางปริมาณของน้ำมันหอมระเหยจากต้นมะแว้ง (*Zanthoxylum budrunga*) โดยสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยปิโตรเลียม อีเธอร์ (petroleum ether) และโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดด้วยปิโตรเลียม อีเธอร์ จะได้ปริมาณไลโมนีน (limonene) ซึ่งเป็นสารหลักในน้ำมันหอมระเหยจากมะแว้ง จะได้เปอร์เซ็นต์สูงกว่าการกลั่นด้วยไอน้ำเมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วย GC และ NMR (Nuclear Magnetic Resonance)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทืองศรี สิ้นชัยศรีและคณะ (2530) ศึกษาระยะเวลาการเก็บเกี่ยวและกรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมในดอกมะลิลา พบว่าเมื่อนำดอกมะลิลาที่เก็บในเวลา 18.00-19.00 น. สกัดด้วยตัวทำละลายซึ่งสารสกัดที่ได้จากปิโตรเลียม อีเธอร์ ได้ผลผลิตที่มีกลิ่นหอมมากและเป็นที่ยอมรับจากผู้ใช้นำไปผลิตเป็นน้ำหอม

เสาวลักษณ์ เพ็ญวิทยารธรรม (2520) ศึกษาการสกัดและคุณสมบัติของน้ำมันจากเมล็ดกระเจี๊ยบ (*Hibiscus sabdariffa* L.) โดยนำเมล็ดกระเจี๊ยบแห้งบดละเอียดสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน (*n*-hexane) และปิโตรเลียม อีเธอร์ ซึ่งค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์น้ำมันกระเจี๊ยบ สกัดโดยปิโตรเลียม อีเธอร์ มีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าการสกัดโดยนอร์มอล เฮกเซนเล็กน้อย นอกจากนี้พบว่าน้ำมันกระเจี๊ยบที่ปลูกในประเทศไทยมีคุณสมบัติและคุณภาพของน้ำมันพืชสำหรับบริโภคอีกด้วย

Rocha *et al.* (1995) ทำการสกัดสารจากใบและดอกของ *Hypericum brasiliense* โดยทำการสกัดแยกสารฟลอรอกลูซินอล (phloroglucinols) ด้วยปิโตรเลียม อีเธอร์ ทำการแยกวิเคราะห์สารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบว่าสามารถแยกสารฟลอรอกลูซินอลและสารฟลาโวนอยด์ เช่น แกมปีเฟอร์รอล (kaempferol) ลูทีโอทิน (luteotin) และควอซีทิน (quercetin) ได้



## บทที่ 3

# วิธีดำเนินการทดลอง

### 3.1 อุปกรณ์

3.1.1 พืชทดลอง คือ ดอกมะลิลาพันธุ์ราชบุรณะ โดยใช้ดอกที่มีกลีบดอกสีขาว เกือบแย้ม มีขนาดกว้างระหว่าง 1.5 – 2.0 เซนติเมตร

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ประกอบด้วย กระบอกตวง (cylinder) บีเกอร์ (beakers) ปิเปต (pipette) เครื่องชั่งไฟฟ้า (analysis balance) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ขวดแก้วพร้อมฝาปิด ข้อนตักสาร แท่งแก้วคนสาร ทัพพีตักสารละลาย กระดาษชานาฬิกาจับเวลา ตะกร้าพลาสติก หนั่งยาง ถุงพลาสติก

3.1.3 เครื่องมือในห้องถ่ายขึ้นส่วน ประกอบด้วย ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ มีดผ่าตัดเล็กพร้อมด้ามปากคีบ จานแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์ ผ้าขาวบาง บีเกอร์ กระบอกตวง ไฟแช็ค แอลกอฮอล์ 70% และ 95%

3.1.4 เครื่องมือที่ใช้ในการสกัดสาร ประกอบด้วย เครื่องระเหยสูญญากาศ (rotary evaporator) กรวยแยก (separatory funnel) เครื่องเขย่าสาร (shaker) ไมโครเวฟ (microwave oven) ที่วัดอุณหภูมิ (thermometer) ขาตั้ง (stand) โถรงบดยา แท่งแก้วและขวดเก็บสาร ตัวอย่าง

3.1.5 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร MS (Murashige and Skoog 1962) (ภาคผนวก ก)

3.1.6 สารควบคุมการเจริญเติบโต

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

kinetin (6-furfurylaminopurine)

3.1.7 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย

ปิโตรเลียม อีเธอร์ (จุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส)

3.1.8 อุปกรณ์ในการบันทึกผล

ไม้บรรทัด กล้องถ่ายรูป เครื่องชั่ง

3.1.9 เครื่องวิเคราะห์แบบ Gas Chromatography / Mass Spectrophotometer (GC/ MS)

## 3.2 วิธีการทดลอง

### 3.2.1 การเตรียมอาหาร

#### 3.2.1.1 เตรียม stock solution

(1) macroelements ความเข้มข้น 10 เท่า

(2) microelements ความเข้มข้น 100 เท่า

#### 3.2.1.2 เตรียมอาหารแข็งสูตรMS 1 ลิตร

#### 3.2.1.3 เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

#### 3.2.1.4 เติมน้ำตาล 30 กรัม

#### 3.2.1.5 ปรับปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

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

#### 3.2.1.7 เติมน้ำ 8 กรัม

3.2.1.8 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาทีและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส

### 3.2.2 การฟอกฆ่าเชื้อ

#### 3.2.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อกลีบดอกมะลิลา

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

(2) ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

### 3.2.3 การสกัดสารจากแคลลัสมะลิลาและอาหารแข็ง

#### 3.2.3.1 การสกัดสารจากแคลลัสมะลิลา

(1) แช่แคลลัสในตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเธอร์ ทิ้งไว้ 1 คืน

(2) นำมากรอง และระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

#### 3.2.3.2 การสกัดสารจากอาหารแข็งที่เลี้ยงกลีบดอก

(1) ต้มอาหารแข็ง โดยนำอาหารแข็งที่ทำการเพาะเลี้ยงขึ้นส่วนกลีบดอก ทำละลายด้วยเตาไมโครเวฟ (microwave oven)

(2) ใส่กรวยแยกเติมปิโตรเลียม อีเธอร์ เขย่าและรอให้สารละลายแยกชั้น

(3) นำสารละลายในชั้นของปิโตรเลียม อีเธอร์ ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

### 3.2.4 การวิเคราะห์สารสกัด

นำสารสกัดที่ผ่านการระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC / MS

### 3.2.5 วิธีการทดลอง

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

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลาในสภาพแสง

นำกลีบดอกมะลิลาที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตาม treatment combinations และเก็บไว้ในที่มืด 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

$$a1 = 0.5 \text{ mg/l}$$

$$a2 = 1.0 \text{ mg/l}$$

$$a3 = 2.0 \text{ mg/l}$$

$$a4 = 3.0 \text{ mg/l}$$

ปัจจัย b คือความเข้มข้นของ kinetin มี 6 ระดับ

$$b1 = 0.1 \text{ mg/l}$$

$$b2 = 0.2 \text{ mg/l}$$

$$b3 = 0.5 \text{ mg/l}$$

$$b4 = 1.0 \text{ mg/l}$$

$$b5 = 3.0 \text{ mg/l}$$

$$b6 = 5.0 \text{ mg/l}$$

**การทดลองที่ 1.2** ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลาในสภาพมืด

นำกลีบดอกมะลิลาที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตาม treatment combinations และนำไปเก็บไว้ในที่มีวางแผนการทดลองแบบ 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

$$a_1 = 0.5 \text{ mg/l}$$

$$a_2 = 1.0 \text{ mg/l}$$

$$a_3 = 2.0 \text{ mg/l}$$

$$a_4 = 3.0 \text{ mg/l}$$

ปัจจัย b คือความเข้มข้นของ kinetin มี 6 ระดับ

$$b_1 = 0.1 \text{ mg/l}$$

$$b_2 = 0.2 \text{ mg/l}$$

$$b_3 = 0.5 \text{ mg/l}$$

$$b_4 = 1.0 \text{ mg/l}$$

$$b_5 = 3.0 \text{ mg/l}$$

$$b_6 = 5.0 \text{ mg/l}$$

**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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ ต่อการเกิดแคลลัส และการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

นำกลีบดอกมะลิลาที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาแล้วในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็ง สูตร 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 treatment 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

### 3.3 การบันทึกข้อมูล

- 3.3.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส โดยบันทึกทุกสัปดาห์
- 3.3.2 บันทึกการเจริญเติบโตของแคลลัสทุกสัปดาห์ โดยวิธีการให้คะแนน 5 ระดับดังนี้
  - คะแนน 1 ขึ้นส่วนตายหรือไม่เกิดแคลลัส (ภาพที่ 3.1A)
  - คะแนน 2 ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสสีเหลือง (ภาพที่ 3.1B)
  - คะแนน 3 ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสสีขาว กระจายเป็นกลุ่มเล็กๆ (ภาพที่ 3.1C)
  - คะแนน 4 ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสสีขาวมีขนาดใหญ่ (ภาพที่ 3.1D)
  - คะแนน 5 ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสสีเขียว เขียวอ่อนหรือเขียวเข้ม (ภาพที่ 3.1E)
- 3.3.3 บันทึกน้ำหนักของแคลลัสทุกเดือน
- 3.3.4 วิเคราะห์หาสารหอมระเหยดอกมะลิลาโดยใช้เครื่อง GC/ MS
- 3.3.5 วิเคราะห์หาสารเบนซิลแอลกอฮอล์
- 3.3.6 วิเคราะห์หาสารเบนซิลอะซีเตต

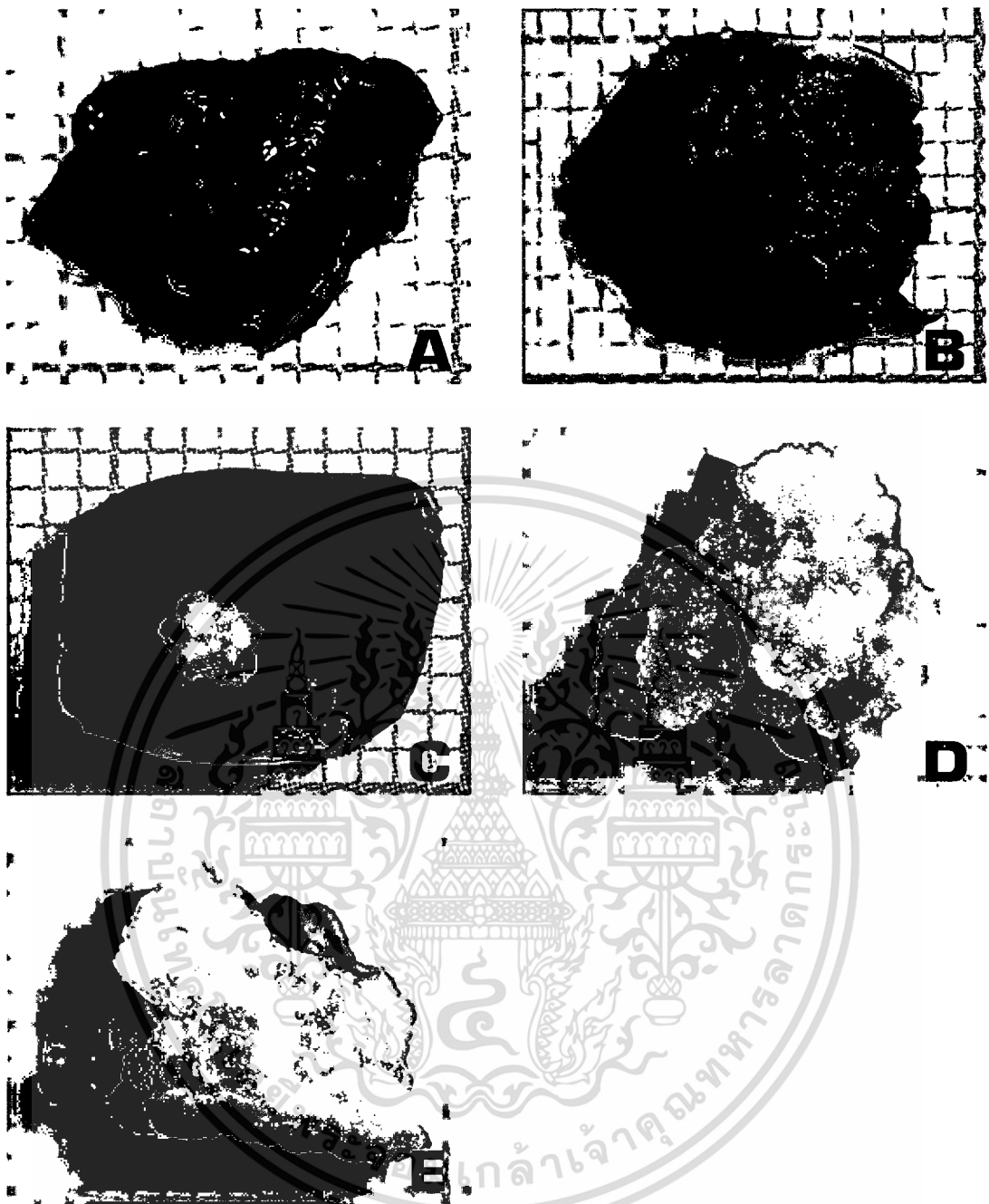
### 3.4 ขั้นตอนและวิธีการในการวิเคราะห์ข้อมูล

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

### 3.5 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง





ภาพที่ 3.1 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 4.50X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

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

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

#### เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส

จากการนำชิ้นส่วนกลีบดอกมาเพาะเลี้ยง เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D พบว่าเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสในสัปดาห์ที่ 8 4 และ 12 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.1) 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 4.1) 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 โดยใน

สัปดาห์ที่ 16 มีเปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงสุด 19.17 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร 11.25 เปอร์เซ็นต์ โดยในสัปดาห์ที่ 12 และสัปดาห์ที่ 16 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นส่วนไม่มีการเกิดแคลลัสขึ้นเลยตลอดการทดลอง และการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าคงที่ที่ 1.67 และ 2.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ kinetin ในแต่ละสัปดาห์ พบว่า มีความสัมพันธ์เช่นเดียวกัน โดยสัปดาห์ที่ 16 เปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ kinetin มีความสัมพันธ์กันต่ำ ( $R=0.478$ ) ซึ่งสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรง (Linear) คือ  $y = -0.0992 + 3.4199X$  การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ kinetin มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัส 22.93 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์เปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสจากความเข้มข้นของ kinetin จะมีความคลาดเคลื่อนประมาณ 11.74 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่าเปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสในสัปดาห์ที่ 8 12 และ 16 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.1) ในสัปดาห์ที่ 4 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงสุด 15.00 เปอร์เซ็นต์ แต่ในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 พบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าสูงที่สุด โดยในสัปดาห์ที่ 16 มีค่าสูงสุด คือ 56.67 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในแต่ละสัปดาห์ พบว่า ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 ต่อเนื่องไปถึงสัปดาห์ที่ 16 มีความสัมพันธ์เป็นแบบเดียวกัน โดยในสัปดาห์ที่ 8 เปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสกับความเข้มข้นของ 2,4-D ( $X_1$ ) ร่วมกับ kinetin ( $X_2$ ) มีความสัมพันธ์กันสูง ( $R=0.672$ ) ซึ่งสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรง (Linear) คือ  $y = 4.9790 - 2.9950 X_1 + 1.5470 X_2$  การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสถึง 45.10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์เปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสจากความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin จะมีความคลาดเคลื่อนประมาณ 4.71 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

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

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

<sup>1</sup> 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 4.2) โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุดและน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด ซึ่งคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่าเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยทำให้ชิ้นส่วนมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุด ในทุกสัปดาห์ของการทดลอง โดยมีค่าสูงสุด 1.37 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 16 และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด (ตารางที่ 4.3) ในทุกสัปดาห์ของการทดลองเช่นเดียวกัน โดยในสัปดาห์ที่ 16 น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด 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 มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุดและน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด 1.03 คะแนน และ 0.38 กรัม ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) โดยมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด 1.47 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 16 และมีผลทำให้น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 8 และ 12 มีค่ามากที่สุด 0.55 กรัมและ 0.39 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) และการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนไม่สามารถชักนำแคลลัสได้ตลอดการทดลอง (ตารางที่ 4.2) 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 ซึ่งจากการพยากรณ์คะแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตเฉลี่ย จะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.108 คะแนน และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย และระดับความเข้มข้นของ kinetin ในแต่ละสัปดาห์ พบว่า ทุกสัปดาห์น้ำหนักเฉลี่ยไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ kinetin

เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่าคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยในทุกสัปดาห์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) 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 4.3) 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 มีผลทำให้น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด 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 น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยกับระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-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

จากการสังเกตพบว่าเมื่อขึ้นส่วนอายุ 1-3 สัปดาห์ ขึ้นส่วนกลีบดอกมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น โดยขึ้นส่วนมีการเปลี่ยนสีจากสีเขียวทึบไปเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาลอ่อน ขึ้นส่วนเริ่มมีสีน้ำตาลเมื่อขึ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์ และขึ้นส่วนส่วนใหญ่จะมีสีน้ำตาลเข้มมากขึ้น ซึ่งบางส่วนกลายเป็นสีดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปจนถึงสัปดาห์ที่ 16 และพบลักษณะบางใส และเหี่ยว (ภาพที่ 4.1) ได้ในทุกวิธีการ ขึ้นส่วนมีการเกิดแคลลัสได้ และเกิดแคลลัสในบางวิธีการ โดยสามารถชักนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลลัสได้ในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง แคลลัสที่ชักนำได้ส่วนมากเกิดบริเวณขอบด้านล่างของชิ้นส่วนที่อยู่ในวุ้น แคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นจุดเล็ก ๆ มีสีขาว หรือสีเหลืองอ่อน ขนาดประมาณ 1 – 2 มิลลิเมตร และพบการเกิดแคลลัสได้ที่บริเวณโคนของชิ้นส่วน โดยมีลักษณะเป็นก้อนกลมขนาดเล็ก ซึ่งส่วนมากมีสีเหลืองอ่อน แคลลัสที่ได้มีการเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) (ภาพที่ 4.2) แคลลัสในช่วงอายุ 8 และ 12 สัปดาห์ มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยแคลลัสมีการขยายขนาดและเปลี่ยนสี ส่วนมากมีการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองไปเป็นสีขาว แต่มีแคลลัสบางส่วนที่เปลี่ยนจากสีเหลืองหรือสีขาวไปเป็นแคลลัสที่มีสีเขียวได้ และในสัปดาห์ที่ 12 แคลลัสบางส่วนเริ่มเกิดสีน้ำตาลบริเวณด้านบน พบเป็นจำนวนมากในแคลลัสที่มีสีขาว ซึ่งแคลลัสเกิดสีน้ำตาลเป็นบริเวณกว้างขึ้นเมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปจนอายุ 16 สัปดาห์

### ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด

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 สภาพในที่มืด 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 4.4) 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 4.4) และพบว่าปริมาณของสารเบนซิล อะซีเทตในสัปดาห์ที่ 8 ส่วนใหญ่มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น จากสัปดาห์ที่ 4 (ภาพที่ 4.3) 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

ตารางที่ 4.2 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ สภาพในที่มืด

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

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

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

<sup>1)</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละช่วง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear

Q = Quadratic

C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

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

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear

Q = Quadratic

C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะของชิ้นส่วนที่พบในขณะทำการทดลอง A แสดงลักษณะบางใส ได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (กำลังขยาย 1.8X) B แสดงลักษณะเหี่ยว ได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (กำลังขยาย 2.0 X)



ภาพที่ 4.2 แสดงลักษณะแคลลัสเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง กลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (กำลัง ขยาย 1.7X)

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 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด (ตารางที่ 4.4) 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 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสดเท่ากัน ในสัปดาห์ที่ 8 (ตารางที่ 4.4) และจากผลการวิเคราะห์สารพบว่าส่วนใหญ่มีแนวโน้มการสะสมของสารได้ดีในสัปดาห์ที่ 4 (ภาพที่ 4.4) 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 จากแคลลัสสภาพในที่ที่มีแสง 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 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสดและมีสารเบนซิล แอลกอฮอล์ 0.450 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด (ตารางที่ 4.5) และแคลลัสที่ชักนำได้ในทุกวิธีการ สามารถผลิตสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิลแอลกอฮอล์ ได้ทั้ง 2 ชนิด และพบว่าปริมาณของสารเบนซิล อะซีเทตที่ผลิตได้มีมากกว่าสารเบนซิลแอลกอฮอล์ (ภาพที่ 4.5) จากแคลลัสที่ชักนำได้ทุกวิธีการ

แคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต ที่ผลิตได้มากที่สุด 8.052 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด (ตารางที่ 4.5) และแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตน้อยที่สุด 0.269 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด (ตารางที่ 4.5) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและระดับความเข้มข้นของทั้ง 2 ปัจจัย 2,4-D( $X_1$ ) ร่วมกับ kinetin( $X_2$ ) ไม่มีความสัมพันธ์กัน

แคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.907 มิลลิกรัมต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักสด (ตารางที่ 4.5) และแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิลแอลกอฮอล์น้อยที่สุด 0.050 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 4.5) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์และความเข้มข้นของ 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 4.6) 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-D มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสถึง 72.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนจากความเข้มข้นของ 2,4-D จะมีความคลาดเคลื่อนประมาณ 2.50 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาผลของ kinetin พบว่าทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 4.6) และสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในทุกๆ วิธีการ โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วน

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้ จากอาหารเพาะเลี้ยง 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	0.000	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

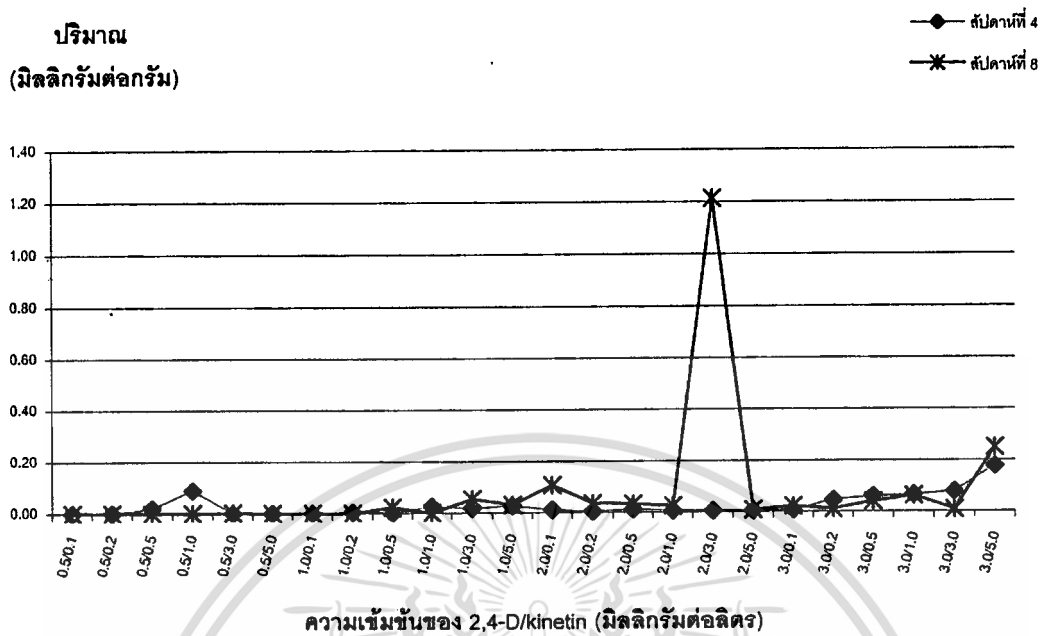
ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จาก แคลลัส สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

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

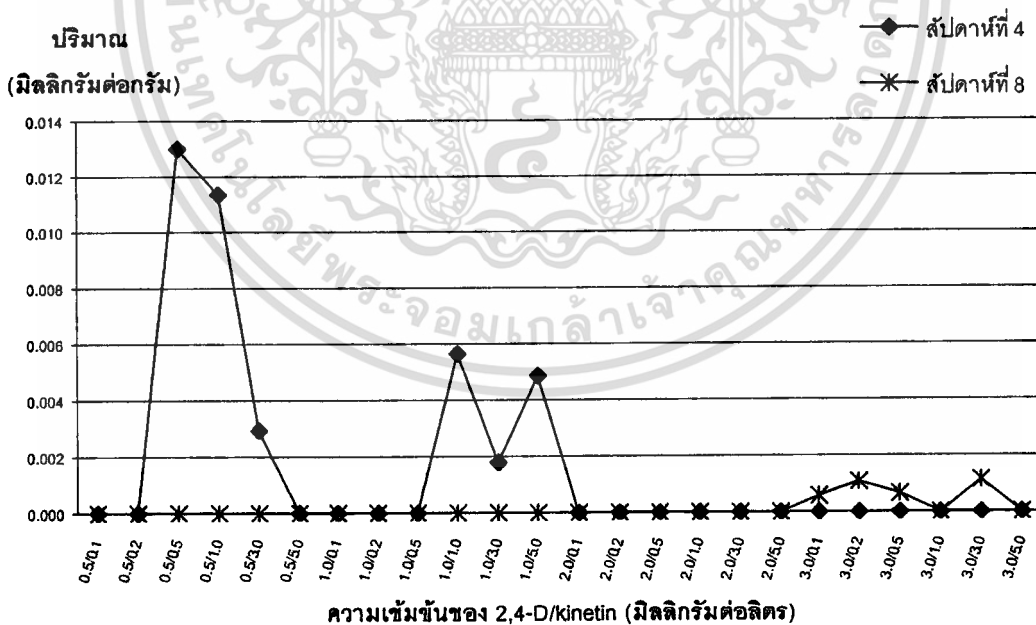
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

L = linear

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

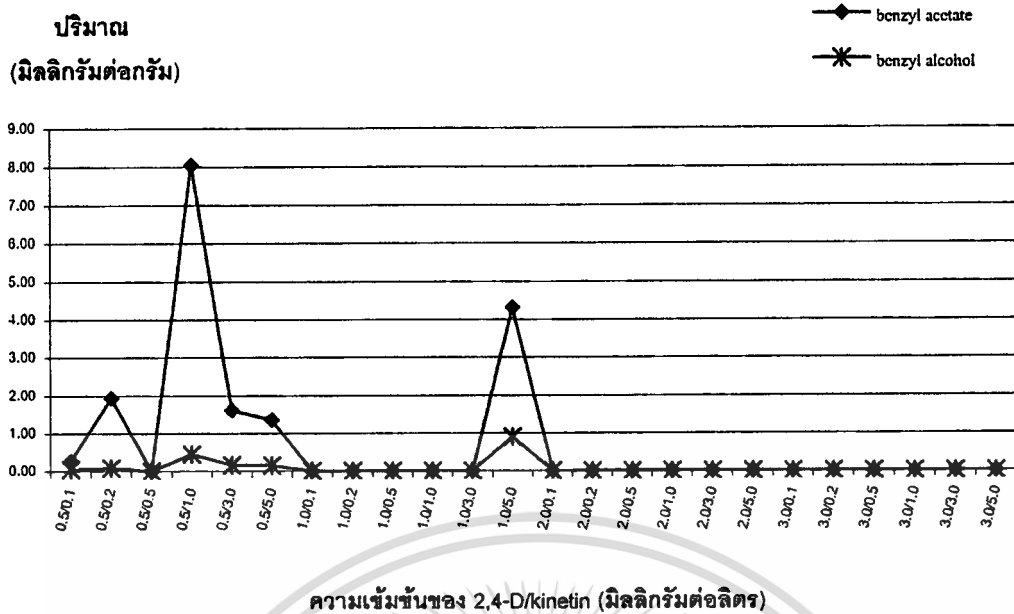


ภาพที่ 4.3 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเตตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ 8



ภาพที่ 4.4 แสดงปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซิเตตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัสสภาพในที่มืด 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 พบว่าเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสในทุกสัปดาห์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.6) 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 จากการสังเกตพบว่าเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8 ต่อเนื่องถึงสัปดาห์ที่ 16 มีความสัมพันธ์เป็นแบบเดียวกัน โดยในสัปดาห์ที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสและระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 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 จะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสถึง 37.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์เปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัสจะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 3.687 เปอร์เซ็นต์

### การเจริญเติบโตของแคลลัส

จากการนำขึ้นส่วนกลีบดอกมาเพาะเลี้ยง เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D พบว่าคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยในทุกสัปดาห์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.7) 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 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.8) และในการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นส่วนไม่สามารถชักนำแคลลัสได้เลยตลอดการทดลอง เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและความเข้มข้นของ 2,4-D พบว่า ในสัปดาห์ที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยและระดับความเข้มข้นของ 2,4-D มีความสัมพันธ์กันสูง( $R=0.812$ ) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบพหุนามเมื่อยกกำลังสาม(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 4.7) และขึ้นส่วนมีการเจริญเติบโตได้ในทุกวิธีการ โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย มีค่าสูงสุดที่ 1.05 คะแนนและมีค่าสูงสุดต่อเนื่องไปจนถึงสัปดาห์ที่ 16 ซึ่งมีค่า

ตารางที่ 4.6 แสดงเปอร์เซ็นต์ขึ้นส่วนเกิดแคลลัส เมื่อเพาะขึ้นส่วนกลีบดอกมะลิลาในอาหาร  
สูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ สภาพในที่มืด

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

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

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

<sup>1)</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear

Q = Quadratic

C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คงที่ตลอดการทดลอง และในทุกวิธีการ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าน้ำหนักแคลลัสเจลีย์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.8) โดยน้ำหนักแคลลัสเจลีย์มีค่ามากที่สุด 0.1273 กรัม ในสัปดาห์ที่ 16 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเจลีย์และความเข้มข้นของ kinetin พบว่า ในสัปดาห์ที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเจลีย์และระดับความเข้มข้นของ kinetin มีความสัมพันธ์กัน ( $R=0.556$ ) โดยสมการของความสัมพันธ์เป็นแบบควอดราติก (Quadratic) คือ  $y = 1.051 - 0.0662X + 0.0260X^2$  การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ kinetin จะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตเจลีย์ถึง 30.91 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์คะแนนการเจริญเติบโตเจลีย์จะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.200 คะแนน และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแคลลัสเจลีย์และระดับความเข้มข้นของ kinetin ในสัปดาห์ที่ 16 พบว่า น้ำหนักแคลลัสเจลีย์ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ kinetin

เมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่าคะแนนการเจริญเติบโตเจลีย์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.7) ในทุกสัปดาห์ของการทดลอง ซึ่งเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเจลีย์มีค่าสูงสุด 1.18 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 8 และมีค่าสูงสุดต่อเนื่องตลอดการทดลองโดยคะแนนการเจริญเติบโตเจลีย์มีค่าสูงสุด 1.19 คะแนน และมีค่าคงที่ ในสัปดาห์ที่ 12 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าน้ำหนักแคลลัสเจลีย์มีค่าสูงสุด 0.4935 กรัม ในสัปดาห์ที่ 16 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการเจริญเติบโตเจลีย์และความเข้มข้นของ 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 จะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตเจลีย์ถึง 45.60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์คะแนนการเจริญเติบโตเจลีย์จะมีค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ 0.178 คะแนน และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแคลลัสเจลีย์และความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในสัปดาห์ที่ 16 พบว่าน้ำหนักแคลลัสเจลีย์และระดับความเข้มข้นของทั้ง 2 ปัจจัย 2,4-D ร่วมกับ kinetin ไม่มีความสัมพันธ์กัน

จากการสังเกตพบว่าชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตโดยมีการเกิดแคลลัสบริเวณส่วนโคนและกลางชิ้นส่วน ซึ่งแคลลัสที่ชักนำได้ มีลักษณะเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ เกิดเป็นกลุ่มก้อนขนาดเล็กและมีสีเหลือง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปแคลลัสมีการพัฒนาเป็นสีเขียวหรือสีเขียวยาวได้น้อยมาก 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 แอลกอฮอล์ มากที่สุด 0.151 และ 0.009 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9) 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 และ สารเบนซิล แอลกอฮอล์ (ตารางที่ 4.9) และในสัปดาห์ที่ 8 สามารถพบสารเบนซิล อะซีเทต และ สารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.9)

พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต มากที่สุด 0.165 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 4.9) 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 4.9) พบว่าส่วนใหญ่ปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต ในสัปดาห์ที่ 4 มีแนวโน้มลดลงเมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปในสัปดาห์ที่ 8 (ภาพที่ 4.6) และพบว่ามีการเกิดการสะสมของสารได้เมื่อสัปดาห์ที่ 8 (ภาพที่ 4.6) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตกับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-D( $X_1$ ) ร่วมกับ kinetin( $X_2$ ) มีความสัมพันธ์กัน( $R=0.515$ ) โดยสมการของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สแกนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญูญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง(Linear) คือ  $y=0.0668-0.0242X_1-0.0015X_2$  การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin จะมีผลต่อปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตถึง 26.60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการพยากรณ์ปริมาณสารเบนซิล 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 4.9) ในสัปดาห์ที่ 4 และอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.171 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด ในสัปดาห์ที่ 8 (ตารางที่ 4.9) และพบว่าปริมาณของสารในสัปดาห์ที่ 8 ส่วนใหญ่ เพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 4 (ภาพที่ 4.7) 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 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด

### 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 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่านั้น ที่สามารถผลิตสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ได้ทั้ง 2 ชนิด คือ 6.028 และ 0.615 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด (ตารางที่ 4.10) แคลลัสที่ผลิตได้ส่วนมากมีการผลิตสารเบนซิล อะซีเทตได้ดีกว่าสารเบนซิล แอลกอฮอล์ (ภาพที่ 4.8) ปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต ที่ผลิตได้จากแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณมากที่สุด 6.028 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด(ตารางที่ 4.10) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตกับความเข้มข้นของ

ตารางที่ 4.7 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย (คะแนน) ( $\pm$ SE) <sup>1)</sup>		
		อายุ (สัปดาห์)		
		8	12	16
2,4-D	0.5	1.09 $\pm$ 0.02a	1.10 $\pm$ 0.03a	1.10 $\pm$ 0.03a
	1.0	1.01 $\pm$ 0.01b	1.01 $\pm$ 0.01b	1.01 $\pm$ 0.01b
	2.0	1.00 $\pm$ 0.00b	1.00 $\pm$ 0.00b	1.00 $\pm$ 0.00b
	3.0	1.00 $\pm$ 0.00b	1.00 $\pm$ 0.00b	1.00 $\pm$ 0.00b
F-test		**	**	**
Regression		L**Q**C**	L**Q**C**	L**Q**Cns
Kinetin	0.1	1.02 $\pm$ 0.01	1.02 $\pm$ 0.01	1.02 $\pm$ 0.01
	0.2	1.02 $\pm$ 0.02	1.02 $\pm$ 0.02	1.02 $\pm$ 0.02
	0.5	1.01 $\pm$ 0.01	1.01 $\pm$ 0.01	1.01 $\pm$ 0.01
	1.0	1.05 $\pm$ 0.05	1.05 $\pm$ 0.05	1.05 $\pm$ 0.05
	3.0	1.04 $\pm$ 0.04	1.04 $\pm$ 0.04	1.04 $\pm$ 0.04
	5.0	1.03 $\pm$ 0.02	1.03 $\pm$ 0.02	1.03 $\pm$ 0.02
F-test		ns	ns	ns
Regression		LnsQnsCns	LnsQnsCns	L**Q**Cns

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 (ต่อ)

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

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear

Q = Quadratic

C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงบนอาหารMS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สภาพในที่มืด

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		น้ำหนักแคลลัส/ชิ้นส่วน (กรัม) ( $\pm$ SE) <sup>1)</sup>	
		อายุ 16 สัปดาห์	
2,4-D 0.5	kinetin 0.1	0.0028 $\pm$ 0.0011b	
	0.2	0.0045 $\pm$ 0.0036b	
	0.5	0.0646 $\pm$ 0.0011b	
	1.0	0.0004 $\pm$ 0.0003b	
	3.0	0.0109 $\pm$ 0.0085b	
	5.0	0.0159 $\pm$ 0.0051b	
2,4-D 1.0	kinetin 0.1	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	0.2	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	0.5	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	1.0	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	3.0	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	5.0	0.4935 $\pm$ 0.1425a	
2,4-D 2.0	kinetin 0.1	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	0.2	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	0.5	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	1.0	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	3.0	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	5.0	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
2,4-D 3.0	kinetin 0.1	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	0.2	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	0.5	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	1.0	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	3.0	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
	5.0	0.0000 $\pm$ 0.0000b	
F- test		**	
Regression		Lns	
CV(%)		2.59	

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

<sup>1)</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

L = linear

Q = Quadratic

C = Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเตตและระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-D( $X_1$ ) ร่วมกับ kinetin( $X_2$ )

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 4.10) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์กับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเบนซิล อะซีเตต และระดับความเข้มข้นของทั้งสองปัจจัย 2,4-D( $X_1$ ) ร่วมกับ kinetin( $X_2$ )

#### 4.2 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 พบว่าเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสในทุกสัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.11) โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าสูงสุดตลอดการทดลอง โดยมีเปอร์เซ็นต์เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงสุด 15.39 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 8 และมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงสุดครั้งที่ 21.79 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 12 และในสัปดาห์ที่ 16

จากการสังเกตพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส มีค่าคงที่ในสัปดาห์ที่ 12 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 16 และเป็นเช่นเดียวกันในทุกวิธีการทดลอง โดยชิ้นส่วนไม่มีการสร้างแคลลัสเพิ่มขึ้นอีก เมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 12 สัปดาห์ขึ้นไป

ตารางที่ 4.9 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

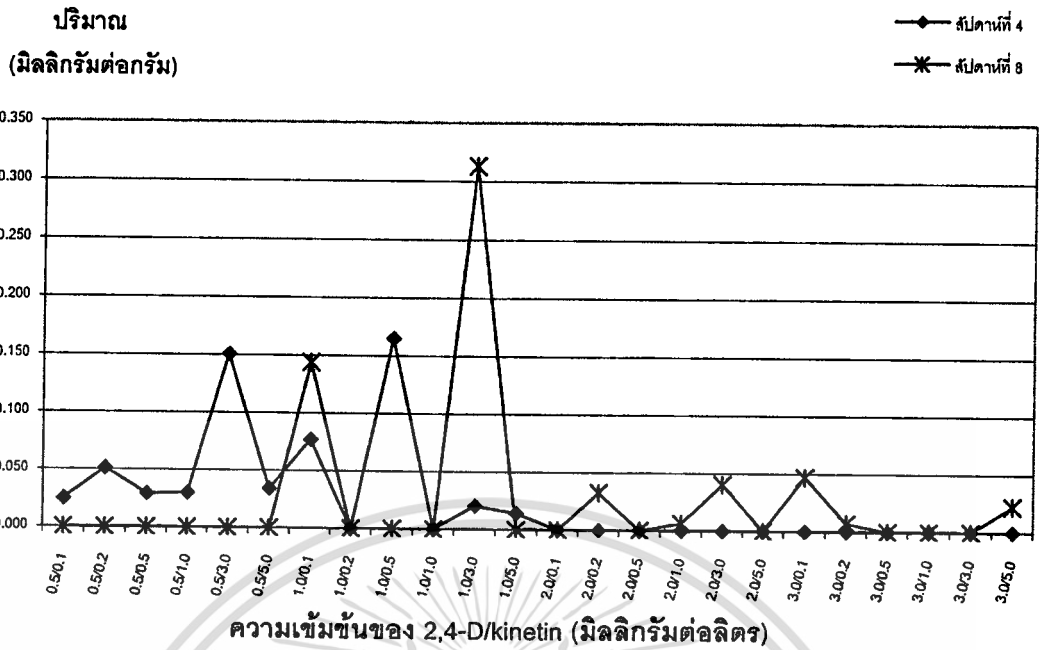
ตารางที่ 4.10 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จาก  
แคลลัส สภาพในที่มืด ในสัปดาห์ที่ 16

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

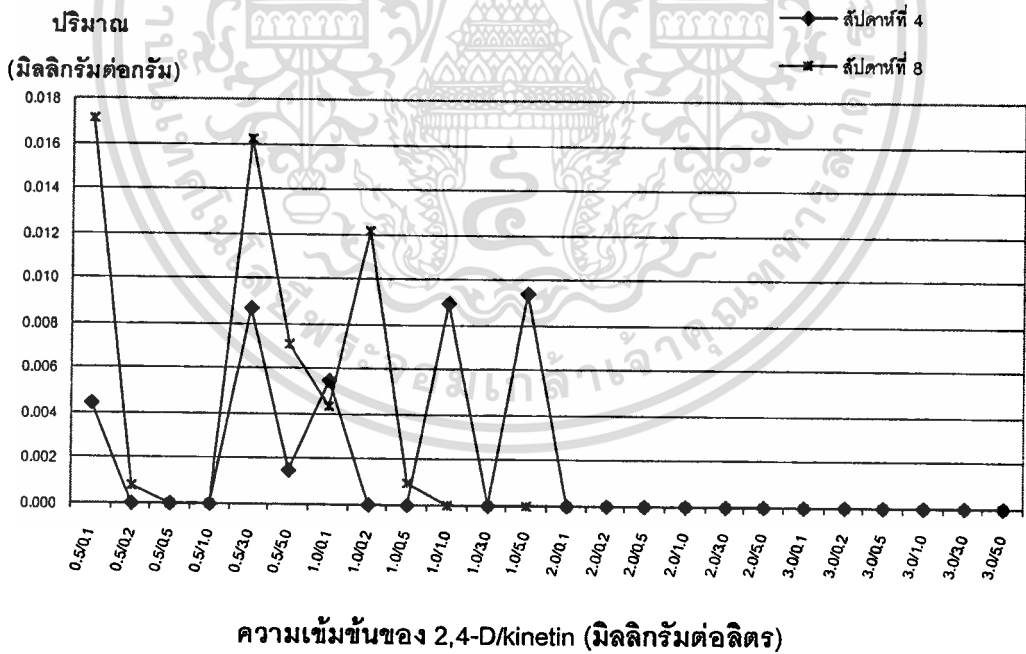
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

L=Linear

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

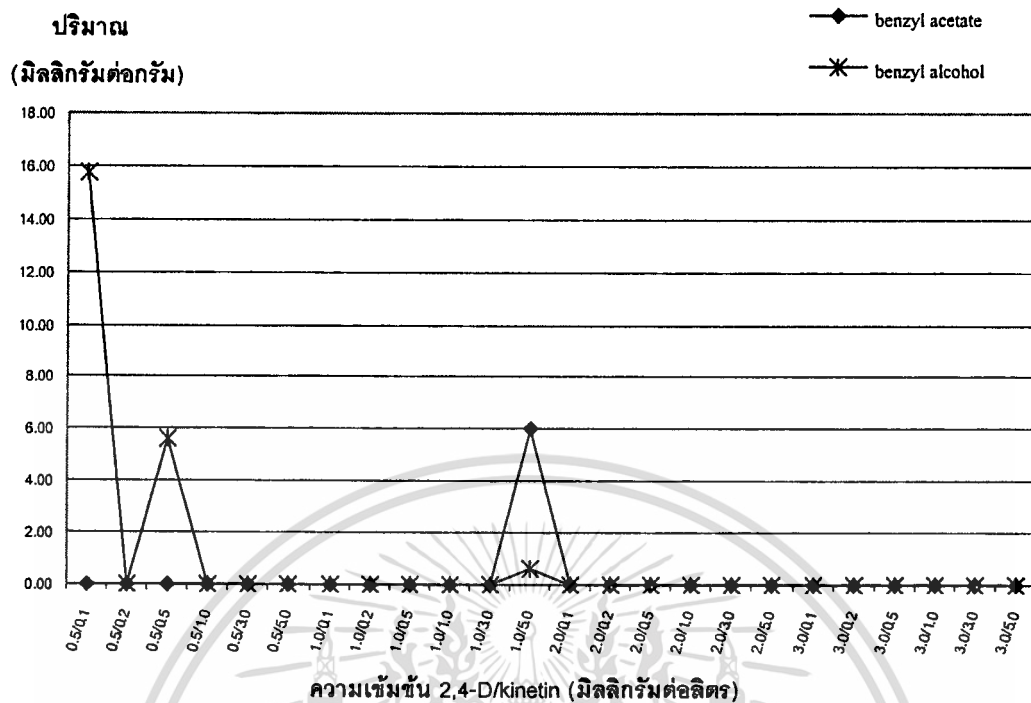


ภาพที่ 4.6 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเตตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ 8



ภาพที่ 4.7 แสดงปริมาณสารเบนซิลแอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สภาพในที่มืด สัปดาห์ที่ 4 และ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซิเตต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส  
สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

ตารางที่ 4.11 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหาร MS  
ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส (%) ( $\pm$ SE)		
2,4-D	kinetin	อายุ (สัปดาห์)		
		8	12	16
0.5	0.1	6.22 $\pm$ 1.46	8.90 $\pm$ 2.15	8.90 $\pm$ 2.15
0.5	0.2	3.41 $\pm$ 1.41	4.60 $\pm$ 1.75	4.60 $\pm$ 1.75
0.5	1.0	6.08 $\pm$ 2.42	8.47 $\pm$ 3.35	8.47 $\pm$ 3.35
0.5	3.0	15.39 $\pm$ 4.68	21.79 $\pm$ 7.29	21.79 $\pm$ 7.29
0.5	5.0	8.57 $\pm$ 2.02	19.89 $\pm$ 5.87	19.89 $\pm$ 5.87
1.0	5.0	6.84 $\pm$ 2.93	8.04 $\pm$ 3.73	8.04 $\pm$ 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 4.12 และตารางที่ 4:13) การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุด และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่ามากที่สุด ในสัปดาห์ที่ 8 และสัปดาห์ที่ 12 โดยคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าสูงสุด 1.31 และ 1.74 คะแนน และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด 0.11 และ 0.27 กรัม ตามลำดับ ซึ่งน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยยังคงมีค่ามากที่สุดเช่นเดียวกับในสัปดาห์ที่ 16 โดยมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด 1.10 กรัม ซึ่งน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.13)

จากการสังเกตพบว่าชิ้นส่วนเริ่มมีการสร้างแคลลัสได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 และสัปดาห์ที่ 7 ในทุกวิธีการทดลอง ซึ่งมีการสร้างแคลลัสเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นพบได้ทั้งบริเวณด้านล่าง ตรงกลาง และด้านบนของชิ้นส่วน โดยเกิดเป็นจุดเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไปหรือจับตัวเป็นกลุ่มก้อน ซึ่งพบแคลลัสได้ทั้ง 2 ด้านของชิ้นส่วน แคลลัสที่ได้นี้มีการเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) ส่วนใหญ่มีสีเขียว มีลักษณะใส และในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 12 แคลลัสมีการสร้างสารสีและขยายขนาดเพิ่มขึ้น โดยแคลลัสบางส่วนมีการเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีเขียวยellow อย่างเห็นได้ชัดเจน แต่ส่วนใหญ่ยังคงมีสีเขียวเหมือนเดิมตั้งแต่ครั้งแรกที่เกิดขึ้น และมีการเพิ่มขนาดมากขึ้นจากเดิมนอกจากนี้ยังพบแคลลัสที่มีสีเหลือง ซึ่งแคลลัสสีเหลืองนี้มักเกิดเป็นกระจุกขนาดเล็ก อยู่บริเวณชิ้นส่วนด้านล่างอีกด้วย และในสัปดาห์ที่ 16 แคลลัสยังคงมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้น โดยมีการสร้างแคลลัสเพิ่มขึ้นจากด้านล่างของชิ้นส่วนซึ่งแคลลัสที่เกิดขึ้นใหม่มักจะมีสีขาวเป็นส่วนมาก

พบว่าในสัปดาห์ที่ 14 แคลลัสเริ่มมีสีน้ำตาลเกิดขึ้นบริเวณด้านบน ซึ่งแคลลัสกลายเป็นสีน้ำตาลเริ่มจากด้านบนของแคลลัส และค่อยๆ กลายเป็นสีน้ำตาลเรื่อยลงไปยังแคลลัสด้านล่าง โดยมีสีน้ำตาลเกิดขึ้นกระจายไปยังบริเวณโดยรอบของแคลลัส ซึ่งพบได้จากด้านบนของชิ้นส่วนแคลลัสเท่านั้น พบได้ทั้งในแคลลัสที่มีสีขาวและแคลลัสที่มีสีเขียว และเริ่มพบมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 15 เรื่อยไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง

ตารางที่ 4.12 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

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

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4.13 แสดงน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

สารควบคุม การเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		น้ำหนักแคลลัส/ชิ้นส่วน ( $\pm$ SE) <sup>1)</sup>		
2,4-D	Kinetin	อายุ (สัปดาห์)		
		8	12	16
0.5	0.1	0.05 $\pm$ 0.24	0.12 $\pm$ 0.22	0.35 $\pm$ 0.16b
0.5	0.2	0.02 $\pm$ 0.49	0.13 $\pm$ 0.47	0.35 $\pm$ 0.43b
0.5	1.0	0.03 $\pm$ 0.74	0.19 $\pm$ 0.71	0.45 $\pm$ 0.66ab
0.5	3.0	0.11 $\pm$ 0.97	0.27 $\pm$ 0.93	1.10 $\pm$ 0.76a
0.5	5.0	0.09 $\pm$ 1.23	0.15 $\pm$ 1.21	0.47 $\pm$ 1.14a
1.0	5.0	0.03 $\pm$ 1.49	0.11 $\pm$ 1.47	0.17 $\pm$ 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 จากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสูตร 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 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 4.14 และ ตารางที่ 4.15) 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 อะซีเทตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.14) ในทุกสัปดาห์ของการทดลอง และพบว่าผลรวมปริมาณของสารเบนซิล อะซีเทตในทุกวิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.14) 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 มีปริมาณเท่ากัน และมีปริมาณมากที่สุด 0.101 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

จากการสังเกตพบว่าปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตในทุกวิธีการทดลอง มีปริมาณมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 8 และทุกวิธีการมีปริมาณลดลงในสัปดาห์ที่ 12 และลดน้อยลงอีกเรื่อยๆ โดยมีปริมาณเบนซิล อะซีเทตน้อยที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 พบว่าผลรวมปริมาณของสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณมากกว่าผลรวมปริมาณของสารเบนซิล อะซีเทต (ภาพที่ 4.9) 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 มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ไปในทิศทางเดียวกัน โดยจะมีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุดใบสัปดาห์ที่ 8 และมีปริมาณลดลง ใบสัปดาห์ที่ 12 และมีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยมีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์น้อยที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 โดยมีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ 0.080 0.036 และ 0.015 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ใบสัปดาห์ที่ 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 ใบสัปดาห์ที่ 16 และอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ของการทดลอง โดยมีปริมาณมากที่สุด 0.272 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ใบสัปดาห์ที่ 16 ซึ่งปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.15) และผลรวมปริมาณของสารเบนซิล แอลกอฮอล์ในทุกวิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.15) 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 4.10) และพบว่าปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.16) ในทุกสัปดาห์ โดยปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต 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 และแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5

มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ น้อยที่สุด 1.864 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ซึ่งปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.16) ในทุกสัปดาห์

ตารางที่ 4.14 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ในสัปดาห์ต่าง ๆ

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

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 แสดงปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงใน  
สัปดาห์ต่าง ๆ

สารควบคุม		ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม)(±SE)				
การเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		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

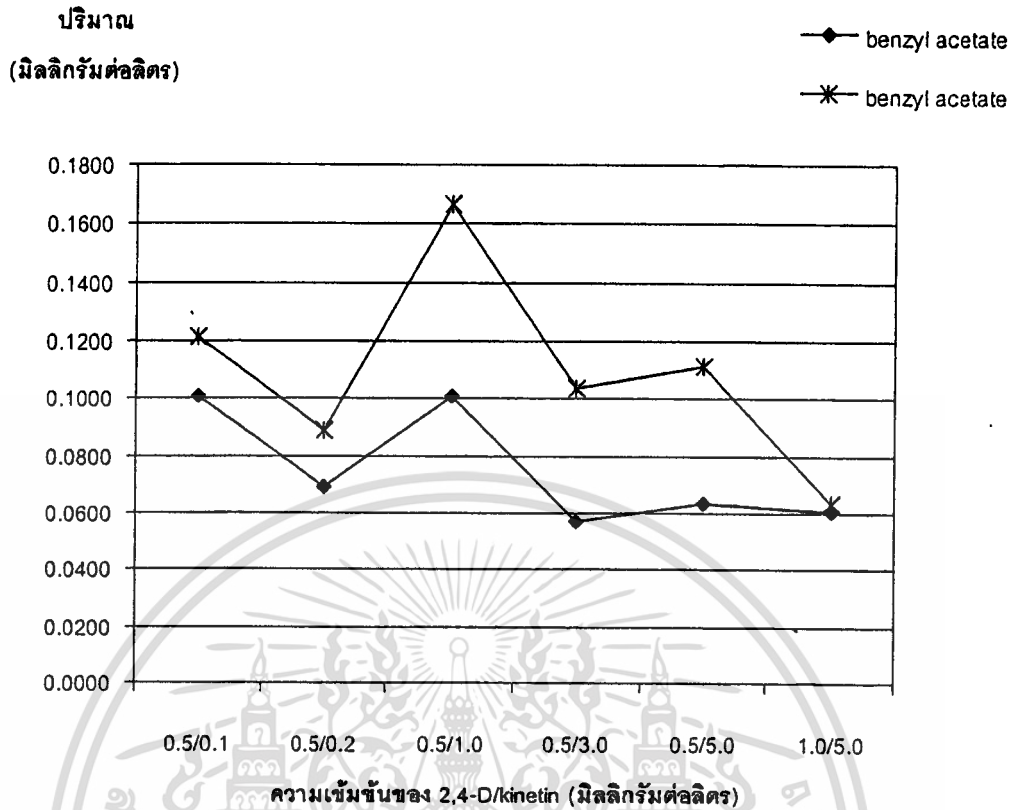
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4.16 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จาก  
แคลลัส เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

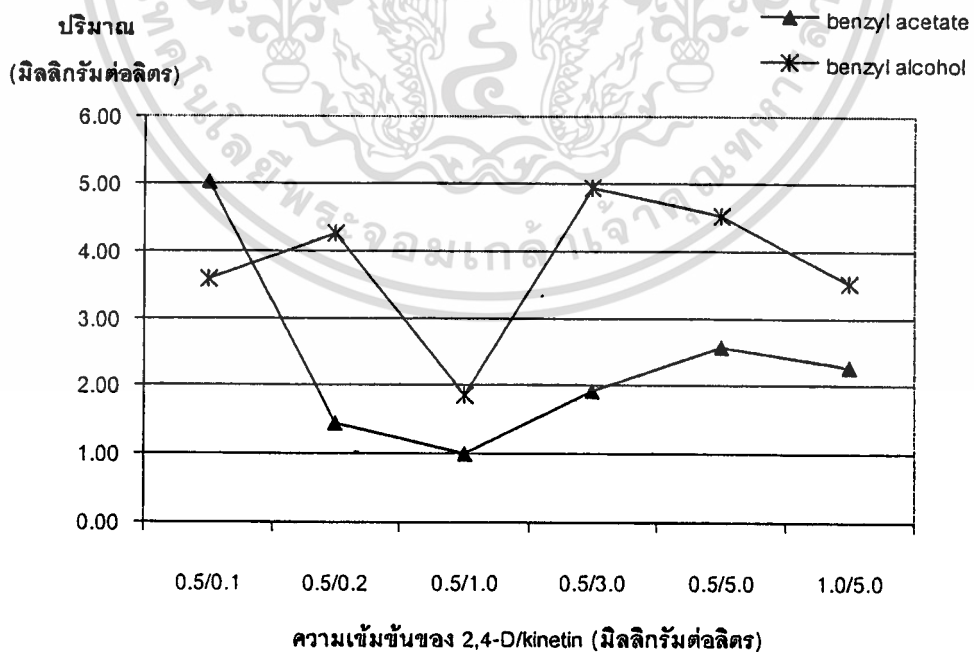
สารควบคุม		ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม)(±SE)	
การเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		สารเบนซิล อะซีเทต	สารเบนซิล แอลกอฮอล์
2,4-D	kinetin		
0.5	0.1	5.031±1.494	3.564±0.824
0.5	0.2	1.445±0.895	4.248±2.587
0.5	1.0	0.994±0.569	1.864±0.770
0.5	3.0	1.917±1.250	4.948±1.613
0.5	5.0	2.571±0.249	4.536±1.386
1.0	5.0	2.283±1.084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

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿去ใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 แสดงผลรวมปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงในสัปดาห์ต่าง ๆ



ภาพที่ 4.10 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์จากแคลลัสเมื่ออายุ 16 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

#### เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลาในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าวและสารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆกัน พบว่าทุกสัปดาห์ของการทดลอง เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.17) โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงที่สุด 89.00 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 12 และมีค่าสูงสุดตลอดการทดลอง รองลงมาเป็นการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าวเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส 85.00 และ 78.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าทุกสัปดาห์มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสน้อยที่สุด

จากการสังเกตพบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีค่าคงที่ในสัปดาห์ที่ 8 จนถึงสัปดาห์ที่ 12 ซึ่งแตกต่างจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีการเพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ของการทดลอง และการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร 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 4.18) 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 มีการสร้างสารสีและขยายขนาดมากขึ้น (ตารางที่ 4.18 และ 4.19) และหลังจากสัปดาห์ที่ 8 ไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จนถึงสัปดาห์ที่ 12 พบว่ามีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเช่นกันแต่แคลลัสมีการพัฒนาอย่างช้าๆ โดยมีการสร้างสารสีและขนาดเพิ่มขึ้นอีกเพียงเล็กน้อย และในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าแคลลัสมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดยเริ่มจากด้านบนลงมา ซึ่งพบได้ทั้งจากแคลลัสที่มีสีขาวและสีเขียว นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.19) 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 4.11) 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 4.18) โดยแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยง จะมีส่วนเป็นสีน้ำตาล และมีการเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ (friable callus) การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร ในสัปดาห์ที่ 10 พบว่าแคลลัสเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น โดยบริเวณด้านบนของแคลลัสกลายเป็นสีน้ำตาลซึ่งพบได้มากในแคลลัสที่มีสีขาว (ภาพที่ 4.12) และเกิดต่อเนื่องไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง และในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร มีผลทำให้น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่าสูงที่สุด 1.74 กรัมและรองลงมา 1.64 กรัม (ตารางที่ 4.19) เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 100 มิลลิลิตรต่อลิตร และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมีค่าเพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ของการทดลอง

ตารางที่ 4.17 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

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

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

<sup>1)</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละต้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

ตารางที่ 4.18 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

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

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

<sup>1)</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละต้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 แสดงน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหาร  
สูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิ  
กรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

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

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

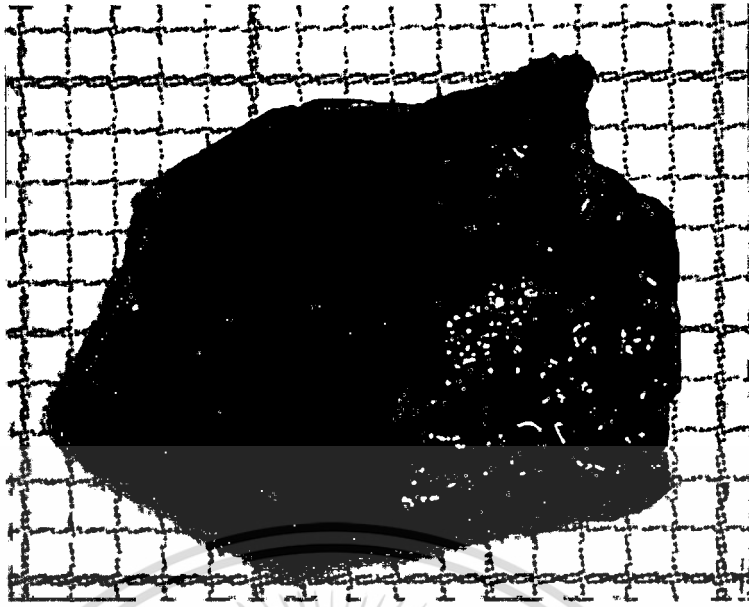
<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

### ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากอาหาร เพาะเลี้ยง

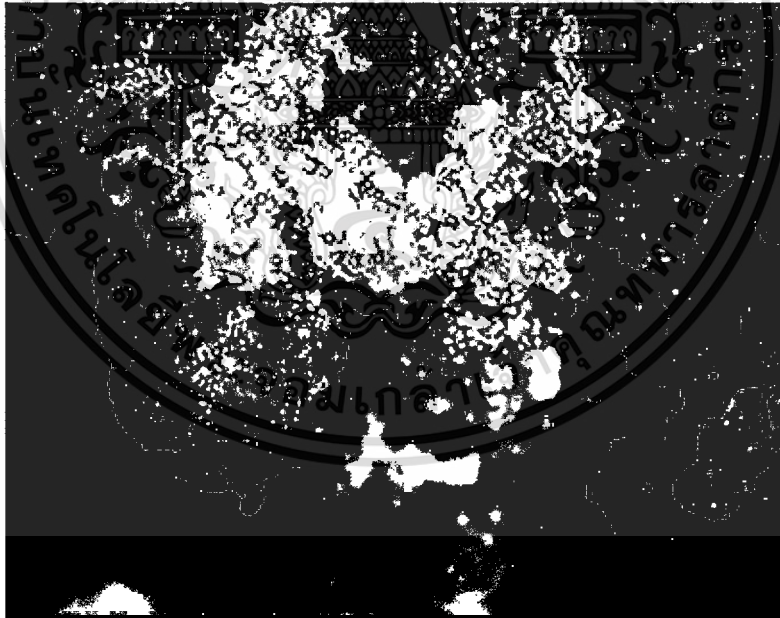
จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ จากอาหารที่  
ใช้เพาะเลี้ยงสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0  
มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าวและสารสกัดจากยีสต์ ในปริมาณต่างๆที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง  
ชิ้นส่วนเมื่ออายุ 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50  
มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ มากที่สุด 0.026 และ  
0.003 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 4.20) และในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำ  
มะพร้าวเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อลิตร และสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อ  
ลิตร ไม่พบทั้งสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ (ตารางที่ 4.20) พบว่าอาหารสูตร  
MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงวิธีการเดียวเท่านั้นที่มี สารเบนซิล อะ  
ซีเทตและมีปริมาณ 0.263 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 4.20) (ภาพที่ 4.13) และอาหาร  
สูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงวิธีการเดียวเช่นกันที่มีสารเบน  
ซิล แอลกอฮอล์ (ภาพที่ 4.14) โดยมีปริมาณ 0.003 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 4.20)  
ในสัปดาห์ที่ 4 และในสัปดาห์ที่ 8 สามารถพบสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้ในอาหารสูตร ที่เติมน้ำ  
มะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตร (ตารางที่ 4.20) เพียงวิธีการเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญูญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.11 แสดงลักษณะชิ้นส่วนเกิดสีดำนบริเวณครึ่งล่าง 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 4.12 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดสีน้ำตาล ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (กำลังขยาย 6.42X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา 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 4.21) ซึ่งแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถผลิตสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ได้ทั้ง 2 ชนิด และแคลลัสมีการผลิตสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้ในทุกวิธีการ แต่ผลิตสารเบนซิล อะซีเทตได้ในบางวิธีการเท่านั้น (ภาพที่ 4.15)

แคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่ผลิตได้มากที่สุด 0.183 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณน้อยที่สุด 0.007 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 4.21)

แคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.014 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 4.21) และแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีปริมาณสารเบนซิล แอลกอฮอล์น้อยที่สุด 0.003 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 4.21) โดยแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถผลิตได้เพียงสารเบนซิล แอลกอฮอล์เท่านั้น (ตารางที่ 4.21)

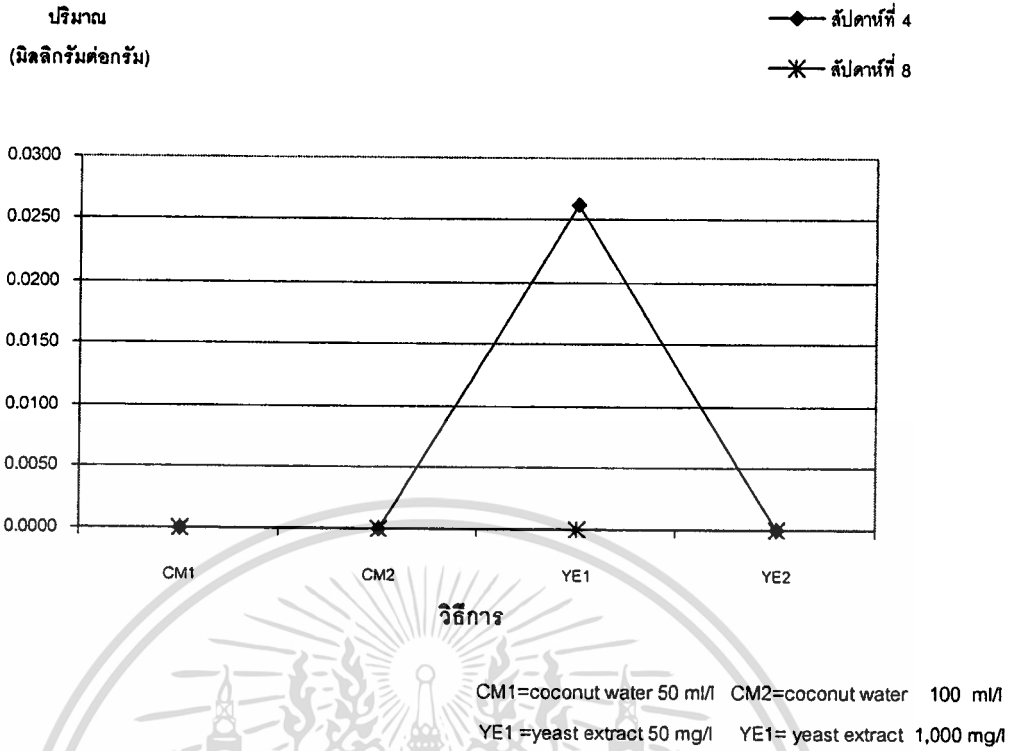
ตารางที่ 4.20 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8

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

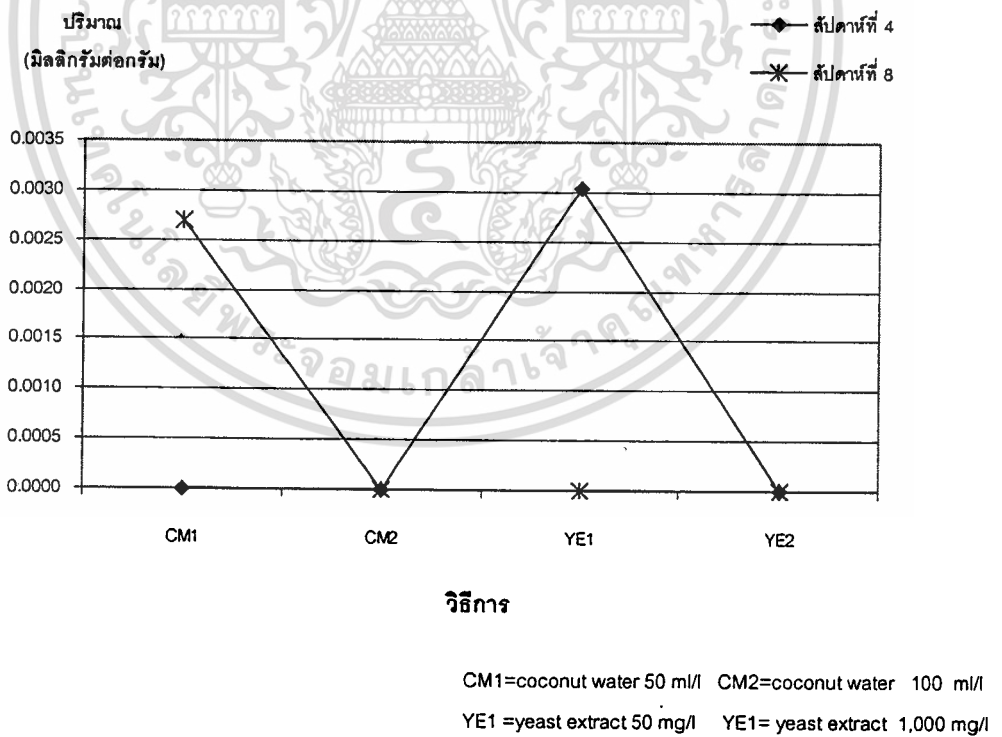
ตารางที่ 4.21 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทต และสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

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

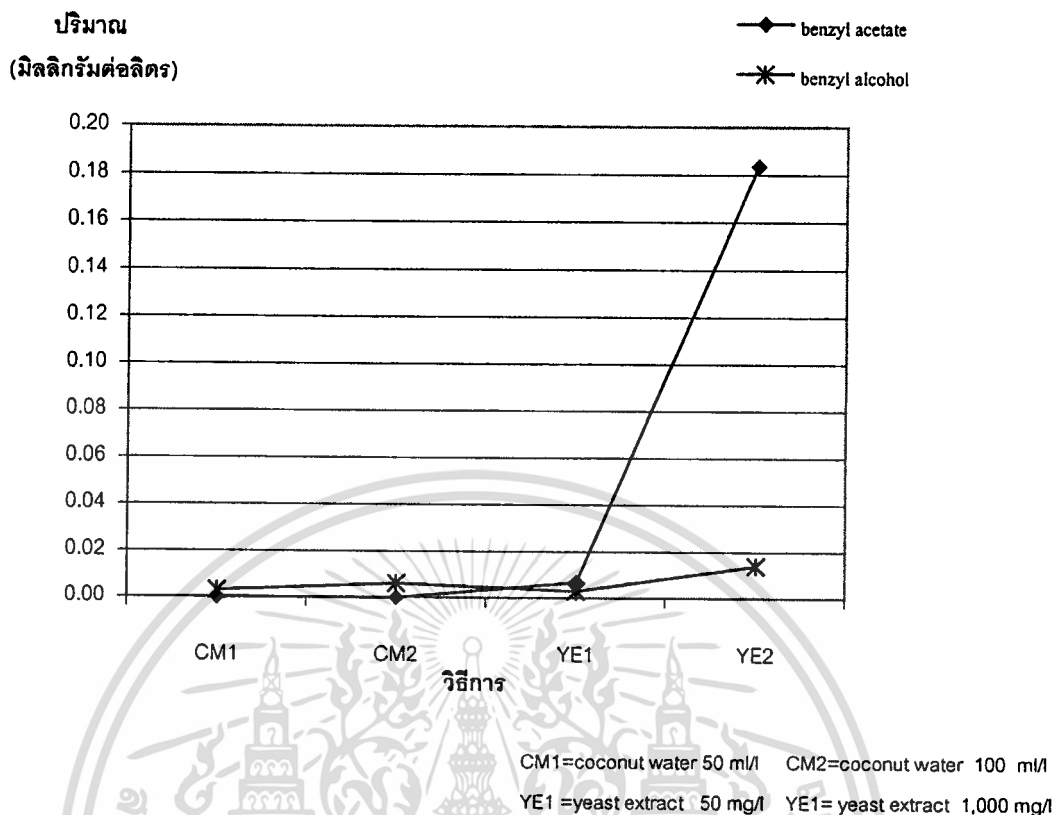


ภาพที่ 4.13 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเทตที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และ 8



ภาพที่ 4.14 แสดงปริมาณและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยง สัปดาห์ที่ 4 และ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.15 แสดงปริมาณสารเบนซิล อะซีเตตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้จากแคลลัส เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยบางชนิดของมะลิลาในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่มืด 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 เกื่อมณี, 2536: รั้งสุษฎฐ์ กาวีตะ, 2545) ซึ่งไซโตไคนินมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเนื้อเยื่อที่มีหรือได้รับออกซินในระดับที่เหมาะสม สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดนี้ มีส่วนร่วมกันในการควบคุมวงจรเซลล์ แต่ออกซินนั้นอาจไปควบคุมการชักนำให้เกิดการจำลองดีเอ็นเอ ในขณะที่ไซโตไคนินไปควบคุมใน ส่วนชักนำให้เกิดไมโทซิส (รั้งสุษฎฐ์ กาวีตะ, 2545) จากผลการทดลองพบว่าชิ้นส่วนกลีบดอกที่เพาะเลี้ยงสภาพในที่มืด ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมด้วย kinetin เข้มข้นที่ระดับต่างๆ มีความเหมาะสมในการชักนำให้ชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลาเกิดแคลลัสได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงในสภาพมืด ซึ่งแคลลัสที่ชักนำได้ในสภาพแสงมีจำนวนมากกว่าและมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า เนื่องจากแสงมีความจำเป็นต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงพัฒนาทางด้านสัณฐานที่ถูกควบคุมด้วย พันธุกรรม (morphogenic process) (รั้งสุษฎฐ์ กาวีตะ, 2545)

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

จากผลการทดลอง พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว ชัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ดีกว่าการเติมสารสกัดจากยีสต์ในทุกความเข้มข้น เนื่องจากในน้ำมะพร้าวมีสารเร่งการเจริญเติบโตอยู่หลายชนิด เช่น ซีเอทีน (zeatin) ซึ่งเป็นไซโตไคนินธรรมชาติ ช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ เมื่อนำมาใช้ร่วมกับออกซินจะช่วยกระตุ้นให้แคลลัสเจริญได้ดีขึ้น (ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์, 2546) โดยการเติมน้ำมะพร้าวทำให้ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตได้ดีและมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้สูงที่สุด และแคลลัสที่ได้มีน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุด แต่แคลลัสที่ชักนำได้ไม่มีการผลิตสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้เพียงเล็กน้อย เนื่องจากชิ้นส่วนได้นำสารปฐมภูมิมาใช้ในการเจริญเติบโต มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว มีการสร้างแคลลัส ทำให้ไม่มีการสะสมของสารทุติยภูมิ และเกิดการสังเคราะห์สารในปริมาณน้อยมากหรือเกือบจะไม่มีให้เห็น (Ramawat, 1999) ซึ่งแตกต่างจากแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ ที่มีการผลิตได้ทั้งสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ 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 แอลกอฮอล์ จากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วน ทำให้ทราบว่าชิ้นส่วนมีการปลดปล่อยสารที่ผลิตได้ลงสู่อาหารด้วย แต่เมื่อเปรียบเทียบกับแคลลัสแล้วจะพบว่า ปริมาณสารทั้ง 2 ชนิด ที่พบในแคลลัสจะมีปริมาณมากกว่าในอาหารเพาะเลี้ยง เนื่องจากในกลีบดอกมะลิลา มีการสร้างและสะสมของสารหอมทั้ง 2 ชนิดนี้ บริเวณเซลล์อิพิเดอมิส (ประเทืองศรี สิ้นชัยศรี, 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากชั้นส่วนอยู่ในระยะการเจริญเติบโตในช่วงสเตชันนารี เฟส (stationary phase) ที่มีการสังเคราะห์สารทุติยภูมิเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก โดยเซลล์มีการเจริญเติบโตลดลงมาก ทำให้สารปฐมภูมิทั้งหมดเปลี่ยนมาสังเคราะห์เป็นสารทุติยภูมิแทน และมีการสะสมของสารทุติยภูมิในปริมาณมาก (Ramawat, 1999) และมีการปลดปล่อยลงสู่อาหารจึงพบการสะสมของสารเบนซิลอะซีเทต และพบสารเบนซิล แอกอฮอล์ ในปริมาณมากกว่าในสัปดาห์อื่นๆ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 6

# สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

### 6.1 สรุปผลการทดลอง

ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin ร่วมกับสภาพในที่ที่มีแสง และสภาพในที่มืด ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสารหอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

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

จากการวิเคราะห์พบสารเบนซิล อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงและจากแคลลัสที่ชักนำได้จากสภาพในที่ที่มีแสง และสภาพในที่มืด ซึ่งปริมาณที่พบในแคลลัสมีมากกว่าในอาหารเพาะเลี้ยง โดยแคลลัสที่ชักนำได้จากอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่ที่มีแสง มีการผลิตสารทั้ง 2 ชนิดได้ ปริมาณมากที่สุด 8.052 และ 0.450 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดตามลำดับ

ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการสะสมและผลิตสารหอมระเหยจากอาหารเพาะเลี้ยงและแคลลัสจากชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา

จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพในที่ที่มีแสงสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนกลีบดอกเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงที่สุด 21.79 เปอร์เซ็นต์และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด 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

## ศึกษาผลของน้ำมะพร้าว และสารสกัดจากยีสต์ ต่อการเกิดแคลลัสและการผลิตสาร หอมระเหยจากกลีบดอกมะลิลา

จากการศึกษาพบว่าอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว 50 มิลลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนกลีบดอกเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสูงที่สุด 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 อะซีเทตและสารเบนซิล แอลกอฮอล์มากที่สุด 0.183 และ 0.014 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

## 6.2 ข้อเสนอแนะ

การนำดอกมะลิลาในช่วงปลายฤดูฝน มาทำการเพาะเนื้อเยื่อจะให้ผลดีกว่า ดอกมะลิลาในช่วงต้นฤดูฝน โดยจะมีการปนเปื้อนของชิ้นส่วนน้อย ชิ้นส่วนชักนำแคลลัสได้ดี

## บรรณานุกรม

- กาญจนา กิระศักดิ์. 2540. "อิทธิพลของแร่ธาตุอาหาร น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะลิลาและน้ำมันหอมระเหยในสภาพปลอดเชื้อ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ดารณี แก้วมณีวงศ์. 2536. "ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพริกชี้หนู." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- บุญส่ง คงคาทิพย์. 2526. การสกัดและการวิเคราะห์ทางปริมาณคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยจากต้นมะแว้งน้ :โครงการวิจัย: กรุงเทพฯ. ภาควิชาเคมี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ขอนแก่น : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ประเทืองศรี สิ้นชัยศรี. 2537. มะลิ. เอกสารพิมพ์แจกในงานวันเกษตรแห่งชาติ. กองการเกษตรเคมี. กรมวิชาการเกษตร.
- \_\_\_\_\_. 2540. พรรณพืชหอมและน้ำมันหอมระเหย. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร.
- ประเทืองศรี สิ้นชัยศรี สุรพงษ์ รัตนโกศล รัตนภรณ์ รัตนานุกูล สรรเสริญ พิริยะธำรง และ ประเสริฐ อนุพันธ์. 2530. ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวและกรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยในดอกมะลิบางสายพันธุ์. ศรีสะเกษ: ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ. ผลงานวิจัยของกองการเกษตรเคมี. กรมวิชาการเกษตร.
- ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2538. พรรณไม้ในวรรณคดี. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.
- ผกาเวียง ช่อกระถิน. 2545. "การชักนำการสร้างสารสีจากการเพาะเลี้ยงหัวรากเงิน รวงทอง และ รวงนาก (*Hippeastrum* spp.)." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพันธุศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รังสฤษดิ์ กาวีตะ. 2545. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ:หลักการและเทคนิค. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วชิรพงศ์ หวลบุตดา. 2542. ไม้ดอกหอมสีขาว. กรุงเทพฯ : บ้านและสวน.
- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. อุดรธานี. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี.
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2544. **ทรัพยากรพืชในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ลำดับที่ 19 พืชที่ให้น้ำมันหอม.** นนทบุรี : สหมิตรพรีนติ้ง.
- สายชล มาลัยแก้ว. 2541. **การปลูกมะลิ.** กรุงเทพฯ : อักษรสยามการพิมพ์.
- สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. 2527. **ฮอโรมอนพืช.** ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สัมฤทธิ์ เพ็ญจันทร์. 2538. **สรวิทย์พืชสวน.** พิมพ์ครั้งที่1. ขอนแก่น : ศิริภรณ์ออฟเซ็ท.
- เสาวลักษณ์ เพ็ญวิทยารธรรม. 2520. “ **ศึกษาการสกัดและคุณสมบัติของน้ำมันจากเมล็ดกระเจี๊ยบ.**” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรดี สหวัชรินทร์. 2539. **หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** กรุงเทพฯ : ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- อารีย์ วรรณภูววัฒน์. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์อติสรณ์.
- Agnes, B. Mikló, F. Ottó, T. and Mikló, L. 1995. “Plant Regeneration from Seedling-Derived Callus of Dodder (*Cuscuta trifolii* Bab.et Giggs).” *Plant Science*. 109(1) : 95-101.
- Baumert, A. Gröger, D. Kuzovkina, I. N. and Reisch, J. I. 1992. “Secondary Metabolites Produced by Callus Culture of Various *Ruta* species.” *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 28(2) : 159–162.
- 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 Constituents.” 21-35. In Y.P.S.Bajaj (ed.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.33, Medicinal and Aromatic Plants VIII*. Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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 Psilostachyinoides." 41-53. In Y.P.S.Bajaj (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.24, Medicinal and Aromatic Plants V.** Berlin-Heidelberg: Springer –Verlag.
- 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.
- Hatano, K. Shoyama, Y. and Nishioka, I. 1987. "Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from The Anther of *Aconitum carmichaeli* Debx." **Plant Cell Report.** 6(6) : 446–448.
- 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.

- Jameel, M. A. Feng, H. H. Teddy, E. M. Tahani, A. B. and Edward, E. G. 1991. "Genotype – Dependent Response of Spinach Culture to *In Vitro* Callus Induction and Plant Regeneration." **Plant Science**. 78(1) : 121–127.
- Kawaguchi, K. Hirotsu, 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.
- Narayan, M. S. Thimmaraju, R. and Bhagyalkshmi, N. 2005. "Interplay of Growth Regulators During Solid-state and Liquid-State Batch Cultivation of Anthocyanin Producing Cell Line of *Duacus carota*." **Process Biochemistry**. 40(1) : 351-358.
- Nazif, N. M. Rady, M. R. and Seif-El-Nasi, M. M. 2000. "Stimulation of Anthraquinone Production in Suspension Culture of *Cassia acutifolia* by Salt Stress." **Fitoterapia**. 71(1) ; 34–40.
- 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 ไม่นอญูญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
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.
- Roy, S. C. and Sarkar, A. 1991. "In Vitro Regeneration and Micropopagation of *Aloe vera* L." *Scientia Horticulturae*. 47(1-2) : 107–113.
- Sugisawa, H. and Ohinishi, Y. 1976. "Isolation and Identification of Monoterpenes from Cultured Cells of *Perilla* Plant." *Agr. Biol. Chem.* 40 : 231-232.
- 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.
- Trautmann, I. A. and Visser, J. H. 1991. "The Possible Role of Phenolic Substances in The Establishment of Suspension Culture of Guayule (*Parthenium argentatum* gray)." *Bioresource Technology*. 35(2) : 133–139.
- Trautmann, I. A. Visser, J. H. and Spise, H. S. C. 1991. "Detection of Rubber in Cutured Material of *Parthenium argentatum* gray (Guayule)." *Plant Science*. 73(1) : 97–100.
- 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.
- Villarreal, M. L. Rojas, G. Quintero, R. Miranola, E. Enriquez, R. León, I. and Reynolds, W. 2001. "In Vitro Culture of *Montanoa Tomentosa* for The Production of Diterpenic Acids." *Biotechnology Letters*. 23(16) ; 1279–1284.
- Wakhlou, A. K. and Barma, K. S. 1989. "Callus Initiation, Growth and Plant Regeneration in *Plantago ovata* Forsk. cv. GI – 2." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 17(2-3) : 235–241.

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



## ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

ตารางที่ ก1 สูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962)

สารเคมีที่ใช้	มิลลิกรัมต่อลิตร
$(\text{NH}_4)\text{NO}_3$	1,650.00
$\text{KNO}_3$	1,900.00
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440.00
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370.00
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170.00
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.20
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.30
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60
KI	0.83
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.80
$\text{Na}_2\text{EDTA}$	37.30
Myo-inositol	100.00
Nicotinic acid	0.50
Pyridoxine HCl	0.50
Thiamine HCl	0.10
Glycine	2.00
Sucrose	30,000.00
pH	5.5-5.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### สภาวะเครื่อง GC/MS

#### Method Information of Gas chromatography

GC : 6890N(Agilent Technologies)

MSD : 5973N(Agilent Technologies)

OVEN : Initial temp : 120°C Initial time : 0.00 min

#### Ramps:

#	Rate	Final temp	Final time
1	10.00	220	25.00

Run time : 35.00 min

#### FONT INTEL :

Mode : Split  
 Initial temp : 250°C  
 Pressure : 11.61 psi  
 Split ration : 10:1  
 Split flow : 10.00 mL/min  
 Total flow : 13.70 mL/min  
 Gas type : Helium

#### COLUMN :

##### Capillary Column

Model number: Agilent DB-Wax, 0.25 mm \* 30 m\* 0.25 µm

Mode : Constant Flow

Pressure : 11.61 psi

Nominal Initial flow : 1.00 mL/min

Average Velocity : 38 cm/sec

Intel : Front Intel

Outlet : MSD

Outlet pressure : vacuum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## SIGNAL :

Data rate : 20Hz  
 Type : test plot

## THERMAL AUX :

Use : MSD Transfer Line Heater  
 Inital temp : 220°C

## General Information :

Tune File : atune.u  
 Acquisition Mode : Scan

## MS Information :

Solvent Delay : 0.00 min  
 Resulting EM Voltage : 2235.30

## Scan Parameters :

Low Mass : 30.00  
 High Mass : 500.00  
 Threshold : 100.00

## MS Zones :

MS Quad : 150°C Maximum 200°C  
 MS Source : 230°C Maximum 250°C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ  
กัน สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr >F
Treatment	23	8.6915	0.3778	1.65	0.0563 <sup>ns</sup>
A	3	4.0021	1.3340	11.03	0.0013 <sup>**</sup>
B	5	1.6574	0.3314	5.82	0.2180 <sup>ns</sup>
AxB	15	3.0319	0.2021	0.88	0.5860 <sup>ns</sup>
Error	72	16.4938	0.2290		
Total	95	25.0682			

Grand Mean = 0.854

CV = 56.068%

ns    ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**\*\***   มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.2 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ  
กัน สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	111.5392	4.8495	7.53	0.0001 <sup>**</sup>
A	3	47.7838	15.9279	24.75	0.0001 <sup>**</sup>
B	5	25.2232	5.0446	7.84	0.0001 <sup>**</sup>
AxB	15	38.5321	2.5688	3.99	0.0001 <sup>**</sup>
Error	72	46.3432	0.6436		
Total	95	157.8824			

Grand Mean = 1.21

CV = 65.96%

**\*\***   มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.3 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ  
กัน สภาพในที่มืดแสง เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	275.2973	11.9694	11.65	0.0001**
A	3	122.1300	40.7100	39.61	0.0001**
B	5	62.7444	12.5489	12.21	0.0001**
AxB	15	90.4228	6.0281	6.03	0.0001**
Error	72	73.9993	1.0277		
Total	95	349.2966			

Grand Mean = 1.52

CV = 66.46%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.4 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน  
สภาพในที่มืดแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	332.7357	14.4667	23.08	0.0001**
A	3	145.2825	48.4275	77.25	0.0001**
B	5	73.0015	14.6003	23.29	0.0001**
AxB	15	114.4516	7.6301	11.17	0.0001**
Error	72	45.1362			
Total	95	377.1973			

Grand Mean = 1.60

CV = 49.63%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.5 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิ  
ลา ในอาหารสูตรMS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน  
สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	1.3171	0.0573	3.50	0.0001**
A	3	0.3358	0.1119	6.84	0.0004**
B	5	0.2434	0.0487	2.97	0.0169**
AxB	15	0.7379	0.0492	3.00	0.0009**
Error	72	1.1793	0.0164		
Total	95	2.4964			

Grand Mean = 1.03

CV = 12.36%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.6 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิ  
ลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน  
สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	1.4088	0.0613	10.76	0.0001**
A	3	0.4574	0.1525	26.78	0.0001**
B	5	0.3967	0.0793	13.94	0.0001**
AxB	15	0.5547	0.0370	6.50	0.0001**
Error	72	0.4098	0.0057		
Total	95	1.8186			

Grand Mean = 1.05

CV = 7.18%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.7 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ  
กัน สภาพในที่ที่มีแสง เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	4.9454	0.2150	5.19	0.0001**
A	3	1.5012	0.5004	12.09	0.0001**
B	5	1.5554	0.3111	7.52	0.0001**
AxB	15	1.8887	0.1259	3.04	0.0001**
Error	72	2.9804	0.0414		
Total	95	7.9258			

Grand Mean = 1.10

CV = 18.53%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.8 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน  
สภาพในที่ที่มีแสง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	8.2380	0.3582	11.02	0.0001**
A	3	2.2465	0.7488	23.04	0.0001**
B	5	2.5201	0.5040	15.51	0.0001**
AxB	15	3.4713	0.2314	7.12	0.0001**
Error	72	2.3398	0.0325		
Total	95	10.5778			

Grand Mean = 1.11

CV = 16.17%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.9 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ใน  
อาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน  
สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	0.7746	0.0337	3.63	0.0001**
A	3	0.3528	0.1176	12.72	0.0001**
B	5	0.1054	0.0211	2.27	0.0562 <sup>ns</sup>
AxB	15	0.3163	0.0211	2.27	0.0109*
Error	72	0.6681	0.0093		
Total	95	1.4426			

Grand Mean = 1.03

CV = 9.30%

- ns    ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ  
\*     มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
\*\*    มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.10 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ใน  
อาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน  
สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	1.6612	0.0722	5.18	0.0001**
A	3	0.8887	0.2962	21.23	0.0001**
B	5	0.2527	0.0505	3.62	0.0056**
AxB	15	0.5198	0.0346	2.48	0.0053**
Error	72	1.0047	0.0139		
Total	95	2.6659			

Grand Mean = 1.06

CV = 11.13%

- \*\*    มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.11 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	3.0558	0.1329	6.54	0.0001**
A	3	2.0979	0.6993	34.44	0.0001**
B	5	0.3387	0.0677	3.34	0.0091**
AxB	15	0.6192	0.0413	2.03	0.0242*
Error	72	1.4621	0.0203		
Total	95	4.5179			

Grand Mean = 1.10

CV = 12.96%

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.12 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	3.3091	0.1439	5.27	0.0001**
A	3	2.1745	0.7248	26.53	0.0001**
B	5	0.3075	0.0615	2.25	0.0583 <sup>ns</sup>
AxB	15	0.8271	0.0551	2.02	0.0253*
Error	72	1.9671	0.0273		
Total	95	5.2762			

Grand Mean = 1.09

CV = 15.17%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.13 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ  
กัน สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	76.5980	3.3303	8.31	0.0001**
A	3	57.0245	19.0082	47.44	0.0001**
B	5	3.6815	0.7363	1.84	0.04666 <sup>ns</sup>
AxB	15	15.8920	1.0595	2.64	0.0083**
Error	72	28.8502	0.4007		
Total	95	105.4482			

Grand Mean = 1.49

CV = 42.40%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.14 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ  
กัน สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	88.8142	3.6441	9.66	0.0001**
A	3	61.0215	20.3405	53.89	0.0001**
B	5	4.3775	0.8755	2.32	0.4134 <sup>ns</sup>
AxB	15	18.4152	1.2277	3.25	0.0050**
Error	72	27.1744	0.3774		
Total	95	110.9886			

Grand Mean = 1.51

CV = 40.73%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.15 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ  
กัน สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	88.8142	3.6441	9.66	0.0001**
A	3	61.0215	20.3405	53.89	0.0001**
B	5	4.3775	0.8755	2.32	0.4134 <sup>ns</sup>
AxB	15	18.4152	1.2277	3.25	0.0050**
Error	72	27.1744	0.3774		
Total	95	110.9886			

Grand Mean = 1.51

CV = 40.73%

ns    ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\*\*    มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.16 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่มี 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน  
สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	0.2239	0.0097	6.24	0.0001**
A	3	0.1518	0.0206	32.45	0.0001**
B	5	0.0150	0.0030	1.93	0.1005 <sup>ns</sup>
AxB	15	0.0571	0.0038	2.44	0.0062**
Error	72	0.1123	0.0016		
Total	95	0.3362			

Grand Mean = 1.02

CV = 3.85%

ns    ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\*\*    มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.17 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ  
กัน สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	0.2615	0.0114	6.90	0.0001**
A	3	0.1702	0.0567	34.44	0.0001**
B	5	0.0193	0.0039	2.34	0.0499
AxB	15	0.0720	0.0048	2.91	0.0012**
Error	72	0.1186	0.0016		
Total	95	0.3801			

Grand Mean = 1.03

CV = 3.95%

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.18 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอก  
มะลิลา ในอาหารสูตรMS ที่มี 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน  
สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	0.2615	0.0114	6.90	0.0001**
A	3	0.1702	0.0567	34.44	0.0001**
B	5	0.0193	0.0039	2.34	0.0499
AxB	15	0.0720	0.0048	2.91	0.0012**
Error	72	0.1186	0.0016		
Total	95	0.3801			

Grand Mean = 1.03

CV = 3.95%

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.19 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักรากแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน สภาพในที่มืด เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	23	0.0470	0.0020	2.96	0.0002**
A	3	0.0058	0.0019	2.79	0.0469*
B	5	0.0107	0.0021	3.10	0.0122'
AxB	15	0.0305	0.0020	2.95	0.0012**
Error	72	0.0497	0.0007		
Total	95	0.0966			

Grand Mean = 1.00

CV = 2.59%

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.20 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Block	2	320.7238	160.3619	3.95	0.1310 <sup>ns</sup>
Treatment	5	341.6226	68.3245	1.68	0.2570 <sup>ns</sup>
Error	10	406.0961	40.6096		
Total	17	1068.4425			

Grand Mean = 14.36

CV = 37.94%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.21 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ  
ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้น  
ต่างๆ กัน เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Block	2	396.7343	198.3672	2.86	0.2415 <sup>ns</sup>
Treatment	5	725.3449	69.4182	2.09	0.0797 <sup>ns</sup>
Error	10	694.1819	145.0690		
Total	17	1816.2612			

Grand Mean = 17.94

CV = 45.59%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.22 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ  
ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้น  
ต่างๆ กัน เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Block	2	396.3086	198.1543	2.86	0.2420 <sup>ns</sup>
Treatment	5	724.2500	144.8500	2.09	0.0799 <sup>ns</sup>
Error	10	693.3200	69.3320		
Total	17	1813.8786			

Grand Mean = 17.93

CV = 45.58%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.23 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ

ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้น

ต่างๆ กัน เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Block	2	0.2004	0.1002	6.10	0.3899 <sup>ns</sup>
Treatment	5	0.0904	0.0181	1.10	0.2430 <sup>ns</sup>
Error	10	0.1644	0.0164		
Total	17	0.4552			

Grand Mean = 1.20

CV = 9.23%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.24 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ

ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้น

ต่างๆ กัน เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Block	2	0.3682	0.1841	2.43	0.3172 <sup>ns</sup>
Treatment	5	0.8492	0.1698	2.24	0.2056 <sup>ns</sup>
Error	10	0.7588	0.0759		
Total	17	1.9761			

Grand Mean = 1.33

CV = 22.40%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.25 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ

ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้น  
ต่างๆ กัน เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Block	2	0.0201	0.0100	0.22	0.8045 <sup>ns</sup>
Treatment	5	1.3979	0.2796	1.87	0.0673 <sup>ns</sup>
Error	10	0.4528	0.0453		
Total	17	1.8708			

Grand Mean = 1.44

CV = 14.97%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.26 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสต่อชิ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ

ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้น  
ต่างๆ กัน เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Block	2	0.0016	0.0008	0.56	0.5891 <sup>ns</sup>
Treatment	5	0.0385	0.0077	1.08	0.125 <sup>ns</sup>
Error	10	0.0146	0.0014		
Total	17	0.0548			

Grand Mean = 1.48

CV = 2.58%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.27 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสต่อขึ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ  
ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้น  
ต่างๆ กัน เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Block	2	0.0381	0.0191	2.68	0.5102 <sup>ns</sup>
Treatment	5	0.0813	0.0163	2.29	0.1555 <sup>ns</sup>
Error	10	0.0710	0.0071		
Total	17	0.1905			

Grand Mean = 1.52

CV = 6.15%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.28 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสต่อขึ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ  
ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในระดับความเข้มข้น  
ต่างๆ กัน เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Block	2	0.0194	0.0047	0.83	0.4638 <sup>ns</sup>
Treatment	5	0.8620	0.1724	14.75	0.0002 <sup>**</sup>
Error	10	0.1168	0.0117		
Total	17	0.9982			

Grand Mean = 1.44

CV = 7.48%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.29 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล อะซีเทตจากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน

กลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 4 ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	0.0049	0.0010	1.21	0.4184 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0098	0.0008		
Total	17	0.0147			

Grand Mean = 1.01

CV = 2.95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.30 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล อะซีเทตจากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน

กลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 8 ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	0.0083	0.0016	0.34	0.8765 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0543	0.0048		
Total	17	0.0617			

Grand Mean = 1.07

CV = 6.49%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.31 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล อะซีเทตจากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน

กลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 12 ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	0.0070	0.0013	0.81	0.5670 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0196	0.0016		
Total	17	0.0260			

Grand Mean = 1.05

CV = 3.95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.32 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล อะซีเตตจากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน

กลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 16 ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	0.0003	0.0001	0.34	0.8797 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0023	0.0002		
Total	17	0.0026			

Grand Mean = 1.01

CV = 1.40%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.33 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล อะซีเตตจากสารสกัดแคลล์มะลิลา ( $\sqrt{X+1}$

Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	2.0339	0.4068	1.25	0.3470 <sup>ns</sup>
Error	12	3.9138	0.3261		
Total	17	5.9477			

Grand Mean = 1.74

CV = 32.73%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.34 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยง

ชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 4 ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	0.0043	0.0043	0.86	0.5350 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0598	0.0050		
Total	17	0.0812			

Grand Mean = 1.03

CV = 6.82%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.35 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยง

ขึ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 8 ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	0.0160	0.0032	0.52	0.7550 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0735	0.0061		
Total	17	0.0895			

Grand Mean = 1.08

CV = 7.22%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.36 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยง

ขึ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 12 ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	0.0073	0.0015	1.27	0.3397 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0139	0.0012		
Total	17	0.0212			

Grand Mean = 1.05

CV = 3.23%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.37 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดอาหารเพาะเลี้ยง

ขึ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา สัปดาห์ที่ 16 ( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	0.0277	0.0055	1.35	0.3108 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0495	0.0041		
Total	17	0.0772			

Grand Mean = 1.04

CV = 6.18%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.38 การวิเคราะห์ผลของปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดแคลลัสมะลิลา

( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	1.0077	0.2015	0.32	0.8884 <sup>ns</sup>
Error	12	7.4442	0.6204		
Total	17	8.4519			

Grand Mean = 2.07

CV = 37.93%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.39 การวิเคราะห์ผลของผลรวมปริมาณเบนซิล อะซีเทตจากสารสกัดแคลลัสมะลิลา

( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	0.0017	0.0003	0.28	0.9154 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0225	0.0012		
Total	23	0.0243			

Grand Mean = 1.037

CV = 3.41%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค.40 การวิเคราะห์ผลของผลรวมปริมาณเบนซิล แอลกอฮอล์จากสารสกัดแคลลัสมะลิลา

( $\sqrt{X+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	5	0.0054	0.0010	0.64	0.6750 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0307	0.0017		
Total	23	0.0360			

Grand Mean = 1.05

CV = 3.92%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.41 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ  
ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin  
เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	3	1720.00	5733.333	358.33	0.0001
Error	12	192.00	16.00		
Total	15	17392.00			

Grand Mean = 55

CV = 7.27%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.42 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ  
ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin  
เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	3	12024.00	4008.00	286.29	0.0001**
Error	12	168.00	14.00		
Total	15	12192.00			

Grand Mean = 68

CV = 5.50%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.43 การวิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ  
ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin  
เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	3	11780.00	3926.67	218.15	0.0001**
Error	12	216.00	18.00		
Total	15	11996.00			

Grand Mean = 68.25

CV = 6.04%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.44 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ  
ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 เข้มข้น-D 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin  
เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	3	11.3891	3.7964	122.33	0.0001**
Error	12	0.3724	0.0310		
Total	15	11.7615			

Grand Mean = 2.04

CV = 6.03%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.45 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ

ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin

เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	3	49.2216	16.4072	51.91	0.0001**
Error	12	3.7928	0.3160		
Total	15	53.0144			

Grand Mean = 4.34

CV = 12.95%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.46 การวิเคราะห์ผลของคะแนนการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบ

ดอกมะลิลา ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin

เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	3	55.0724	18.3574	104.34	0.0001**
Error	12	2.1112	0.1759		
Total	15	57.1836			

Grand Mean = 5.04

CV = 8.31%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.47 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา

ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0

มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	3	0.0115	0.0038	8.16	0.0031**
Error	12	0.0057	0.0005		
Total	15	0.0172			

Grand Mean = 0.044

CV = 49.59%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.48 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา

ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0

มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	3	0.0145	0.0048	1.18	0.3569 <sup>ns</sup>
Error	12	0.0489	0.0041		
Total	15	0.0634			

Grand Mean = 0.244

CV = 26.19%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.49 การวิเคราะห์ผลของน้ำหนักแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงของชิ้นส่วนกลีบดอกมะลิลา

ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมร่วมกับ kinetin เข้มข้น 5.0

มิลลิกรัม ที่เติมน้ำมะพร้าว และ สารสกัดจากยีสต์ เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	Pr>F
Treatment	3	1.6525	0.5508	2.39	0.1200 <sup>ns</sup>
Error	12	2.7682	0.2307		
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>4.4206</b>			

Grand Mean = 1.42

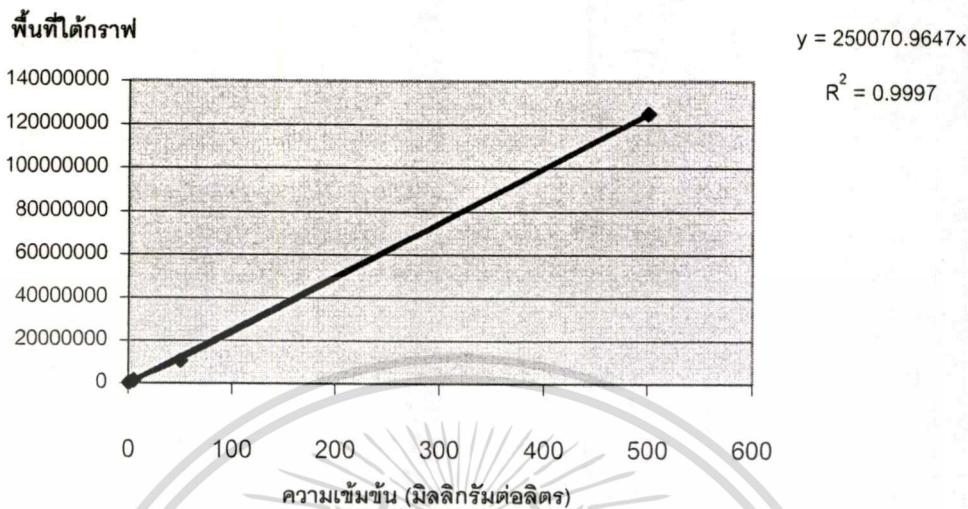
CV = 33.78%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

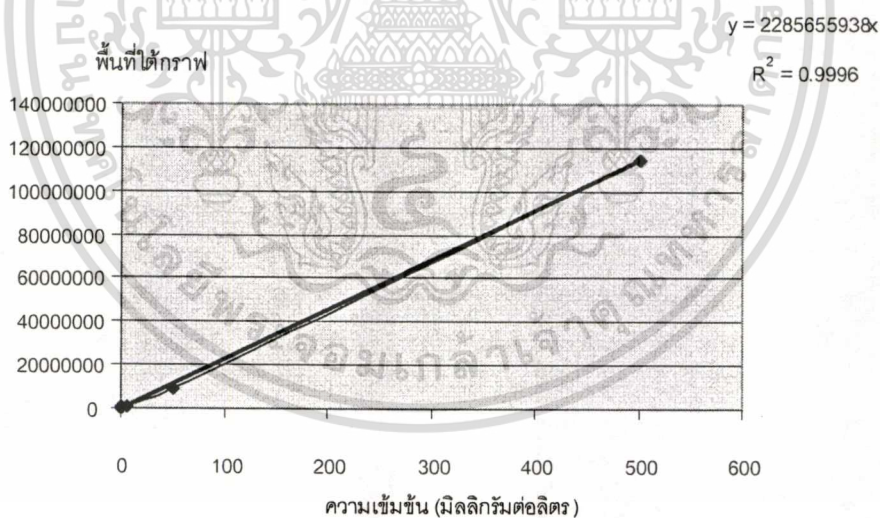


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง.

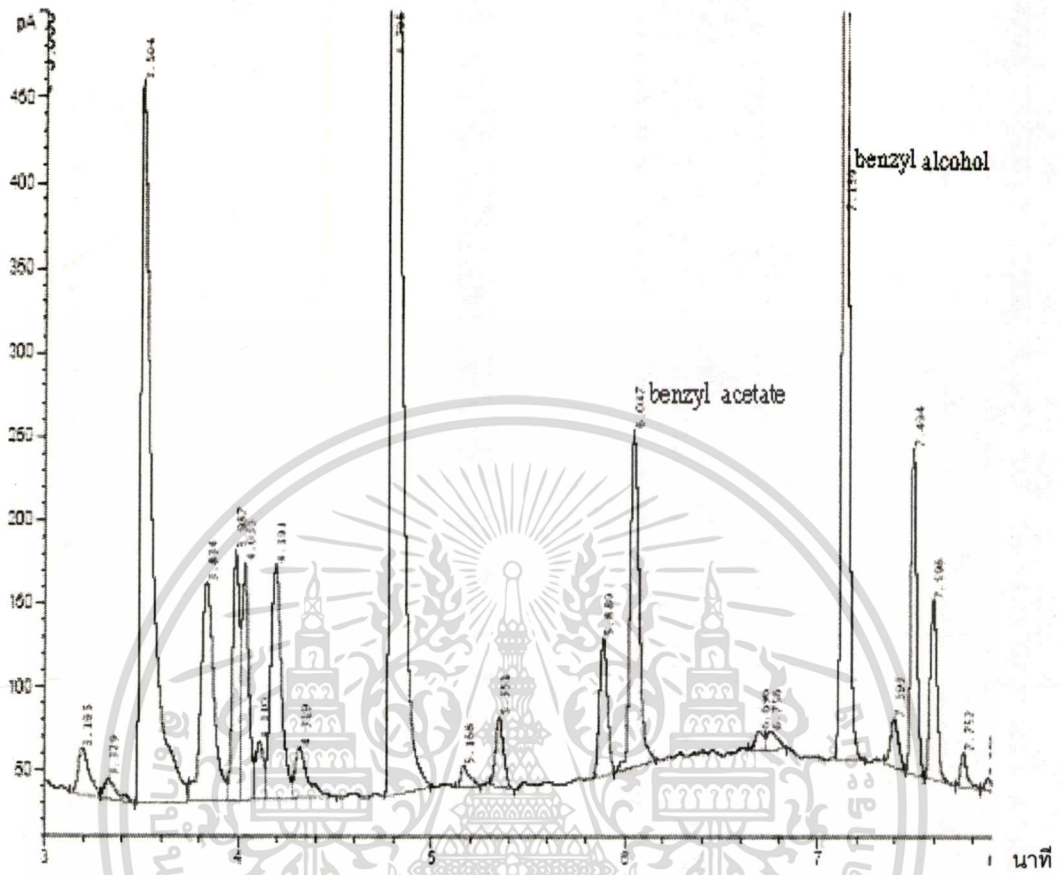


ภาพที่ ง.1 แสดงกราฟมาตรฐานของสารเบนซิล อะซีเทต



ภาพที่ ง.2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารเบนซิล แอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ๓.3 แสดงโครมาโทแกรมของสารเบนซิล อะซิเตต และ สารเบนซิล แอลกอฮอล์จากดอกมะลิลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นางสาวสรัญญา สมุทธานุภาพ  
 วัน เดือน ปีเกิด 10 กันยายน 2522  
 ที่อยู่ 114 หมู่ 5 ตำบล แสนตุ้ง อำเภอ เขาสมิง จังหวัด ตราด 23150  
 โทร 0-3959-9197  
 ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษา วิทยาศาสตร์บัณฑิต(เกษตร) สาขาวิชาพืชสวน  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ.2543



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้