31 ส.ค. 2524

T100449

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
และ

เรื่อง

การศึกษาผลของไคเนตินและซูโครสต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม

To Study in Effect of Kinetin and Sucrose on Growth of Protocorm

โดย

นายสุรพล ศุภาพร

อ่าจารย์เนาวรัตน์ ปานแย้ม ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา
อาจารย์ ช.นิพุฒ์คิริ สุยสุวรรณ กรรมการ

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
(นางครีประไพ ชื่นครี)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
วันที่ ๒๑ เดือน พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๒๔

ปพ.
สส๕๒ก
๒๕๒๔
๑:๑

เลขหมู่ 100449
ลงทะเบียน
วัน.เดือน.ปี 18 JUN 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญเรื่อง

	หน้า
คำนำ	๑
การตรวจเแกสาร	๓
อุปกรณ์และวิธีการ	๘
ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล	๑๖
สรุปผล	๒๙
เอกสารอ้างอิง	๓๐
ภาคผนวก	๓๓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

หน้า

ภาพที่ ๑ ๑๘
ภาพที่ ๒ ๑๙
ภาพที่ ๓ ๒๒
ภาพที่ ๔ ๒๓
ภาพที่ ๕ ๒๕
ภาพที่ ๖ ๒๖

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

หน้า

ภาคผนวกที่ ๑ ๓๓
ภาคผนวกที่ ๒ ๓๕
ภาคผนวกที่ ๓ ๓๖
ภาคผนวกที่ ๔ ๓๗
ภาคผนวกที่ ๕ ๓๘
ภาคผนวกที่ ๖ ๓๙
ภาคผนวกที่ ๗ ๔๐

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาผลของไคเนตินและซูโครสต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม

คำนำและวัตถุประสงค์

คำนำ

ปัจจุบันกล้วยไม้สกุลหวายมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก ประเทศไทยได้ส่งกล้วยไม้เป็นสินค้าออกเพิ่มขึ้นทุกปี เช่น อังกฤษ ฮ่องกง เยอรมัน ญี่ปุ่น ฯลฯ ทำให้เงินเข้าประเทศปีละหลายล้านบาท แสดงว่าต้นกล้วยไม้ที่ใช้ตัดดอกเป็นการค้าต้องเพิ่มปริมาณมากขึ้นด้วย จึงได้มีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับวิทยาการใหม่ๆในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้มากขึ้น เช่น เทคนิคในการเพาะฝักอ่อน เทคนิคในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ ฯลฯ เพื่อจะศึกษาเทคนิคใหม่ๆเกี่ยวกับการเลี้ยงกล้วยไม้ การศึกษาผลของไคเนตินและซูโครสในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ เป็นวิธีหนึ่งที่จะทำให้เราทราบถึงผลของสารทั้งสองนี้ต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

๑. เพื่อศึกษาขั้นตอนและวิธีการในการเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้
๒. เพื่อศึกษาผลของไคเนตินและซูโครสต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas
๓. เป็นการฝึกความชำนาญขั้นต้นในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ระพี สาคริก (๒๕๑๓) ได้กล่าวว่า ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ให้ได้ผลดีและรวดเร็วนั้น นิยมใช้การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม ซึ่งเป็นก้อนกลมๆ เล็กๆมากมาย เมื่อนำเนื้อเยื่อเจริญออกมาก้อนนี้คือโปรโตคอร์ม ในการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม เพื่อให้เจริญเติบโตเป็นต้นเป็นรากของกล้วยไม้นั้น ต้องขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารต่างๆในสูตรอาหารมากมาย และการศึกษาผลของไคเนตินและซูโครสก็เป็นวิธีหนึ่งซึ่งจะช่วยในการเกิดต้นและรากได้ ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาดังรายละเอียดต่อไปนี้

๑. คาร์โบไฮเดรต

Knudson (๑๙๒๕) กล่าวว่า โดยธรรมชาติ ในการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ จะมีเชื้อราเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตให้อยู่ในสภาพสารละลายและเป็น simple sugar ซึ่งเมล็ดกล้วยไม้สามารถเอาไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน Withner (๑๙๔๒) กล่าวว่า คาร์โบไฮเดรตที่ใช้เป็นแหล่งพลังงานมีอยู่หลายชนิด เช่น ซูโครส กลูโคส และ ฟรุคโตส นับว่าเป็นแหล่งของคาร์บอนที่ดีต่อต้นอ่อนของกล้วยไม้ ซึ่งน้ำตาลนี้จะใช้ในขบวนการเมตาโบลิซึมของคาร์โบไฮเดรต Yates และ Curtis (๑๙๔๙) ยังได้กล่าวเอาไว้ว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลเหล่านี้มีผลโดยตรงต่ออัตราส่วนของการเกิดยอดและราก มนตรีและคณะ (๒๕๑๖) กล่าวว่า ในการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตแบบแอโรบิค (aerobic) สามารถแบ่งปฏิกริยาออกได้เป็นสองตอน โดยตอนแรกคือ ไกลโคไลซิส (Glycolysis) ซึ่งเป็นปฏิกริยาที่ไม่เกี่ยวข้องกับออกซิเจน และปฏิกริยาตอนที่สองคือ เครบ ไซเคิล (Kreb's Cycle) เป็นวงจรที่ให้พลังงานได้มากกว่าปฏิกริยาในตอนแรก ขบวนการดังกล่าวดำเนินไปได้โดยอาศัย โคเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Co-enzyme) ซึ่งได้จากไวตามิน เป็นต้นกำเนิดอยู่หลายชนิด เช่น NAD^+(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate), NADP (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate), ATP (Adenine Triphosphate) and FAD (Flavin Adinine Dinucleotide)

สำหรับสูตรวุ้นที่ใช้ถ่ายขวดนั้น ได้ดัดแปลงมาจากสูตรการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ ซึ่ง ระพี (๒๕๑๖) กล่าวว่า การถ่ายขวดกล้วยไม้นี้มีความสัมพันธ์กับระยะการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในขวดวุ้นระยะแรก ดังนั้น มานพ (๒๕๐๙) ได้ดัดแปลงสูตรอาหารวุ้นของ Vacin & Went โดยใช้น้ำตาลซูโครส ๒.๐ เปอร์เซ็นต์ ใส่ในวุ้นอาหาร และยังมีการเพิ่มสารอินทรีย์อื่นๆอีก ซึ่งพบว่าได้ผลดี

ในสมัยก่อนๆมีการศึกษาเกี่ยวกับ ชนิดและปริมาณของคาร์โบไฮเดรตในวุ้นอาหาร เช่น Knudson (๑๙๒๒) พบว่ากล้วยไม้พวกอีพิไฟต์ (Epiphyte) จะงอกและต้นอ่อนจะเจริญได้ดีในวุ้นอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตพวกซูโครสและฟรุคโตสจะให้ผลดีกว่ากลูโคส ส่วน Roland (๑๙๒๙) พบว่า ในการใช้น้ำตาลมอลโตส ฟรุคโตส กลูโคส และซูโครสในสูตรวุ้นอาหารของ Knudson B และของ La Garde L.กับลูกผสมของ Cattleya terianaei จะให้ผลดี และ Thomale (๑๙๕๔) กล่าวว่าฟรุคโตสและกลูโคส ให้ผลดีที่สุดต่อการเจริญเติบโตของพวกพาฟิโอเนดิลัม (Pathiopedilum) นอกจากนี้ยังพบอีกว่า จากการดัดแปลงสูตรอาหารของ Burgeff โดยใช้น้ำผึ้งเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ซึ่งให้ผลดีต่อการงอกและการเจริญของต้นอ่อนพวกแวนด้า (Vanda) พาแลนนอพซีส (Phaleanopsis) ต่อมา Shisa และ Sawa (๑๙๖๓) ได้สรุปอีกว่า น้ำผึ้งมีอัตราส่วนของฟรุคโตสต่อกลูโคสเท่ากับ ๑:๑ โดยเขาได้ใช้น้ำผึ้งใส่ในสูตรอาหารวุ้น และพบว่าทำให้เมล็ดและต้นอ่อนของซิมบิเดียม (Cymbidium) เจริญดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

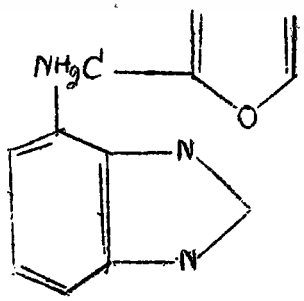
31 ต.ค. 2524
ห้องสมุด
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
เลขทะเบียนที่.....
เลขหมู่ที่.....

เกี่ยวกับความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตที่ใช้ Knudson (๑๙๔๑) พบว่าเมล็ดของ Goodyera pubescens งอกและเจริญได้ดีในสูตรวุ้นอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส ๒ เปอร์เซ็นต์ ส่วน Yates และCurtis (๑๙๔๙) ได้ทดลองหาระดับความเข้มข้นของน้ำตาล ๐.๐๖ – ๐.๒๐ โมลาร์ โดยใช้น้ำตาลซูโครสกับเมล็ดกล้วยไม้พวก อีพิเดนดรัม (Epidendrum) และแคทลียา (Cattleya) พบว่าต้นอ่อนในวุ้นที่มีซูโครสในความเข้มข้นสูง จะเพิ่มการเจริญของส่วนราก ขณะที่การเจริญของส่วนยอดลดลง และปริมาณซูโครส ๐.๑๐ – ๐.๑๕ โมลาร์ จะเหมาะสมต่อการเจริญของส่วนยอดอ่อนและรากของต้นอ่อน ต่อมา Arditti et al.(๑๙๗๐) ได้ทดลองใช้คาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆและน้ำตาลที่เป็นแอลกอฮอล์ (Sugar alcohol) ในปริมาณอย่างละ ๒.๐ เปอร์เซ็นต์ ลงในสูตรวุ้นอาหารของKnudson C กับพวกหวายฟาแลนนอฟซิส (Dendrobium Phalaenopsis) และฟาแลนนอฟซิส พบว่าน้ำตาลพวกแอล (L-series) ไม่เหมาะที่จะใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะกับการเจริญเติบโตของต้นอ่อน คือน้ำตาลพวกโมโนแซคคาไรด์ (Monosaccharide) ได้แก่ ดี–ฟรุคโตส (D-fructose) และ ดี–กลูโคส (D-Glucose) ส่วนพวกไดแซคคาไรด์ (Disaccharide) ได้แก่ซูโครสเพียงชนิดเดียว นอกจากนี้ Ernst et al. (๑๙๗๑) ได้ทดลองใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนในสูตรวุ้นอาหาร และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรอง เมื่อมีการไฮโดรไลซ์ (Hydrolize) แล้วในส่วนของเซลภายนอกพวกที่เป็นแอลฟา–ดี–กลูโคไพราโนซิล (α -D-glucopyranosyl) ๑–๒–เบตา–ดี–ฟรุคโตฟูราโนไซด์ (1-2- β -D Fructofuranoside) จะให้ผลดีต่อต้นอ่อน ส่วนพวกกาแลคโตส (Galactose) นั้น เมื่อไฮโดรไลซ์แล้วที่อยู่ในส่วนของเซลล์ภายนอก จากนั้นต้นอ่อนจะถูกทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๒. ฮอร์โมนไคเนติน

Letham (๑๙๖๙) พบว่าไซโตไคนิน (Cytokinin) สามารถชักนำให้มีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรได้หลายทาง ฮอร์โมนชนิดนี้เป็นตัวนำในการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารและเมตาโบลิซึมต่างๆ ยับยั้งการร่วงของใบ บรรเทาอาการอันเนื่องจากขาดธาตุอาหารหรือสภาพอุณหภูมิไม่เหมาะสม เพิ่มอัตราการคายน้ำของใบ และชักนำให้มีการสังเคราะห์โปรตีนและ RNA Davies และ Cocking (๑๙๖๗) ได้แสดงให้เห็นว่า ไซโตไคนิน สามารถเปลี่ยนกรดอะมิโน (Amino acid) ให้เป็นโปรตีนในพลาสติด (Plastids) ในเวลาเพียง ๒ – ๓ นาที Mooreและ Coralie (๑๙๖๘) เป็นกลุ่มแรกที่ได้สังเกตุการเคลื่อนที่ของกรดอะมิโนซึ่งเข้าไปในบริเวณของใบที่ทาไซโตไคนินลงไป นอกจากนี้พวกฟอสเฟต (Phosphate) auxin และสารอื่นๆภายในใบยังถูกชักนำโดยไซโตคินินให้ไปสะสมในบริเวณที่ให้ไซโตไคนินไว้มาก Overbeek (๑๙๔๑) ได้พบสารนี้ในน้ำมะพร้าว และได้รายงานว่า เป็นปัจจัยของการเติบโตที่มีอำนาจอย่างหนึ่ง และทำให้การค้นคว้าเกี่ยวกับการเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ประสพผลดียิ่งขึ้น Miller และคณะ (๑๙๕๕) ได้แยกสารบริสุทธิ์จาก DNA ของยีสต์ ซึ่งเป็นสาร adenine derirative และได้ตั้งชื่อให้ว่า ไคเนติน ในปีต่อมาเขากับคณะก็ได้วิเคราะห์ต่อ และได้พบว่า ไคเนตินก็คือ ๖ – เฟอฟูริลามิโนเพียวริ่ง (6-furfurylaminopurine) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้



6-furfurylaminopurine

"kinetin"

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Skoog และ Miller (๑๙๕๗) ได้พบว่าสารนี้มีคุณสมบัติในการแบ่งเซลล์ ต่อมาก็ได้พบเพิ่มขึ้นอีกหลายสารที่มีคุณสมบัติคล้ายๆกัน ก็เลยเรียกรวมกันไปว่า Kinin Letham (๑๙๖๙) กล่าวว่าหน้าที่ยันเกิดจากไซโตไคนิน ที่สำคัญมีอยู่ ๒ ประการคือ ชักนำให้มีการแบ่งเซลล์และกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อของพืชที่ตัดมาเลี้ยง นอกจากนี้ไซโตไคนินยังมีผลทำให้เกิดรากข้าง ซึ่งแทงออกจากรากที่ตัดมาเลี้ยง Wilmar และ Hellendoor (๑๙๖๘) กล่าวว่าเมื่อนำเอาแคลลัสที่เกิดจากไฮโปไคติล (Hypocotyl) ของต้นกล้าแครอท (Carrot) มาเลี้ยง จะเจริญได้เร็วมากในวุ้นที่มี 2,4-D ๑ มิลลิกรัม/ลิตร และไคเนติน ๐.๓๑๕ มิลลิกรัม/ลิตร จากนั้นสารทั้งสองจะไม่เกิดรากหรือถ้ามีก็น้อยมาก ถ้าใช้เพียงตัวหนึ่งตัวใด หรือใช้ร่วมกับสารอื่นๆที่มีความเข้มข้นต่ำๆ จะไปกดไม่ให้เกิดแคลลัสได้เร็ว Okazawa และคณะ (๑๙๖๗) พบว่าไคเนตินช่วยให้แคลลัสนั้นเจริญไปเป็นต้นอ่อนและถ้าความเข้มข้นของไคเนตินสูง จะเป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

๑. เครื่องชั่ง (Balance) เป็นเครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดที่ชั่งได้ละเอียดเป็นกรัมและมิลลิกรัม

๒. หม้อนึ่ง (Autoclave) แบบอัตโนมัติ ใช้ไฟฟ้า หรือแบบธรรมดาใช้แก๊ส

๓. เตาไฟฟ้า หรือ Heating plate ใช้ผสมส่วนประกอบของอาหารให้เข้ากัน และใช้สำหรับให้ความร้อนในการละลายวุ้น

๔. ตู้เพาะกล้วยไม้ ใช้เป็นตู้เพาะแบบอบแก๊สฟอร์มาลีน

๕. โปรโตคอร์มกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas ที่ได้มาจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

๖. สารเคมี

–เอทธิล แอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) 70-95%

–เมทธิล แอลกอฮอล์ (Methyl alcohol)

–ฟอร์มาลีน (formaline)

–โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต (Potassium permanganate)

–กรดไนตริค (Nitric acid) ความเข้มข้น ๑ นอร์มอล

–โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium Hydroxide) ความเข้มข้น ๑ นอร์มอล

–กรดเมอคิวริค พิคริค (Mercuric piclic acid)

–สารเคมีที่เป็นสูตรอาหาร Murashige & Skoog (ดูตารางภาคผนวกที่ ๑)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๗. เครื่องแก้ว

–จานแก้วมีฝาครอบ (plate)

–กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด ๑๐ , ๒๕ , ๕๐ , ๑๐๐, และ ๒๕๐ มิลลิลิตร

–ขวดแก้วก้นกลม (Valumetric flask) ขนาด ๑๐๐ , ๒๕๐, และ ๑๐๐๐ มิลลิลิตร

–กระบอกแก้ว (Beaker) ขนาด ๕๐ , ๑๐๐ , ๓๐๐ , ๕๐๐, ๖๐๐, ๗๐๐, และ ๑๐๐๐ มิลลิลิตร

–ขวดแก้วใส stock solution ขนาด ๒๕๐ และ ๑๐๐๐ มิลลิลิตร

–หลอดหยด (dropper)

–กรวยแก้ว (Funnel)

–ขวดใส่อาหารเลี้ยงโปรโตคอร์มขนาด ๑๕๐ มิลลิลิตร

–ตะเกียงแอลกอฮอท์

–แท่งแก้วคนสารเคมี

–ไปเปตต์ (Pipeet) ขนาด ๑ และ ๑๐ มิลลิลิตร

๘. อุปกรณ์อื่นๆ

–สำลี จุกยาง กระดาษขนาด ๖ + ๖ นิ้ว หนังยางรัดปากขวด

–กระดาษอลูมินัม (Aluminum foil)

–อ่างน้ำ

–โต๊ะสำหรับเตรียมอาหาร

–กระดาษแก้วสำหรับชั่งสารเคมี

–ช้อนตักสารเคมี

–มีดและกรรไกร

–ปากคีบ

–ไม้ขีดไฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

ทำการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารแข็ง Murashige and Stoog (Ms)[1] ที่เติมไคเนตินความเข้มข้น ๐ , ๑ , ๒ , ๓ , ๔ , และ ๕ ppm. ร่วมกับซูโครสที่มีความเข้มข้น ๒๐ , ๓๐, และ ๔๐ กรัม/ลิตร ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

๑. การวางแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design โดยแบ่งออกเป็น ๓ กลุ่ม กลุ่มละ ๕ ตำรับ ตำรับละ ๕ ซ้ำ โดยเปรียบเทียบกับ Control ซึ่งไม่เติมไคเนติน

กลุ่มที่ ๑ ศึกษาผลของไคเนตินที่มีต่อความเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม โดยใช้ปริมาณความเข้มข้น ๑ , ๒ , ๓ , ๔ และ ๕ ppm. เปรียบเทียบกับ Control โดยมีปริมาณซูโครสคงที่ ที่ ๒๐ กรัม/ลิตร

ตำรับที่ ๑ Ms + 20gm/lit sucrose + 1ppm NAA[2]+1ppm kinetin[3]
ตำรับที่ ๒ Ms + 20gm/lit sucrose + 1ppm NAA+2ppm kinetin
ตำรับที่ ๓ Ms + 20gm/lit sucrose + 1ppm NAA+3ppm kinetin
ตำรับที่ ๔ Ms + 20gm/lit sucrose + 1ppm NAA+4ppm kinetin
ตำรับที่ ๕ Ms + 20gm/lit sucrose + 1ppm NAA+5ppm kinetin

/1 Ms คือสูตรอาหารแข็ง Murashige and Skoog (Ms) ซึ่งประกอบด้วย วุ้น ธาตุอาหารต่างๆ สาร Organic รายละเอียดให้ดูจากภาคผนวก ที่ ๑

/2 NAA คือฮอร์โมน 1-Naphthalene acetic acid

/3 kinetin เป็นฮอร์โมนที่ใช้ในระดับต่างๆกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ ๒ ศึกษาผลของไคเนตินที่มีต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม ในปริมาณความเข้มข้น ๑, ๒, ๓, ๔ และ ๕ppm. เปรียบเทียบกับ Control โดยมีปริมาณซูโครสคงที่ที่ ๓๐ กรัม/ลิตร

- ตำรับที่ ๑ Ms +30gm/lit sucrose +1ppm NAA+1ppm kinetin
- ตำรับที่ ๒ Ms +30gm/lit sucrose +1ppm NAA+2ppm kinetin
- ตำรับที่ ๓ Ms +30gm/lit sucrose +1ppm NAA+3ppm kinetin
- ตำรับที่ ๔ Ms +30gm/lit sucrose +1ppm NAA+4ppm kinetin
- ตำรับที่ ๕ Ms +30gm/lit sucrose +1ppm NAA+5ppm kinetin

กลุ่มที่ ๓ ศึกษาผลของไคเนตินที่มีต่อความเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม ในปริมาณความเข้มข้น ๑, ๒, ๓, ๔ และ ๕ppm เปรียบเทียบกับ Control โดยมีปริมาณซูโครสคงที่ที่ ๔๐ กรัม/ลิตร

- ตำรับที่ ๑ Ms +40gm/lit sucrose+1ppm NAA+1ppm kinetin
- ตำรับที่ ๒ Ms +40gm/lit sucrose+1ppm NAA+2ppm kinetin
- ตำรับที่ ๓ Ms +40gm/lit sucrose+1ppm NAA+3ppm kinetin
- ตำรับที่ ๔ Ms +40gm/lit sucrose+1ppm NAA+4ppm kinetin
- ตำรับที่ ๕ Ms +40gm/lit sucrose+1ppm NAA+5ppm kinetin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารละลาย (Stock solution) จะแบ่งออกเป็น ๖ สารละลาย โดยใช้ขวดแก้วก้นกลมเป็นเครื่องมือในการเตรียม

๒.๑ เอ็ม. เอส. มาโคร อีลีเมนท์ (Ms Marcro element) ดูดมาใช้ ๑๐๐ มิลลิลิตรต่ออาหาร ๑ ลิตร ซึ่งประกอบด้วย

–น้ำกลั่น(H_2O)	๑๐๐๐	มิลลิลิตร
–โปแตสเซียมไนเตรท (KNO_3)	๑.๙	กรัม
–แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3)	๑๖.๕	กรัม
–แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	๔.๔	กรัม
–แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	๓.๗	กรัม
–โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	๑.๗	กรัม

๒.๒ เอ็ม เอส ไมโคร อีลีเมนท์ (Ms Micro element) ดูดมาใช้ ๑ มิลลิลิตร ต่ออาหาร ๑ ลิตร ซึ่งประกอบด้วย

–น้ำกลั่น	๑๐๐๐	มิลลิลิตร
–กรดบอริค (H_3BO_3)	๖.๒	กรัม
–แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO4.H_2O$)	๑๖.๙	กรัม
–ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4.H_2O$)	๘.๑๔	กรัม
–โปตัสเซียมไอโอไดด์ (KI)	๐.๘๓	กรัม
–โซเดียมโมลิบเดท ($Na_2MoO_4.2H_2O$)	๐.๒๕	กรัม
–คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)	๐.๐๒๕	กรัม
–โคบอลท์ คลอไรด์ ($CoCl_2.6H_2O$)	๐.๐๒๕	กรัม

๒.๓ เอ็ม เอส ไอรอน สต็อค (Ms Iron stock) ดูดมาใช้ ๕ มิลลิลิตรต่ออาหาร ๑ ลิตร ซึ่งประกอบด้วย

–น้ำกลั่น	๑๐๐๐	มิลลิลิตร
–เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)	๕.๕๗	กรัม
–โซเดียม อีดีทีเอ (Na_2EDTA)	๗.๔๕	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๒.๔ เอ็ม เอส ออกานิค แอดเดนดา (Ms Organic addenda) ดูดมาใช้ ๕ มิลลิลิตร ต่ออาหาร ๑ลิตร ซึ่งประกอบด้วย

น้ำกลั่น	๑๐๐	มิลลิลิตร
ไบโอ–อิโนซิตอล (Myo-inositol)	๒๐๐๐	มิลลิกรัม
กรดนิโคตินิค (Nicotinic acid)	๑๐๐	"
ไกลซีน (Glycine)	๔๐	"
ไพริดอกซิน (Pyridoxine)	๑๐	"
ไทอามิน (Thiamine)	๑๐	"
กรดโฟลิค (Folic acid)	๑๐	"
ไบโอติน (Biotin)	๑	"

๒.๕ สารละลาย เอ็น เอ เอ (NAA stock) ทำให้เป็นสารละลายที่มีความเข้มข้น ๑๐๐๐ppm. และดูดมาใช้ ๑ มิลลิลิตร ต่ออาหาร ๑ ลิตร ซึ่งประกอบด้วย

น้ำกลั่น	๑๐๐	มิลลิลิตร
NAA	๐.๑	กรัม

๒.๖ สารละลายไคเนติน (kinetin stock) ทำเป็นสารละลายความเข้มข้น ๑๐๐๐ ppm. ดูดมาใช้ตามความเข้มข้นต่างๆกันตามแผนการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย

น้ำกลั่น	๑๐๐	มิลลิลิตร
ไคเนติน (kinetin)	๐.๑	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๓. การเตรียมอาหารแข็ง เตรียมโดยตวงน้ำกลั่น ๑๐๐ มิลลิลิตร ใส่ในภาชนะตวงสารละลายของ มาโคร อีลีเมนท์ ไมโคร อีลีเมนท์ ออกานิค แอดเดนดา ฮอร์โมนตามปริมาตรของแผนการทดลองและจากสูตรของ Murashige and Skoog แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ ๑๐๐๐ มิลลิลิตร นำมาวัด pH และปรับ pH ให้ได้ ๕.๖ โดยใช้ ๑ นอร์มอล ของโปแตสเซี่ยมไฮดรอกไซด์ (KOH) หรือ ๑ นอร์มอลของกรดไนตริค (HNO_3) แล้วเติมวุ้นลงไป ๘ กรัมต่อลิตร ต้มให้วุ้นละลาย แล้วเติมน้ำตาลทราย ตามแผนการทดลอง คนให้น้ำตาลทรายละลาย บรรจุใส่ขวดขนาด ๑๕๐ มิลลิลิตร โดยแบ่งใส่ขวดละ ๒๕ มิลลิลิตร อาหาร ๑ ลิตรจะบรรจุได้ ๔๐ ขวด เช็ดปากขวดให้สะอาด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ อุดจุกขวดด้วยจุกยางซึ่งมีรูอุดสำลีอยู่ตรงกลางจุก เอากระดาษหุ้มทับยางอีกชั้นหนึ่ง ใช้ยางรัดให้แน่น แล้วนำไปนึ่งในหม้อ Autoclave ซึ่งมีความดัน ๑๕ ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา ๓๐ นาที เสร็จแล้วนำเอาขวดอาหารมาเก็บไว้เลี้ยงโปรโตคอร์มได้

๔. การเตรียมตู้ย้ายโปรโตคอร์ม ตู้ย้ายโปรโตคอร์ม ควรประกอบไปด้วยวัสดุอุปกรณ์ดังต่อไปนี้

๔.๑ เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายโปรโตคอร์ม ได้แก่ ปากคีบ (forceps) มีดผ่าตัด(Surgeon knife) จานแก้ว กระบอกแก้ว หุ้มด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ ๑๒๑ องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย ๑๕ นาที แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ย้ายโปรโตคอร์ม

๔.๒ ตะเกียงแอลกอฮอล์ เช็ดด้วยแอลกอฮอล์ ๗๐ – ๙๕ เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำเข้าตู้ย้ายโปรโตคอร์ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๔.๓ ไม้ขีดไฟ

๔.๔ ขวดอาหารที่ใช้ในการทดลองถ่ายโปรโตคอร์ม

๔.๕ โปรโตคอร์มที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas

จากนั้นทำการอบด้วยไอพอร์มาลีน โดยใช้ด่างทับทิม ๒๘ กรัมผสมกับพอร์มาลีน ๖๐ มิลลิลิตร ผสมในกระบอกแก้ว ๗๐๐ มิลลิลิตร ทิ้งไว้ ๒๔ ชั่วโมง จึงทำการถ่ายโปรโตคอร์ม

๕. วิธีการย้ายโปรโตคอร์ม ทำการย้ายโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ Dendrobium Jacquelyn Thomas โดยการนำขวดอาหารแข็งมาลนปากขวดด้วยแปรงไฟตะเกียงแอลกอฮอล์ แล้วเปิดจุกยางออก ใช้ปากคีบที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว คีบโปรโตคอร์มใส่ลงไปในขวดอาหารให้อยู่กลางขวด ลนปากขวดด้วยไฟอีกทีหนึ่ง แล้วอุดด้วยจุกยางอย่างเดิม

เมื่อทำการย้ายโปรโตคอร์มเรียบร้อยแล้ว จึงนำขวดที่ย้ายโปรโตคอร์มออกจากตู้ ทำการเคลือบจุกด้วยกรดเมอคิวริค ปิคลิก นำไปตั้งไว้ในที่เลี้ยงโปรโตคอร์มต่อไป

๖. สถานที่ทำการเลี้ยงโปรโตคอร์ม นำโปรโตคอร์มที่ได้จากการถ่ายขวดแล้วนำไปเลี้ยงที่ตึกวิทยาศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขตเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

๗. เวลาที่ใช้ในการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง วันที่	๖ พฤศจิกายน ๒๕๒๓
สิ้นสุดการทดลอง วันที่	๕ กุมภาพันธ์ ๒๕๒๔

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ผลการทดลอง

กลุ่มที่ ๑ การศึกษาผลของไคเนตินที่มีต่อความเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม ในปริมาณความเข้มข้น ๑ , ๒ , ๓ , ๔ และ ๕ ppm.เปรียบเทียบกับ Control โดยมีปริมาณซูโครสคงที่ ที่ ๒๐ กรัม/ลิตร

จำนวนต้น เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนต้นที่ระดับความเข้มข้นของไคเนตินต่างๆกัน คือ ๐ , ๑ , ๒ , ๓ , ๔ และ ๕ ppm (ภาพที่ ๑) จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยจำนวนต้นจะมากที่สุด ที่ความเข้มข้นของไคเนติน ๑ ppm และค่าเฉลี่ยจำนวนต้นจะน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น ๕ ppm แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ปรากฏว่าความเข้มข้นของไคเนติน มีผลทำให้จำนวนต้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางภาคผนวกที่ ๒) และเมื่อนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ Duncan's new multiple -range testปรากฏผลดังนี้

๑. ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่ระดับความเข้มข้นของไคเนติน ๑ ppm. เป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนต้นมากที่สุด และจะต่างกันที่ระดับความเข้มข้น ไคเนติน ๒ , ๓, ๔ และ ๕ ppm.

๒. ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่ระดับความเข้มข้นของไคเนติน ๒ และ ๓ ppm.ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จะแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นของไคเนติน ๔ และ ๕ ppm.

๓. ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๔ ppm. จะแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ ๕ ppm.

จำนวนราก เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนรากที่ระดับความเข้มข้นของไคเนตินต่างๆกัน คือ ๐ , ๑, ๒ , ๓ , ๔ และ ๕ ppm (ภาพที่๒)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

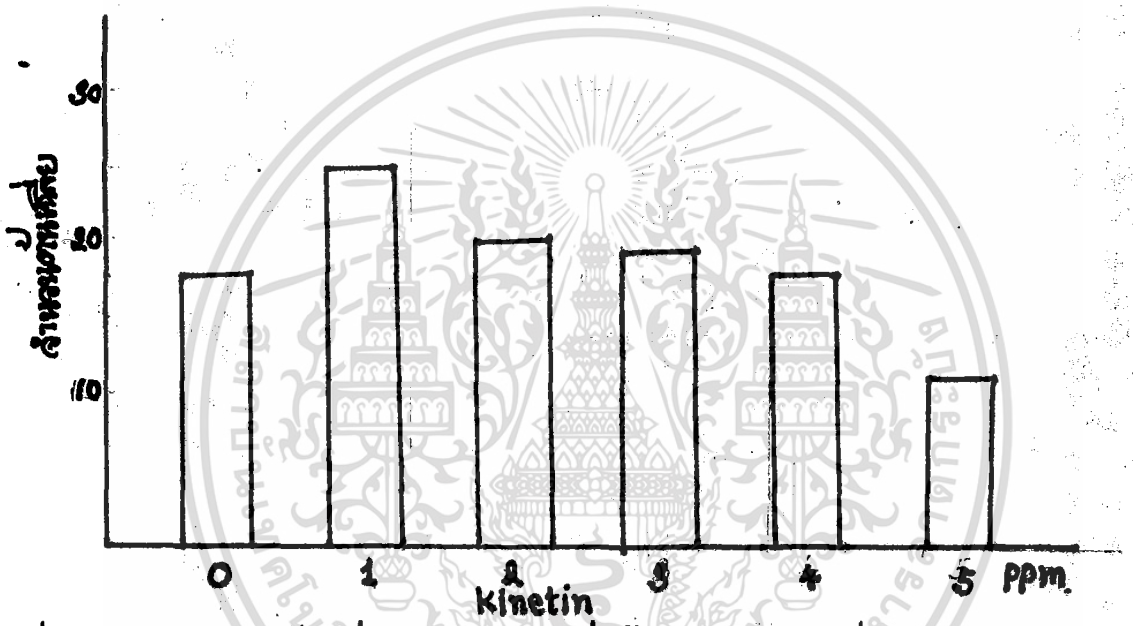
จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยจำนวนรากจะมากที่สุดที่ความเข้มข้นของไคเนติน ๔ppm และค่าเฉลี่ยจำนวนรากจะน้อยที่สุดที่ความเข้มข้นของไคเนติน ๕ppm แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติปรากฏว่าความเข้มข้นของไคเนติน มีผลทำให้จำนวนรากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางภาคผนวกที่๓) และเมื่อนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย โดยใช้วิธีของ Duncan's new multiple - range test ปรากฏดังนี้

๑. ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๔ ppm จะแตกต่างกับค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๓ppm. และทั้งสองระดับความเข้มข้นนี้ยังแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑, ๒ และ ๕ ppm.

๒. ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่ระดับความเข้มข้น ๑ , ๒ และ ๕ ppm จะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

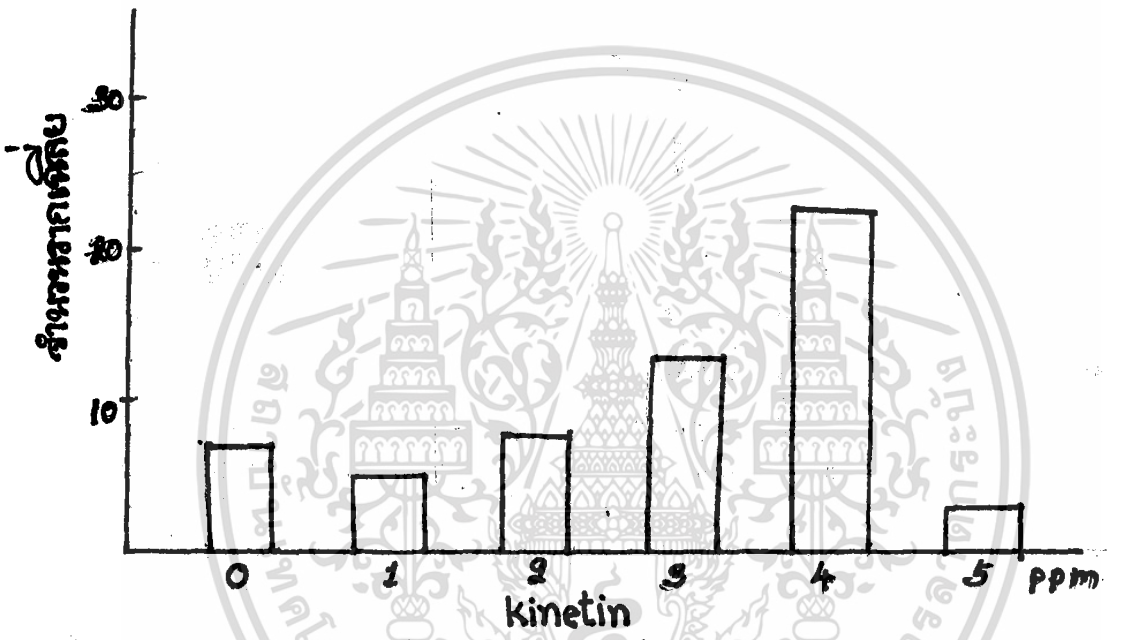
100449

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1. แสดงจำนวนต้นเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนไคเนติน ปริมาณความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ตามลำดับ เปรียบเทียบกับไม่มีไคเนตินเลย โดยมีซูโครสคงที่ที่ 20 กรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2. แสดงจำนวนรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน-ไคเนตินปริมาณความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ตามลำดับ เปรียบเทียบกับไม่เติมไคเนตินเลย โดยมีซูโครสคงที่ที่ 20 กรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ ๒ ผลของไคเนตินที่มีต่อความเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มในปริมาณความเข้มข้น ๑, ๒, ๓, ๔,และ ๕ ppm เปรียบเทียบกับ ไม่ใส่ไคเนติน โดยมีน้ำตาลคงที่ ที่ ๓๐ กรัม/ลิตร

จำนวนต้น เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนต้นที่ระดับความเข้มข้นไคเนตินต่างๆกัน คือ ๐, ๑, ๒, ๓, ๔ และ ๕ ppm (ภาพที่ ๓) จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยจำนวนต้นมากที่สุดที่ความเข้มข้นของไคเนติน ๑ และ ๒ ppm และค่าเฉลี่ยจำนวนต้นน้อยที่สุด ที่ระดับความเข้มข้นของไคเนติน ๐ ppm แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ผลปรากฏว่า ความเข้มข้นของไคเนติน ไม่มีผลทำให้จำนวนต้นมีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ ๔)

จำนวนราก เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนราก ที่ระดับความเข้มข้นของไคเนตินต่างๆกัน คือ ๐, ๑, ๒, ๓, ๔ และ ๕ppm (ภาพที่๔) จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยจำนวนรากมากที่สุดที่ความเข้มข้นไคเนติน ๕ ppm และค่าเฉลี่ยจำนวนรากน้อยที่สุดที่ระดับความเข้มข้นของไคเนติน ๐ ppm แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ปรากฏว่า ความเข้มข้นของไคเนติน มีผลทำให้จำนวนรากมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางภาคผนวกที่ ๕) และเมื่อนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีของ Duncan's new multiple - range test ปรากฏผลดังนี้

๑. ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๕ ppm จะแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑ ,๒ ,๓ , และ ๔ ppm.
๒. ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่ระดับความเข้มข้นของไคเนติน ที่ระดับ ๔ และ ๓ ppm. ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จะแตกต่าง

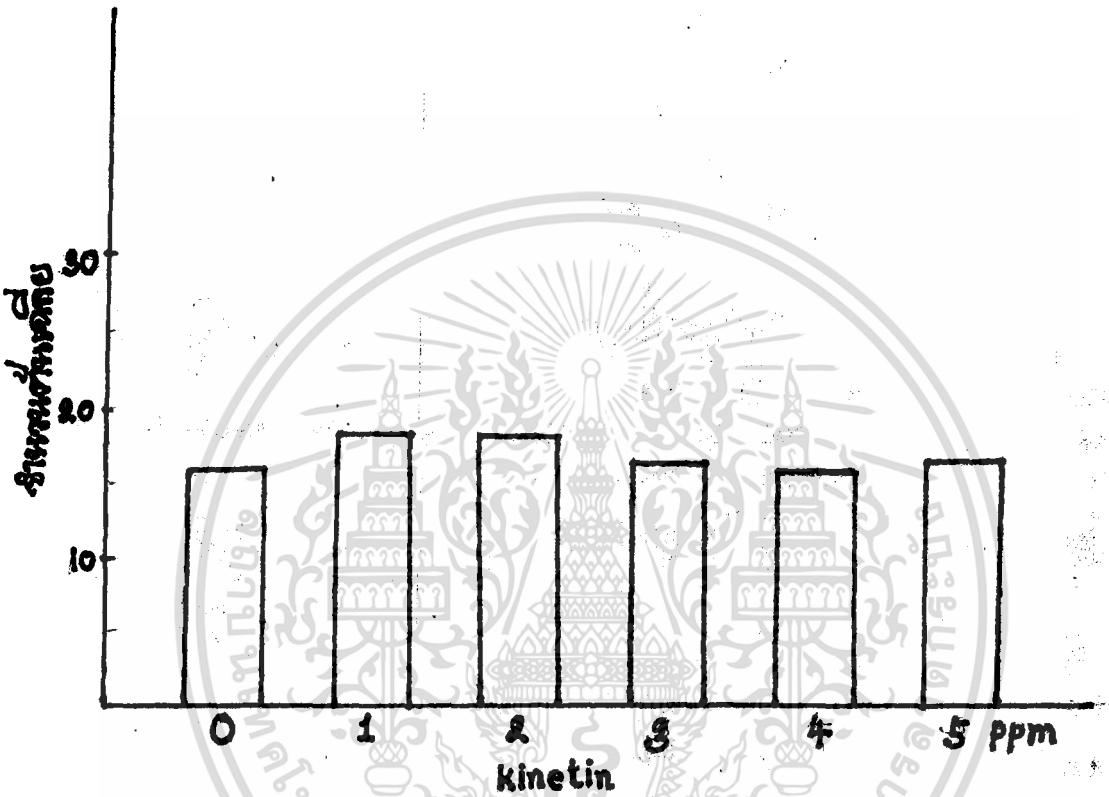
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กันที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑ และ ๒ ppm

๓. ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๓ และ ๒ ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จะแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้น ๑ ppm

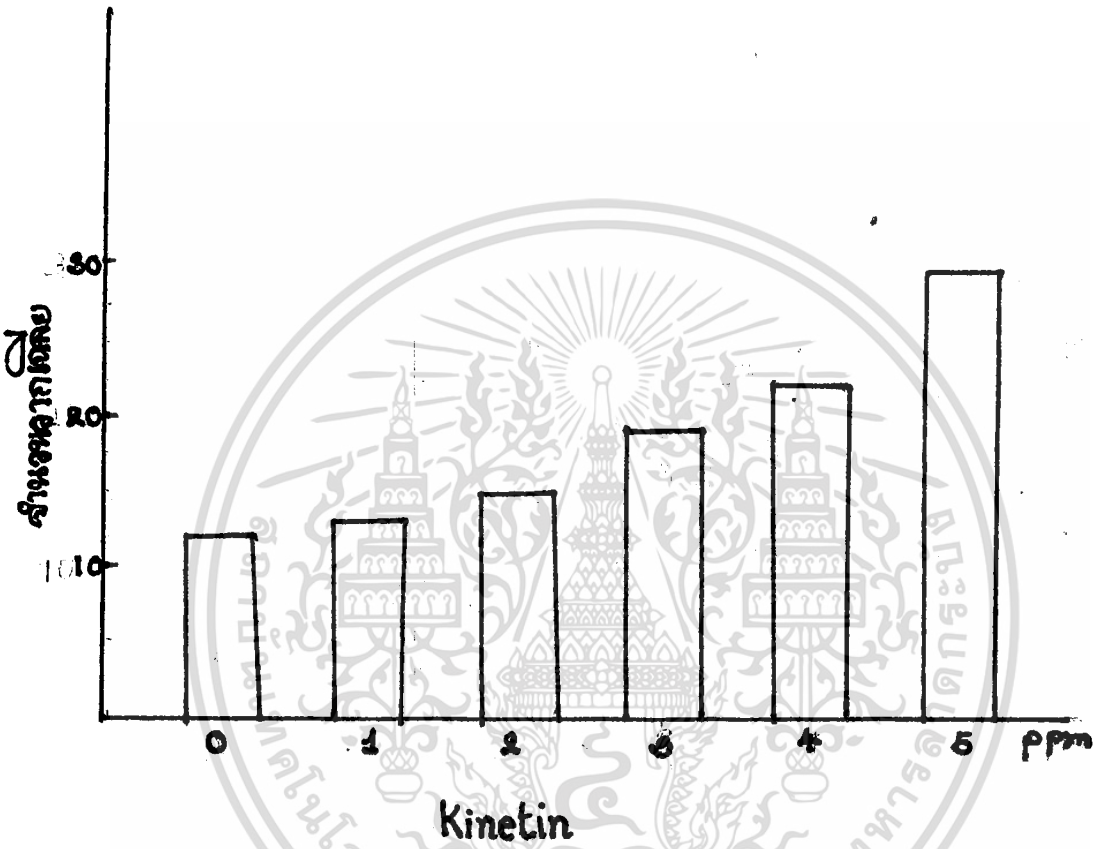
๔. ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๒ และ ๑ ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3. แสดงจำนวนต้นเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนไคเนติน ปริมาณความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ตามลำดับ เปรียบเทียบกับไม่เติมไคเนตินเลย โดยมีซูโครสคงที่ที่ 30 กรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4. แสดงจำนวนรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนไคเนติน ปริมาณความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ตามลำดับ เปรียบเทียบกับไม่เติมไคเนตินเลย โดยมีซูโครสคงที่ที่ 30 กรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

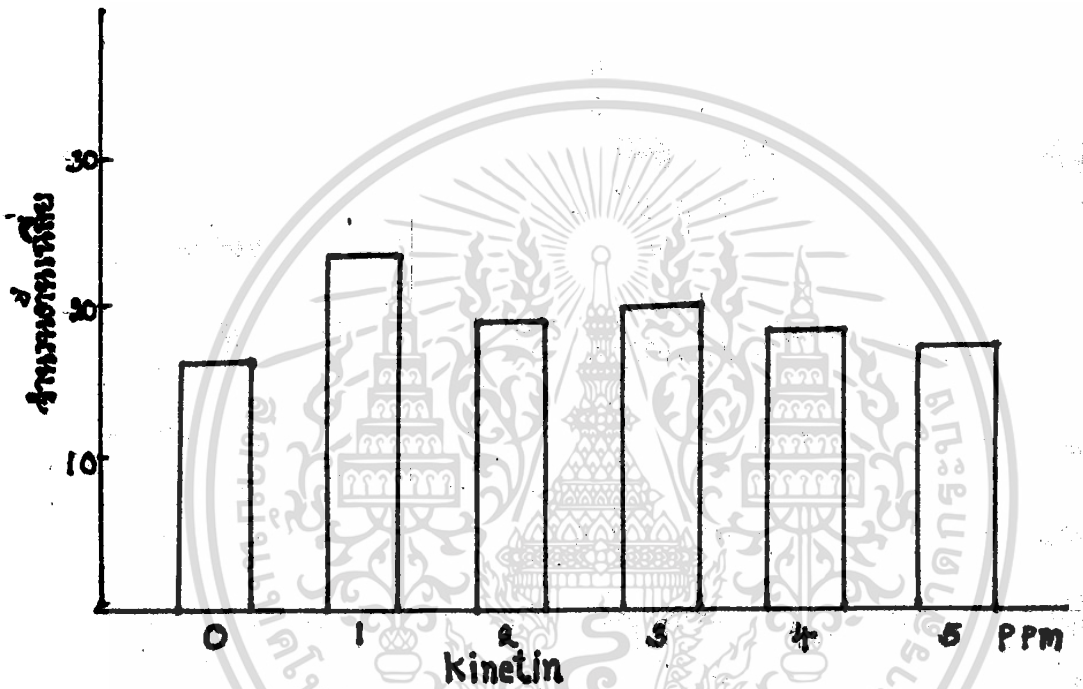
กลุ่มที่ ๓ ผลของไคเนตินที่มีต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม ในปริมาณความเข้มข้น ๑ , ๒ , ๓ , ๔ และ ๕ ppm เปรียบเทียบกับไม่ใส่ไคเนติน โดยมีน้ำตาลคงที่ ที่ ๔๐ กรัม/ลิตร

จำนวนต้น เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่ระดับความเข้มข้นไคเนตินต่างๆกัน คือ ๐, ๑ , ๒ , ๓ , ๔ และ ๕ ppm (ภาพที่ ๕) จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยจำนวนต้นมากที่สุดที่ความเข้มข้น ๑ ppm และค่าเฉลี่ยจำนวนต้นน้อยที่สุดคือ ที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๐ ppm แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ปรากฏว่า ความเข้มข้นของไคเนติน ไม่มีผลทำให้จำนวนต้นแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ ๖)

จำนวนราก เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนราก ที่ระดับความเข้มข้นไคเนตินต่างๆกัน คือ ๐ , ๑ , ๒ , ๓ , ๔ และ ๕ ppm (ภาพที่ ๖) จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยจำนวนรากมากที่สุดที่ความเข้มข้นไคเนติน ๕ ppm และค่าเฉลี่ยจำนวนรากน้อยที่สุดที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๐ ppm แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ปรากฏว่าความเข้มข้นไคเนตินมีผลทำให้จำนวนรากมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางภาคผนวกที่ ๗) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีของ Duncan's new multiple - range test ปรากฏผลดังนี้

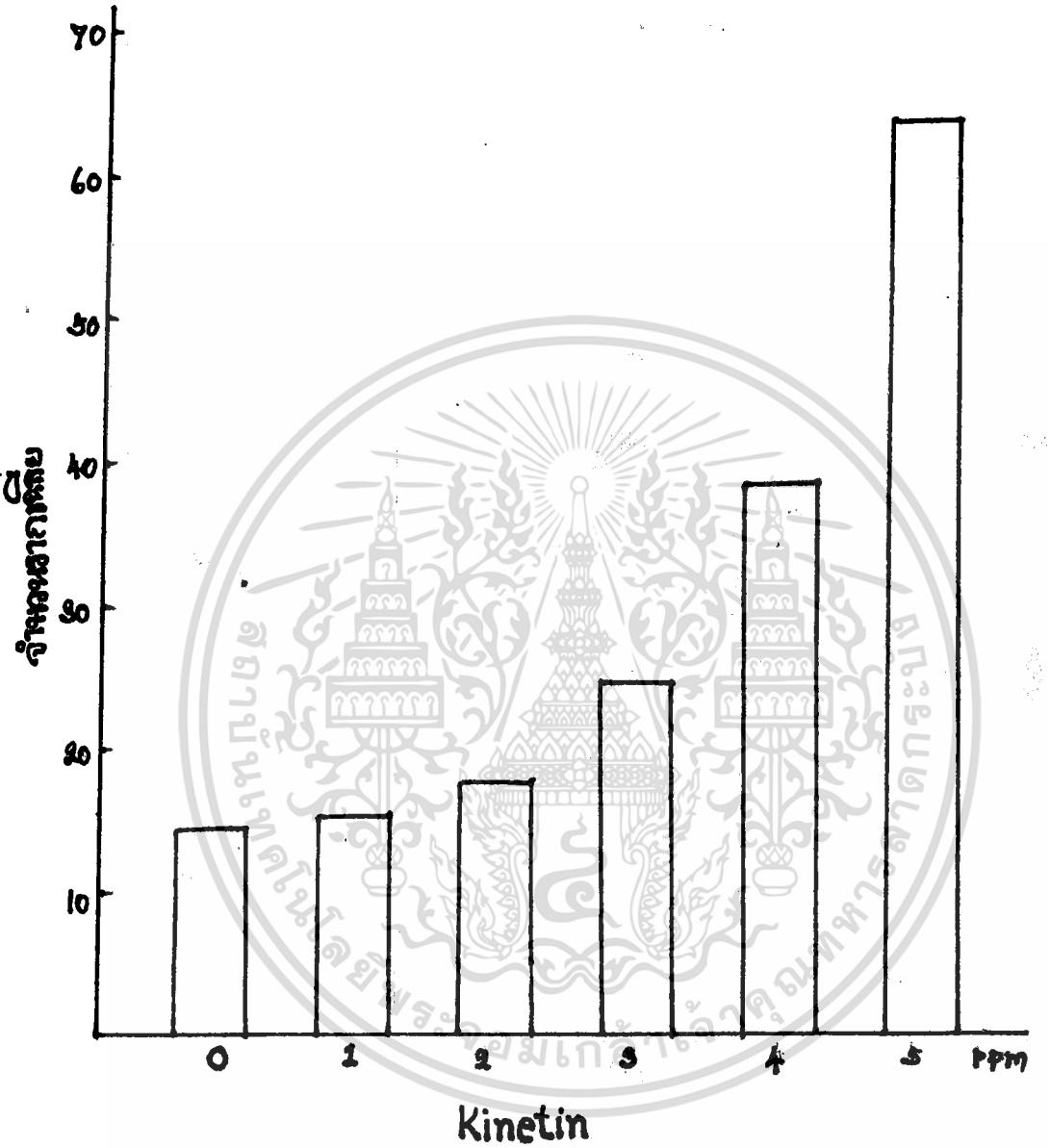
๑. ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่ระดับความเข้มข้นของไคเนติน ๕ ppm จะแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเข้มข้นของไคเนติน ๑, ๒, ๓, ๔ และ ๕ ppm
๒. ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๔ และ ๓ ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จะแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑ และ ๒ ppm
๓. ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑ ๒ และ ๓ ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5. แสดงจำนวนต้นเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนไคเนติน ปริมาณความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ตามลำดับ เปรียบเทียบกับไม่เติมไคเนตินเลย โดยมีซูโครสคงที่ที่ 40 กรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6. แสดงจำนวนรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนไคเนติน ปริมาณความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ตามลำดับ เปรียบเทียบกับไม่เติมไคเนตินเลย โดยมีซูโครสคงที่ที่ 40 กรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองใช้ไคเนตินเพื่อดูผลที่มีต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas ในปริมาณความเข้มข้นต่างๆกัน คือ ๑, ๒ ,๓, ๔, และ ๕ ppm เปรียบเทียบกับ Control โดยมีซูโครสคงที่ ที่ ๒๐ กรัม/ลิตร ผลปรากฏว่า ตำรับที่ ๑ (Ms + 1ppmNAA +20gm/lit sucrose +1ppm kinetin) ได้รับผลดีที่สุด คือจำนวนต้นเฉลี่ย ๒๔.๗๕ ต้น และจำนวนรากเฉลี่ย ๗.๗๕ ราก ต่อ ๑ โปรโตคอร์ม ในขณะที่ตำรับอื่นๆให้จำนวนต้นน้อยกว่า สาเหตุที่ตำรับที่ ๑ ให้จำนวนต้นดีที่สุด ก็อาจจะเนื่องจากมาจาก ความเข้มข้นของไคเนตินอยู่ในระดับที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตเป็นยอด เพราะถ้าความเข้มข้นของไคเนตินสูงเกินไป จะเป็นตัวยับยั้งการเจริญไปเป็นต้น ดังตำรับที่ ๕ (Ms + 1ppmNAA + 20gm/lit sucrose + 5 ppm kinetin) จำนวนต้นจะน้อยที่สุด และต้นไม่มีการเจริญเติบโต ซึ่งตรงกับผลงานของ Okazawa และคณะ (๑๙๖๗) พบว่า ไคเนตินช่วยให้เคลลัสเจริญเติบโตไปเป็นต้นอ่อน และความเข้มข้นของไคเนตินสูงจะเป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของต้น ส่วนรากนั้น ผลปรากฏว่า ตำรับที่ ๔ (Ms + 1ppmNAA + 20gm/lit sucrose +4ppm kinetin) ได้รับผลดีที่สุดคือ ให้จำนวนรากเฉลี่ย ๒๓ ราก และจำนวนต้นเฉลี่ย ๑๗ ต้น ขณะที่ตำรับอื่นๆให้จำนวนรากน้อยกว่า สาเหตุที่ตำรับ ๔ ให้จำนวนรากดีที่สุดก็อาจจะเนื่องมาจากความเข้มข้นของไคเนตินอยู่ในระดับที่เหมาะสมกับกล้วยไม้ในการเจริญเติบโตไปเป็นราก เพราะถ้าไคเนตินสูงเกินไปก็จะยับยั้งการเจริญของรากได้ เช่น ตำรับที่ ๕ (Ms +1ppm NAA + 20gm/lit sucrose + 5ppm kinetin) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยจำนวนราก ๓ ราก และยับยั้งการเกิดจำนวนต้นด้วย คือจำนวนต้นเฉลี่ย ๘.๗๕ ต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองครั้งนี้ เราได้เพิ่มปริมาณของซูโครส จาก ๒๐ กรัม ต่อลิตร เป็น ๓๐ กรัม/ลิตร ร่วมกับไคเนติน ความเข้มข้น ๑, ๒, ๓, ๔ และ ๕ppm. ในสูตรอาหาร Ms+1ppm NAA พบว่า จำนวนรากจะเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะตำรับที่ ๕ (Ms + 1ppm. NAA+30gm/lit sucrose + 5ppm. kinetin) จะให้จำนวนรากมากที่สุด เฉลี่ย ๓๔ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม และถ้าเพิ่มซูโครส จาก ๓๐ กรัม เป็น ๔๐ กรัม/ลิตร จำนวนรากยิ่งเพิ่มขึ้นอีก โดยเฉพาะตำรับที่ ๕ (Ms +1ppm NAA + 40gm/lit sucrose + 5 ppm kinetin) จะให้จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด คือ ๖๔.๗๕ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม ตรงกับผลการทดลองของ Yates และ Curtis (๑๙๔๙) ได้ทดลองหาระดับความเข้มข้นของน้ำตาล ตั้งแต่ 0.06 – 0.20 molar โดยใช้น้ำตาลซูโครสกับเมล็ดกล้วยไม้ Epidendrum และCattleya พบว่าต้นอ่อนในวุ้นอาหารที่มีซูโครส เข้มข้นสูง จะไปเพิ่มการเจริญเติบโตของส่วนราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาผลของไคเนติน และ ซูโครส ต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas เป็นการศึกษาเพื่อหาจำนวนต้นและจำนวนราก ที่มีต่อระดับความเข้มข้นของไคเนตินต่างๆกัน ร่วมกับปริมาณซูโครสต่างๆกัน เพื่อเป็นประโยชน์ในการทราบระดับความเข้มข้นของไคเนตินและซูโครส ที่มีผลต่อการเกิดต้นและรากของโปรโตคอร์มกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas ต่อไป จากการทดลองครั้งนี้ สรุปผลได้ว่า การใช้ไคเนตินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน คือ ๑, ๒, ๓, ๔, และ ๕ ppm.เปรียบเทียบกับ Control โดยมีปริมาณซูโครส ๒๐ กรัม/ลิตร พบว่าจะมีจำนวนต้นและรากมากกว่าไม่ใส่ไคเนติน ยกเว้นที่ความเข้มข้นของไคเนติน ๕ ppm. จะมีปริมาณต้นและรากน้อยกว่าไม่ใส่ไคเนติน แต่ถ้าเราเพิ่มซูโครส เป็น ๓๐ กรัม/ลิตร และ ๔๐ กรัม/ลิตร จะพบว่าจำนวนต้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จำนวนรากจะเพิ่มมากขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของไคเนติน และปริมาณจะสูงสุดที่ความเข้มข้นไคเนติน ๕ ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

๑. มนตรี จุฬาวัฒนกุล และคณะ. ๒๕๑๖. ชีวเคมี. โรงพิมพ์บำรุงนุกูลกิจ กรุงเทพมหานคร ๕๑๖ หน้า.

๒. ระพี สาคริก. ๒๕๑๖. การเพาะปลูกกล้วยไม้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย. ชวนพิมพ์. กรุงเทพฯ ๘๕๖ หน้า.

๓. ระพี สาคริก. ๒๕๑๓. คำบรรยายวิชากล้วยไม้. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน (โรเนียว).

๔. Arditti et al. 1970. The Nutrition of Orchid Seedling. Amer. Orch. Soc. Bull. 39:599-605, 692 - 700.

๕. Davies, J.W., and E.C. Cocking. 1967. Protein Synthesis in Tomato Fruit Locule Tissue. Biochem. Jour. 104: 23 - 33.

๖. Ernst et al. 1971. Carbohydrate Physiology of Orchid Seedling II Hydrolysis and Effects of Oligosacharides Amer. Jour. Bot. 58: 827-839.

๗. Knudson, L. 1925. Physiological Study of the Symbiotic Germination of Orchid Seeds. Proc. Intnl. Cong. Pl. Sci. 2:1183 - 1189.

๘. Knudson, L. 1922. Nonsymbiotic Germination of Orchid Seed. Prot. Gaz. 73:1 - 125.

๙. Knudson, L. 1941. Germination of Seed of Goodyera Pubescens. Amer. Orch. Soc. Bull. 10: 199 -201

๑๐. Lethan, D.S. 1969. Cytokenesis and Their Relation to Other Phytohormones. Bio. Sci., 19(4): 309 -315.

๑๑. Miller, C.O. et al. 1955. Kinetin, a Cell Division Factor From Deoxyribonucleic Acid. J. Am. Chem. Soc. 77:1392.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๒๒. Moore, T.C., and A.S. Coralic. 1968. Synthesis of Indole Acetic Acid From Tryptophan via Indolebutyric Acid in Cell Free Extracts of Pea Seedlings. Arch. Biochem. Biophys.127: 613 - 621.

๒๓. Nitsch, Colette and J.P. Nitsch. 1967. The Induction of Flowering in Vitro in Stem Segments of Plumbugo indica L., Planta., 72:355-370.

๒๔. Okazawa et al. 1967. Effect of Auxin and Kinetin On the Development and Differentiation of Potato Tissue-Culture. in Vitro. Physiol. Plantarum.

๒๕. Overbeek, J.V. et al. 1941. Factors in Coconut Milk Essential for Growth and Development of Very Young Datura Embryos. Science,94:350-351.

๒๖. Roland, L.G. 1929. Non-Symbiotic Germination of Orchid. Amr. Mo. Bot. Gard. 16:499-514.

๒๗. Shiso, M. and K. Sawa. 1963. Sterile Seed Germination in Cymbidium. Japan Orch. Soc. Bull. 9(1) : 1 - 5.

๒๘. Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical Regulation of Growth and Formation in Plant Tissue Culture in Vitro. Symp. Soc. Exp. Biol., Univ. Press, Cambridge, 11:118 -131.

๒๙. Thomale, H. 1954. Die Orchideen. Eugen Ulmer. Stuttgart. 189 pp.

๓๐. Withmer, C.L. 1942. Nutrition Experiment With Orchid Seedling. Amer. Orch. Soc. Bull.11: 112 - 114.

๓๑. Wynd, F.L. 1933. The Sensitivity of Orchid Seedling to Nutritional. Amr. Mo. Bot. Gard.20:223-237.

๓๒. Wilmar, C. and M. Hellendoorn. 1968. Growth and Morphogenesis of Asparagus Cells Cultivated in Vitro. Nature, 217: 269-270.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๒๓. Yates, C.R. & J.T. Curtis. 1949. The Effect of Sucrose and Other Factors on The Shoot-Root Ratio of Orchid Seedling. Amer. J. Bot. 36: 819 - 821.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ ๑ สูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962)

ชื่อสารเคมี	สูตร	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร ๑ ลิตร (mg.)
แอมโมเนียมไนเตรท	NH_4NO_3	1650
โปตัสเซียมไนเตรท	KNO_3	1900
แคลเซียมคลอไรด์	$CaCl_2.2H_2O$	440
แมกนีเซียมซัลเฟต	$MgSO_4.7H_2O$	370
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	KH_2PO_4	170
บอริค แอซิด	H_3BO_3	6.2
แมงกานิสซัลเฟต	$MnSO_4.H_2O$	6.9
ซิงค์ซัลเฟต	$ZnSO_4.H_2O$	6.14
โปตัสเซียมไอโอไดด์	KI	0.83
โซเดียมโมลิบเดต	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
คอปเปอร์ซัลเฟต	$CuSO_4.5H_2O$	0.025
โคบอลท์คลอไรด์	$CoCl_2.6H_2O$	0.025
โซเดียมเอทธีลีนไดอามีน เตตราอาซีเตต	Na_2 EDTA	37.25
เฟอรัสซัลเฟต	$FeSO_4.7H_2O$	27.85
ไกลซีน	Glycine	2
นิโคตินิค แอซิด	Nicotinic acid	0.5
ไพรีดอคซีนไฮโดรคลอริคแอซิด	Pyridoxin - HCl	0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไทอามีนไฮโดรคลอริคแอซิด	Thiamine-HCl	0.1
ไบโอ-อินโนซิทอล	Myo - inosital	100
โฟลิค แอซิด	Folic acid	0.5
ไบโอติน	Biotin	0.05

(pH 5.6)
agar 8 gm/lit.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ๒ วิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนต้นที่ได้จากการเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้ พันธุ์ Dandrobium Jacquelyn Thomas ที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑ ,๒, ๓, ๔, และ ๕ ppm. เปรียบเทียบกับไม่ใส่ไคเนติค โดยมีซูโครสคงที่ ที่ ๒๐ กรัม/ลิตร

Source of kinetin	df	SS	Ms	F-ratio
kinetin (tr)	5	484.83	96.97	56.38**
Error	18	31.	1.72	
Total	23	515.83		

F .05 = 2.77, F.01 = 4.25

Duncan's new multiple - range test

Concentration of kinetin (ppm.)	1	2	3	4	5
Mean	24.75	19.25	19	17	9.75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ๓ วิเคราะห์ผลทางสถิติ ของจำนวนรากที่ได้จากการเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas ที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑, ๒, ๓, ๔, และ ๕ ppm. เปรียบเทียบกับไม่ใส่ไคเนติน โดยมีซูโครสคงที่ ที่ ๒๐ กรัม/ลิตร

Source of kinetin	df	SS	Ms	F-ratio
kinetin (tr)	5	1053.83	210.77	148.43**
Error	18	25.5	1.42	
Total	23	1079.33		

F .05 = 2.77, F .01 = 4.25

Duncan's new multiple - range test

Concentration of kinetin (ppm.)	4	3	2	1	5
Mean	23	13	7.75	5.25	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ๔ วิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนต้นที่ได้จากการเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas ที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑, ๒, ๓, ๔ และ ๕ ppm. เปรียบเทียบกับไม่ใส่ไคเนตินโดยมีซูโครสคงที่ที่ ๓๐ กรัม/ลิตร

Source of kinetin	df	ss	Ms	f-ratio
				(NS)
kinetin(tr)	5	24.71	4.94	0.65
Error	18	137.25	7.63	
Total	23	161.96		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ๕ วิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนรากที่ได้จากการเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas ที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑, ๒, ๓, ๔, และ ๕ ppm. เปรียบเทียบกับไม่ใส่ไคเนติน โดยมีซูโครสคงที่ ที่ ๓๐ กรัม/ลิตร

Source of kinetin	df	SS	Ms	F-ratio
kinetin (tr)	5	2464	492.8	86.61**
Error	18	102.5	5.69	
Total	23	2566.5		

F .05 = 2.77, F .01 = 4.25

Duncan's new multiple - range test

Concentration of kinetin (ppm.)	5	4	3	2	1
Mean	39	22.75	19.35	15	12.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ๖ วิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนต้นที่ได้จากการเลี้ยงโปรโตคอร์มของกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas ที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑, ๒, ๓, ๔, และ ๕ ppm. เปรียบเทียบกับไม่ใส่ไคเนติน โดยมีซูโครสคงที่ ที่ ๔๐ กรัม/ลิตร

Source of kinetin	df	SS	Ms	F-ratio
Kinetin (tr)	5	124.21	24.84	2.31 (N.S.)
Error	18	193.75	10.76	
Total	23	317.96		

F .05 = 2.77 , F .01 = 4.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ๗ วิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนรากที่ได้จากการเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium Jacquelyn Thomas ที่ระดับความเข้มข้นไคเนติน ๑, ๒, ๓, ๔ และ ๕ ppm. เปรียบเทียบกับไม่ใส่ไคเนติน โดยมีซูโครสคงที่ ที่ ๔๐ กรัม/ลิตร

Source of kinetin	df	SS	Ms	F-ratio
Kinetin (tr)	5	8129.21	162.84	21.71**
Error	18	1347.75	74.88	
Total	23	9476.96		

F .05 = 2.77, F .01 = 4.25

Duncan's new multiple range test

Concentration of kinetin (ppm.)	5	4	3	2	1
Mean	64.75	39	24.75	16.75	15.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้