



1-3796

บัญชาทิ ศษประญาตรี

ภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนต้นและการชักนำให้เกิดราก

ของต้นเยอบีราโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

STUDIES ON ARTIFICIAL MEDEA FOR PROPAGATION AND INDUCTION ROOTED
OF GERBERA BY IN VITRO

โดย

นางสาวผจงนิจ จรุงคลังฤทธิ์

นางสาวสิวลัย สุเภากิจ

อาจารย์วิชัย ลีมาญจนพงศ์

ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

(ผศ.ดร.อารมย์ ศรีพิจิตร)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

A		T100408
U		
C		

สาขา.....

เลขทะเบียน **100408**

วันเดือนปี **18 JUN 2009**

รพ.

๗142๗

๒533

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สารบัญ

	หน้า
สารบัญภาพ	(1)
สารบัญกราฟ	(2)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจ เอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	10
ผลและวิจารณ์	17
สรุป	52
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก	57



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
	<u>เยอบีร่าพันธุ์ Bahama :</u>	
1	แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยการเทอาหารเหลวได้ 1 เดือน (IAA 5 ppm.)	38
2	แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยการเทอาหารเหลวได้ 1 เดือน (IBA 2 ppm.)	39
3	แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยเลี้ยงบนอาหารแข็ง 6 สัปดาห์ (IAA 5 ppm.)	40
4	แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยเลี้ยงบนอาหารแข็ง 6 สัปดาห์ (IBA 2 ppm.)	41
	<u>เยอบีร่าพันธุ์ Dwarf Happie Pot :</u>	
5	แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยเลี้ยงบนอาหารแข็ง 6 สัปดาห์ (IAA 5 ppm.)	42
6	แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยเลี้ยงบนอาหารแข็ง 5 สัปดาห์ (IBA 2 ppm.)	43

สารบัญกราฟ

กราฟที่		หน้า
	<u>เยอบีราพันธุ์ Bahama :</u>	
1	แสดงการเจริญเติบโตของรากโดยการเทอาหารเหลว สูตร MS + IAA 5 ppm.	44
2	แสดงการเจริญเติบโตของรากโดยการเทอาหารเหลว สูตร MS + IBA 2 ppm.	45
3	แสดงการเจริญเติบโตของรากโดยการเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS + IAA 5 ppm.	46
4	แสดงการเจริญเติบโตของรากโดยการเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS + IBA 2 ppm.	47
	<u>เยอบีราพันธุ์ Dwarf Happic Pot :</u>	
5	แสดงการเจริญเติบโตของรากโดยการเทอาหารเหลว สูตร MS + IAA 5 ppm.	48
6	แสดงการเจริญเติบโตของรากโดยการเทอาหารเหลว สูตร MS + IBA 2 ppm.	49
7	แสดงการเจริญเติบโตของรากโดยการเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS + IAA 5 ppm.	50
8	แสดงการเจริญเติบโตของรากโดยการเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS + IBA 2 ppm.	51

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์วิรัช ลิ้มกาญจนพงศ์ ประธานกรรมการ
อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือไขปัญหา อุปสรรคต่างๆ และช่วยจัดหาอุปกรณ์
ที่จำเป็นในการศึกษา ตลอดจนตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษเล่มนี้จนสำเร็จเรียบร้อยไปด้วยดี ขอ
ขอบคุณที่อาจารย์ ลิ้มกาญจนพงศ์ ที่กรุณาช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษและขอขอบคุณเจ้า
หน้าที่ห้องโสตทัศนูปกรณ์ ที่ได้เอื้อเฟื้อช่วยถ่ายภาพให้ รวมทั้งเพื่อนๆ น้องๆ ที่มีส่วนช่วย
เหลือในการทำปัญหาพิเศษ ของข้าพเจ้าให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่เป็นกำลังใจและให้ทุน
ทรัพย์ในการศึกษาเป็นอย่างดีและข้าพเจ้าขอขอบคุณภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่ง
เป็นสถานที่ศึกษา และมีส่วนช่วยให้ปัญหาพิเศษ ของข้าพเจ้าสำเร็จเรียบร้อยไปด้วยดี

นางสาวผจงนิช จตุรงค์สัมฤทธิ์

นางสาวสิวลัย สุเภากิจ

มีนาคม 2533

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นเยอบีรา (*Gerbera jamesonii*) พันธุ์ Bahama และพันธุ์ Dwaf Hattie Pot จากสภาพ Clean culture โดยเลี้ยงบนอาหารสูตรของ Murashige and Skoog (MS) ที่เติม cytokinins คือ BA (6-benzylaminopurine) และ KI (6-furfuryl amino purine) ปรากฏว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นคือสูตร MS + BA 5 ppm. หรือสูตร MS + KI 5 ppm. ซึ่งทำให้ได้ขนาดต้นที่เหมาะสมต่อการ subculture เพื่อเพิ่มจำนวนต้น ถ้านำต้นเยอบีรา มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + BA 1 ppm. หรือสูตร MS + KI 1 ppm. จะได้ต้นเยอบีราที่มีขนาดใหญ่ แข็งแรง เหมาะที่จะย้ายออกปลูกและเจริญเติบโตได้ดีกว่า

เยอบีราพันธุ์ Bahama ควรจะเลือกใช้ฮอร์โมน BA ดีกว่า KI ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน เพราะจะให้จำนวนต้นเฉลี่ยได้มากกว่า ส่วนเยอบีราพันธุ์ Dwaf Hattie Pot ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันของฮอร์โมนทั้งสองชนิด การเลือกใช้ฮอร์โมนตัวใด จะให้ผลไม่แตกต่างกันมาก

การศึกษาริธีการและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ต้นเยอบีราเกิดราก โดยเปรียบเทียบการเทอาหารเหลวลงบนอาหารแข็ง และการเลี้ยงบนอาหารแข็ง และสูตรอาหารที่ใช้คือ MS + IAA (Indole-3-acetic acid) 5 ppm. และสูตร MS + IBA (Indole-3-butyric acid) 2 ppm. พบว่ารากของเยอบีราพันธุ์ Bahama สามารถเจริญได้ดีในอาหารทั้ง 2 สูตร ส่วนรากของเยอบีราพันธุ์ Dwaf Hattie Pot จะเจริญได้ดีในอาหารสูตร MS + IAA 5 ppm. จากการเปรียบเทียบวิธีการชักนำให้เกิดราก พบว่า ทั้ง 2 วิธี จะเกิดรากได้ในระยะเวลาใกล้เคียงกัน รากของเยอบีราที่เลี้ยงบนอาหารแข็งจะมีลักษณะอวบใหญ่ และแข็งแรงกว่า แต่เมื่อคำนึงถึงประโยชน์ทางเศรษฐกิจนั้น วิธีการเทอาหารเหลวลงบนอาหารแข็ง จะประหยัดค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหาร ค่าแรงงาน และเวลาได้มาก

คำนำ

เยอบีรา เป็นไม้ดอกชนิดหนึ่งที่มีความสวยงาม มีสีสันระยิบระยับ เช่น ดอก สีขาว สีเหลือง สีส้ม สีแดงและบางชนิด ก็มีสองสีในดอกเดียวกัน มีความคงทนในการใช้งาน ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการจัดกระเช้าดอกไม้ บั๊กแจกัน สำหรับใช้ในโอกาสต่างๆ เช่น วันขึ้นปีใหม่ วันรับปริญญา และแสดงความยินดีในโอกาสอื่นๆ ในปัจจุบัน เยอบีราพันธุ์ยุโรปนับว่า เป็นไม้ดอกที่มีความสำคัญ และเป็นที่ยอมรับมากขึ้น เช่นเดียวกับคาร์เนชั่น เบญจมาศ และกุหลาบ ฯลฯ เมื่อเปรียบเทียบกับไม้ดอกชนิดอื่น เยอบีราเป็นไม้ดอกที่ปลูกง่ายทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ มีดอกดก และสามารถออกดอกได้ตลอดทั้งปี ซึ่งต่างจาก เบญจมาศที่เป็นพืชวันสั้นและจะได้ผลดีเมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำ ดังนั้นจึงควรมีการส่งเสริมการปลูกเยอบีราให้เพิ่มมากขึ้น เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ในการขยายพันธุ์โดยปกติแล้วจะใช้การเพาะเมล็ด และการแยกหน่อ ซึ่งได้ผลไม่แน่นอน ได้ต้นน้อย และใช้เวลานาน ดังนั้นการนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture) มาเพิ่มจำนวนต้นเพื่อขยายพันธุ์ จึงเป็นสิ่งสำคัญเพราะจะทำให้ได้ต้นจำนวนมาก ในเวลาอันสั้นรวดเร็ว และได้ลักษณะพันธุ์เหมือนเดิม จึงได้มีการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนต้นของ เยอบีรา

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประกอบด้วย 4 ขั้นตอน คือ

1. การลอกฆ่าเชื้อ
2. การเพิ่มจำนวนต้น
3. การชักนำการเกิดราก
4. การย้ายออกปลูก

ก่อนที่จะย้ายต้น เยอบีรา ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อนำออกปลูก จะต้องมีการชักนำให้เกิดราก เสียก่อน ซึ่งขั้นตอนในการย้ายต้นลงสู่อาหารใหม่ เพื่อชักนำการเกิดราก จะสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหารและแรงงานที่มีความชำนาญ ถ้าสามารถลดขั้นตอนนี้ลงได้จะช่วยลดต้นทุนการผลิตลง ในต่างประเทศได้มีการศึกษาทดลองการชักนำการเกิดรากของ เยอบีรา โดยการเหออาหารเหลวที่เดิมออกชินลงบนอาหารแข็ง ที่มีต้น เยอบีราอยู่ เพื่อกระตุ้นให้เกิดรากโดยไม่ต้องย้ายต้นลงบนอาหารใหม่ ดังนั้นการนำ

เทคนิคนี้มาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในประเทศไทย นับว่าเป็นประโยชน์ทั้งด้านการ
วิจัยและการผลิตเพื่อเป็นการค้า



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเยื่อปิวรา เพื่อเพิ่มจำนวนต้น
2. ศึกษาถึงวิธีการและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture) หมายถึงเทคนิคการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะพืช เนื้อเยื่อ เซล หรือ เซลล์ที่ไม่มีผนัง ที่เรียกว่า โปรโตพลาส (Protoplast) มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ที่ประกอบด้วยเกลือแร่ธาตุ น้ำตาล และวิตามิน ในสภาพปลอดเชื้อรา แมคทีเรีย และสาหร่ายในสภาพแวดล้อมที่ควบคุม ได้แก่อุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง (อรดี, 2522) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่า การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ การนำเอาเนื้อเยื่อ หรือกลุ่มเซลล์จากต้นพืชมาเลี้ยงในหลอดแก้ว หรือในขวดแก้วโดยมีอาหารที่ประกอบด้วยโภชนาการ แร่ธาตุที่จำเป็น และฮอร์โมนบางชนิดรวมทั้งให้แสงสว่าง และอุณหภูมิที่เหมาะสม ขึ้นเนื้อเยื่อหรือกลุ่มเซลล์นั้น ก็จะมีการเจริญเติบโต ขึ้นมาเป็นต้นพืช ที่มีราก ลำต้น และใบครบเหมือนต้นไม้ปกติได้ เนื้อเยื่อหรือกลุ่มเซลล์ที่นำมาเลี้ยงนี้ จำเป็นจะต้องมีคุณสมบัติที่จะเจริญเติบโตเพิ่มขนาดขึ้นได้ ดังนั้นจึงต้องใช้เนื้อเยื่อเจริญ จากบริเวณปลายยอดอ่อนหรืออาจใช้เนื้อเยื่อถาวรประเภทที่สามารถ เปลี่ยนเป็นเนื้อเยื่อเจริญได้ (อุทัย, 2508)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้มีการศึกษาค้นคว้ากันครั้งแรกตั้งแต่ปี ค.ศ. 1902 โดยชาวเยอรมันชื่อ Haberlandt เขาพยายามเอาเซลล์จากใบของพืชมาเลี้ยงโดยหวังว่า เซลล์เพียงเซลล์เดียวจะสามารถแบ่งตัวและสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นพืชใหม่ได้ แต่ทำไม่สำเร็จ เนื่องจากเซลล์ของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เพาะเลี้ยงยาก และในสมัยนั้น ยังไม่มีการค้นพบ หรือรู้จักเกี่ยวกับการใช้ฮอร์โมนพืช (บุญยืน, 2528) ซึ่งการทดลองค้นคว้าส่วนใหญ่ในระยะแรกๆ นั้น ความสำเร็จจำกัได้อยู่เพียงสามารถทำให้เนื้อเยื่อพืช มีชีวิตรอดอยู่ในอาหารเทียมได้ จนกระทั่งปี ค.ศ. 1934 White ได้พยายามศึกษาถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตามแนวทางของ Robbins and Kotte โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายรากมะเขือเทศ (tomato root) ด้วยอาหารที่เติมเกลือแร่ Yeast extract และน้ำตาลที่สกัดจากอ้อย ซึ่งประกอบด้วยสารที่สำคัญ คือ วิตามินบี โดยเฉพาะ thiamine (White, 1937) ปรากฏว่าชิ้นส่วนของราก มีการเจริญเติบโตดี หลังจากที่ White ได้ผสมอาหารใหม่ที่สมบูรณ์ที่สุด และเหมาะสมที่จะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มากที่สุดในสมัยนั้น ซึ่งให้ชื่อว่า "White's medium" ความสำเร็จในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้ขยายกว้างขวางขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กล่าวคือ เนื้อเยื่อสามารถมีชีวิตรอดมีการเจริญต่อไป และสามารถพัฒนาเป็นต้น และ/หรือ รากใหม่ได้ การค้นคว้าทางด้านธาตุอาหาร ขึ้น เป็นองค์ประกอบและปัจจัยสำคัญ ได้มีการ ปรับปรุงขึ้นเรื่อยๆ ตามวิวัฒนาการ

Sharp and Larsen (1977) ได้อ้างถึงว่าในปี ค.ศ. 1939 Guatheret ได้ศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ชิ้นส่วนเล็กๆ ของหัวแครอท ที่เลี้ยงในอาหารประกอบด้วย สารประกอบอนินทรีย์ น้ำตาลกลูโคส ไวตามินซี 1 (thiamine); crystein hydrochloride และ IAA ได้สำเร็จ และในปี 1938 ได้มีชาวฝรั่งเศส 2 ท่าน คือ Nobercourt และ Guatheret กับ White ชาวอเมริกัน ต่างก็รายงานพร้อมกันว่า สามารถเลี้ยงเนื้อเยื่อของแคลลัส (Callus) ในอาหาร (media) ที่สังเคราะห์ขึ้นได้อย่างไม่จำกัด ตั้งแต่นั้น เป็นต้นมาเทคนิคทางการเลี้ยงเนื้อเยื่อและส่วนต่างๆของพืช (organ culture) ได้นำมาใช้ทางการวิจัยในห้องปฏิบัติการอย่างกว้างขวาง (White, 1963 ; White and Grove, 1965) ต่อมาในปี ค.ศ. 1953 Skoog and Miller ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ pith ของยาสูบโดยใช้ kinetin กระตุ้นให้เกิดการสร้างตา นอกจากสูตรอาหารที่เป็นปัจจัยสำคัญ ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้สำเร็จแล้วในปี 1957 Skoog และ Miller ได้พบว่า การพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นต้นหรือราก ขึ้นอยู่กับความสมดุลของฮอร์โมน 2 กลุ่ม คือออกซิน (Auxins) และไซโตไคนิน (Cytokinins) โดยพบว่า หากอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสูงกว่าอัตราสมดุลแล้ว เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นแคลลัส (Callus) และราก แต่ในทางตรงข้ามถ้าอัตราของออกซิน และไซโตไคนินต่ำกว่าอัตราสมดุล เนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นยอด ถ้าอัตราของสาร 2 กลุ่มนี้สมดุลเนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นยอดและราก จากการทดลองค้นคว้าเรื่องฮอร์โมนนี้ ทำให้ความสำเร็จของการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แผ่กระจายกว้างขวางยิ่งขึ้นทุกที (ไพบูลย์, 2524)

เยอบีรา (Gerbera)

เยอบีราเป็นพันธุ์ไม้ตระกูลเบญจมาศ ดาวกระจาย ทานตะวัน คืออยู่ใน Family Compositae ซึ่งมีประมาณ 40 species เยอบีราพันธุ์ไม้ดอกที่มีกำเนิดใน Transvaal ในอัฟริกาใต้ จึงให้ชื่ออีกชื่อหนึ่งว่า Transvaal Daisy และก็มีอีกชื่อหนึ่งว่า เรียกกันว่า Barberton Daisy แต่ที่ได้ชื่อว่า Gerbera นั้นเนื่องมาจากนักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อ Traugott Gerbera เป็นผู้ค้นพบพันธุ์ไม้ดอกชนิดนี้ในรัสเซีย และได้นำมาเผยแพร่ต่อไป

เยอบีร่าที่นิยมมากและรู้จักแพร่หลายมีไม่กี่ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมีลักษณะการเจริญเติบโต ต้น ดอก สีดอก รูปร่างและลักษณะแต่ละชนิดต่างๆ กันไป เช่น

Gerbera jamesonii กอสูง 12 นิ้ว ดอกสีเหลืองเข้ม ออกดอกในฤดูร้อน

Gerbera veridifolia ดอกสีเหลืองและขาว

Gerbera aurantitaca ดอกสีแดง

ลักษณะรากของเยอบีร่า มีรูปร่างกลมยาว สีขาวปนน้ำตาลแก่ ไม่มีรากแก้วตรงปลายรากแก้ว ตรงปลายรากอ่อนมีลักษณะแหลมและสีขาว เพื่อไซ้ซอนไปในดินได้อย่างดี เนื่องจากเยอบีร่า มีรากมากจึงหาอาหารได้เก่งและสามารถเลี้ยงต้นให้ผลิดอกได้ตลอดปี (ปิฎกษ. 2519)

สมเพียร (2526) รายงานว่าเยอบีร่า จำแนกเป็นประเภทต่างๆได้ 3 ประเภท

1. American strain มีลักษณะกลีบดอกย่อยชั้นนอกเรียง-ยาว (long narrow) แต่ขณะนี้มีการพัฒนาการทางด้านผสมพันธุ์ก้าวหน้าไปมาก ทำให้ได้เยอบีร่าพันธุ์ใหม่ มีทั้งดอกชั้นเดียวถึงซ้อนและดอกซ้อน (single, semi-double) มีสีสันสดใสกว่าเดิม แต่ยังคงเอกลักษณ์อันเดิม คือ "long - narrow petals" ไว้

2. European strain เป็นเยอบีร่าแบบ single flower แต่ผิดไปจาก American strain อย่างเห็นได้ชัด คือ กลีบดอกกว้างและช่องตรงกลางนิดๆ (wider and shorter) กลีบดอกหนากว่า (more substance) ก้านดอกใหญ่ยาว และแข็งแรง

3. Thai strain ใบเหมือนเยอบีร่าของอเมริกันและยุโรปเลย ดอกจะซ้อนหนามาก ซึ่งจัดเป็น doubleflower กลีบดอกของดอกย่อยชั้นนอกไม่เรียงและโปร่ง จะมีลักษณะอยู่กึ่งกลางระหว่าง American และ European Strain แต่มีกลีบดอกหลายชั้นซ้อนกันอย่างมีระเบียบ ส่วนดอกย่อยชั้นในจะกอดกันอยู่ตรงใจกลางดอกและยาวลดหล่นออกมาได้จังหวะและสัมพันธ์กับดอกย่อยชั้นนอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในต่างประเทศได้มีการทดลองขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกันอย่างกว้างขวาง ในปี ค.ศ. 1973 Pierik Steegman and Marelis ได้ทำการขยายพันธุ์เยอบีร่าด้วยฐานรองดอก (receptacle) ที่ติดอยู่บนก้าน (scape) ขนาด 2.5 เซนติเมตร ซึ่งรวมเรียกว่า capitulum explant ฐานรองดอกที่ใช่ เป็นฐานรองดอกที่บานเต็มที่แล้วใช้ปากคีบดึงกลับดอก (florets) ออกให้หมด ทำความสะอาดโดยจุ่มใน ethanol 70% 2-3 วินาที แล้วแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 1% นาน 60 วินาที แบ่งฐานรองดอกเป็น 4 ส่วน (segment) นำแต่ละชิ้นเลี้ยงบนอาหารสูตร Hellers ที่เติม IAA 10^{-6} gm/ลิตร และ 6-benzyl aminopurine (BA) วาง culture ในที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสในระยะแรกเพื่อทำให้เกิดแคลลัส แล้วย้ายไปวางไว้ภายใต้แสง fluorescent lamp ขนาด TL 40 w/55 ตลอด 24 ชั่วโมง/วัน หลังจากนั้น 3 สัปดาห์จะมียอดเกิดขึ้น

ในปี พ.ศ. 1974 Murashige, Serpa and Jone ได้ใช้ส่วนยอด (shoot tip) ของเยอบีร่าขนาด 0.5-1 เซนติเมตร มาทำความสะอาดแล้วนำไปเลี้ยงในสูตรอาหารของ Murashige และ Skoog (pH 5.7) ซึ่งมีอัตราส่วนของ IAA และ kinetin ต่างๆกัน พบว่าการเพิ่มปริมาณการแบ่งเซลล์จะเกิดขึ้นมากเมื่อเติม IAA 0.5 ppm. และ kinetin 10 ppm. หลังจากนั้นย้ายต้นกล้าที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารสูตร Murashige & Skoog เติม IAA 10 ppm. ไม่เติม kinetin เพื่อให้ต้นที่เกิดใหม่ ออกรากก่อนย้ายปลูกลงดิน การย้ายปลูกลงดินโดยไม่กระตุ้นให้เกิดรากก่อนอาจตายได้ แม้ว่า จะช่วยโดยการจุ่ม IAA, IBA หรือ NAA เพื่อเร่งรากก็ตาม (สมเพียร, 2526)

อุบลพงษ์ (2518) ได้ทดลองขยายพันธุ์เยอบีร่า "Thai Strain" จากส่วนต่างๆ คือ ช่อดอก ดอกย่อยฐานรองดอก ก้านช่อดอก ยอด ต้น และราก ในอาหารเหลว 4 สูตร คือ Heller, Vacin and Went, Murashige and Skoog และ White (high salts) ผลปรากฏว่า ในอาหารสูตร Vacin and Went ให้ผลดีที่สุดต่อการเจริญของ แคลลัส

Pierik และคณะ (1982) ทดลองเลี้ยงฐานรากดอกของเยอบีรา 28 พันธุ์ ในอาหารสูตร Murashige and Skoog ที่เติม BA ในระดับต่างๆ ดังนี้ คือ 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร Murashige and Skoog ที่เติม BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้เกิดต้นได้ดีที่สุด จะได้ 1-2 ยอด ต่อหนึ่งชิ้นส่วน และสามารถกระตุ้นให้แตกตาข้าง (axillary bud) ได้โดยเติม kinetin 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร Murashige and Skoog ดัดแปลง (Modifier Murashige and Skoog, 1974)

สายสมร (2527) ศึกษาอัตราการงอกของเมล็ดและการเพิ่มปริมาณ ต้นเยอบีราสายพันธุ์ต่างๆ ในอาหารสูตร MMS ซึ่งมี IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองปรากฏว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวนหน่อต่อเดือนที่สูงที่สุด คือ จำนวนหน่อเฉลี่ย 3.75 หน่อต่อต้น

รณรงค์ (2528) ทดลองชักนำให้เยอบีรากลายเป็นพันธุ์ในหลอดทดลอง จากการเพาะเมล็ดเยอบีรา สายพันธุ์ยุโรปในอาหารสูตร MS และ MMS ที่เติม kinetin 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายในเวลา 1 เดือน ต้นจะแตกหน่อเพิ่มจำนวนต้นได้ถึง 6 ต้น เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ออกรากสามารถนำออกปลูกได้

เนื่องจากในปัจจุบันนี้ได้มีการขยายพันธุ์เยอบีรา โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กันเป็นจำนวนมาก เพื่อเป็นประโยชน์ในทางเศรษฐกิจและการประหยัดเวลา ก็ได้มีการทดลองคิดค้นวิธีการต่างๆ ขึ้น เพื่อที่จะนำไปใช้ในทางการค้า โดยที่ Debergh (1986) กล่าวว่า ต้นทุนที่สำคัญ ในการขยายพันธุ์ โดยวิธี Tissue culture คือ ค่าจ้างแรงงาน โดยเฉพาะในช่วงที่พืชกำลังเจริญเติบโต คือช่วงที่ยอดและรากยึดตัว เราสามารถประหยัดค่าแรงงานได้โดยการเติมอาหารเหลวลงในอาหารเติม Maene และ Derberg (1986) พบว่า การเติมอาหารเหลวลงในระยะหลังของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะสามารถทำให้ พืชเกิดการยึดตัว, ออกรากได้ง่ายกว่า และให้ผลดีกว่าด้วย

ฮอร์โมนพืช (Plant hormones)

เป็นสารประกอบอินทรีย์ ที่พืชสร้างได้เองตามธรรมชาติ สารนี้พืชจะสร้างเพียงปริมาณเล็กน้อย ในปัจจุบันนี้ นักวิทยาศาสตร์สามารถสังเคราะห์สารอินทรีย์ ที่มีคุณสมบัติการทำงานเหมือนฮอร์โมน เราเรียกสารสังเคราะห์นี้ว่า "สารควบคุมการเจริญ" (plant growth regulators) ซึ่งเราสามารถนำสารควบคุมการเจริญเติบโต นี้มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมผลผลิตทางการเกษตรได้มากมาย เช่น การขยายพันธุ์ การเกิดราก เป็นต้น

ปัจจุบันพบว่า ฮอร์โมนพืช มี 5 กลุ่ม ได้แก่

1. ออกซิน (Auxins)
2. จิบเบอเรลลิน (Gibberellins)
3. ไซโตไคนิน (Cytokinins)
4. ฮอร์โมนยับยั้งการเจริญ (Growth inhibitors)
5. เอทิลีน (Ethylene)

ซึ่งฮอร์โมนใน 3 กลุ่มแรกมีผลในแง่การส่งเสริมการเจริญเติบโต (growth promotor) ฮอร์โมนในกลุ่มที่ 4 จะทำงานมีผลตรงกันข้ามกับ 3 กลุ่มแรก ส่วนฮอร์โมนในกลุ่มที่ 5 นั้น จะมีผลทางด้านสรีรวิทยาของพืชหลายๆขบวนการ (จินดา, 2524)

การทดลองเกี่ยวกับฮอร์โมนพืช ได้มีการศึกษาค้นคว้า กันเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน ดังเช่น

การทดลองของ Went 1928 ซึ่งเป็นครั้งแรกที่เขาสกัดสารใน Tip ทำให้มีผลต่อ cell elongation ของเซลล์ในส่วนยอดของ coleoptile ซึ่งเป็นที่มาของการค้นพบ auxin IAA

จากการทดลองในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Tissue Culture) ในหลอดทดลอง (*In vitro*) พบว่าเนื้อเยื่อที่เป็นกลุ่มของ parenchyma cell ล้วน ๆ สามารถถูกชักนำให้เกิดการเจริญเปลี่ยนแปลงไป เป็นรากหรือหน่อ หรือทั้ง 2 อย่างได้ โดยขึ้นอยู่กับสัดส่วน (proportion) ของฮอร์โมน auxins: cytokinins ใน

medium (จินดา, 2524)

จากการทดลองในการใช้ฮอร์โมนควบคุมการเกิด organ นี้ ผลงานนี้เป็นจุด เริ่มบุกเบิกการทดลองหาความสมดุลย์และสัดส่วนของฮอร์โมนที่เหมาะสมในการควบคุม การเกิดหน่อ-ราก ในพืชเศรษฐกิจหลาย ๆชนิด เพื่อประยุกต์ใช้ในแง่การขยายพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะอุตสาหกรรมการผลิตและขยายพันธุ์ต้นกล้วยไม้ ทำให้นักขยายพันธุ์พืชสามารถขยายพันธุ์พืชที่การขยายพันธุ์ทาง Vegetative เป็นไปได้ยากและช้า ให้ขยายพันธุ์ได้ เป็นจำนวนมาก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง คือ ต้นเยอบีร่าที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ จำนวน 2 พันธุ์
 - 1.1 พันธุ์ Bahama ได้จากสถานีทดลองพืชสวนบางกอกน้อย
 - 1.2 พันธุ์ Dwaf Happie Pot ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อแล้วทำการขยายต้น

2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
 - 2.1 สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)
 - 2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่
 - Kinetin (6-furfurylamino purine)
 - BA (6-benzylamino purine)
 - IAA (Indole - 3 - acetic acid)
 - IBA (Indole - 3 - butyric acid)
 - 2.3 น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร
 - 2.4 น้ำกลั่น
 - 2.5 ปูนผง 6.4 กรัมต่อลิตร

3. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่ เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น
 - บีกเกอร์
 - กระจกดวง
 - บีเปิด
 - ขวดแก้วสำหรับใส่อาหารพร้อมฝาปิด
 - เครื่องชั่งหยาบ และ เครื่องชั่งละเอียด
 - เครื่องวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH meter)
 - หม้อนึ่งความดัน (autoclave)

4. สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ ได้แก่ เอทิลแอลกอฮอล์

5. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนพืช ได้แก่

- ตู้ปลอดเชื้อ (Lamina flow)
- มีดผ่าตัด
- ปากคีบ
- ตะเกียงแก๊ส (Automatic Bunsen)
- จานแก้ว (petri - dish)
- ปิเปตใช้เทอาหารเหลว

6. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้แก่

- อุณหภูมิประมาณ 25-28 °
- ใช้แสงจากหลอด cool white ความเข้มแสง 3,000 lux, เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ซึ่งควบคุมการเปิดปิดไฟด้วยเครื่องตั้งเวลาอัตโนมัติ (Timer)

7. กล้องถ่ายรูปและอุปกรณ์

หมายเหตุ : MS/ รายละเอียดอาหารสูตร Murashige and Skoog แสดงในภาคผนวก

วิธีการทดลอง

การเพิ่มจำนวนต้นเยอบีรา เพื่อใช้ในการทดลอง

นำต้นเยอบีราแต่ละพันธุ์ที่ได้จาก clean culture มาเลี้ยงเพิ่มจำนวนในสภาพปลอดเชื้อด้วยอาหารสูตร MS + BA 5 ppm. เป็นเวลา 2 เดือน

การศึกษาผลฮอร์โมนไซโตไคนิน (Cytokinins) ต่อการเพิ่มจำนวนต้นเยอบีรา

1. นำต้นเยอบีราที่เพิ่มจำนวนไว้ มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS + Cytokinins ขวดละ

1 ต้น ทั้ง 4 สูตร ทำสูตรละ 24 ข้ว ดังนี้

- สูตรที่ 1 : MS + BA 1 ppm.
- สูตรที่ 2 : MS + BA 5 ppm.
- สูตรที่ 3 : MS + KI 1 ppm.
- สูตรที่ 4 : MS + KI 5 ppm.

หมายเหตุ : เนื่องจากต้นที่นำมาเลี้ยงมีขนาดไม่เท่ากันจึงได้แบ่งตัวต้นออกเป็นกลุ่มต่างๆ คือ

พันธุ์ Bahama แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 มีความสูงประมาณ 3.5-4.5 เซนติเมตร, จำนวนใบ 4-5 ใบ, ลำต้นเล็ก ใบเขียว ค่อนข้างแข็งแรง

กลุ่มที่ 2 มีความสูงประมาณ 4.6 - 5.5 เซนติเมตร, จำนวนใบ 4-6 ใบ, ลำต้นใหญ่ ใบเขียว แข็งแรง

กลุ่มที่ 3 มีความสูงประมาณ 5.6-6.5 เซนติเมตร, จำนวนใบ 4-6 ใบ, ลำต้นผอมสูงไม่ค่อยแข็งแรง

พันธุ์ Dwaf Happpie Pot แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 มีความสูงประมาณ 4.0-5.5 เซนติเมตร, จำนวนใบ 3-5 ใบ, ใบใหญ่ แข็งแรง

กลุ่มที่ 2 มีความสูงประมาณ 5.6-7.0 เซนติเมตร, จำนวนใบ 4-6 ใบ, ใบใหญ่ แข็งแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บันทึกผลการศึกษา ในพันธุ์ Bahama บันทึกผลหลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน

ในพันธุ์ Dwaft Happie Pot บันทึกผลหลังจากเลี้ยงได้ 1 เดือน

เกณฑ์การวัดผล แบ่งออกเป็น 3 เกรด คือ A, B และ C

เยอบีราพันธุ์ Bahama แบ่งเกรดออกดังนี้

เกรด A มีความสูงประมาณ 6-8 เซนติเมตร, จำนวน 4-6 ใบ, ลำต้นใหญ่ ใบเขียว แข็งแรง

เกรด B มีความสูงประมาณ 4-5.5 เซนติเมตร, จำนวนใบ 5-8 ใบ, ใบค่อนข้างเล็กสีเขียว

เกรด C มีความสูงประมาณ 3-4 เซนติเมตร, จำนวนใบ 5-10 ใบ, ใบเล็กสีเขียว มีใบอ่อนหลายใบ

เยอบีราพันธุ์ Dwaft Happie Pot แบ่งเกรดออกดังนี้

เกรด A มีความสูงประมาณ 5.0 เซนติเมตร, จำนวนใบ 3-4 ใบ, ใบใหญ่ สีเขียวเข้ม แข็งแรง

เกรด B มีความสูงประมาณ 3.5-4.0 เซนติเมตร, จำนวนใบ 5-6 ใบ, ใบเล็กๆหลายใบ แข็งแรง

เกรด C มีความสูงประมาณ 2.5-3.0 เซนติเมตร, จำนวนใบ 4-5 ใบ, ใบเล็กๆ สีเขียวเข้ม

2. ทำการ subculture ครั้งที่ 2 ลงบนอาหารสูตร MS + cytokinins ทั้ง 4 สูตร เหมือนกับการเพิ่มจำนวนต้นในครั้งที่ 1 โดยใช้ต้นเยอบีราที่ได้จากการทดลองครั้งแรก

- พันธุ์ Bahama ใช้ต้น เกรด A และ B
- พันธุ์ Dwaft Happie Pot ใช้ต้นเกรด A, B และ C

นำเยอบีราที่ได้จากการ subculture ครั้งที่ 2 เลี้ยงไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งมีสภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับครั้งแรกเป็นเวลา 1 เดือน ทั้ง 2 พันธุ์

การบันทึกผลการศึกษาใช้หลักเกณฑ์เหมือนกับการศึกษาครั้งแรก

การศึกษาสูตรอาหารและวิธีการที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากในเยอบีรา

1. การชักนำให้เกิดรากโดยเติมอาหารเหลว

1.1 เพาะเลี้ยงเยอบีราในสภาพปลอดเชื้อโดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS + cytokinins ทั้ง 4 สูตร เหมือนกับการเพิ่มจำนวนต้นในครั้งที่ 1

1.2 เตรียมอาหารเหลวสูตร MS + IAA 5 ppm.
และสูตร MS + IBA 2 ppm.

1.3 เทอาหารลงในขวดอาหารแข็งที่เลี้ยงเยอบีราไว้นาน 3 สัปดาห์ ขวดละ 3 CC. เพื่อทำการเปรียบเทียบผลของ IAA และ IBA โดยทำดังนี้
เลี้ยงเยอบีราในอาหารสูตร

- MS + BA 1 ppm.
- MS + BA 5 ppm.
- MS + KI 1 ppm.
- MS + KI 5 ppm.

เทอาหารเหลวสูตร MS + IAA 5 ppm.

เลี้ยงเยอบีราในอาหารสูตร

- MS + BA 1 ppm.
- MS + BA 5 ppm.
- MS + KI 1 ppm.
- MS + KI 5 ppm.

1.4 สังเกตการเจริญของรากทุกสัปดาห์ เมื่อมีรากยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร

เริ่มทำการบันทึกผลโดยให้คะแนนในช่วง 1-4 คะแนน

- 1 คะแนน รากจะมีความยาว 0.5-1.0 เซนติเมตร จำนวนรากประมาณ 1-2 เส้น
- 2 คะแนน รากจะมีความยาว 1.0-1.5 เซนติเมตร จำนวนรากประมาณ 2-4 เส้น
- 3 คะแนน รากจะมีความยาว 1.5-2.5 เซนติเมตร จำนวนรากประมาณ 4-5 เส้น
- 4 คะแนน รากมีความยาวมากกว่า 2.5 เซนติเมตร จำนวนรากมากกว่า 5 เส้น

และ เป็นกระจุก

2. การชักนำให้เกิดรากในอาหารแข็ง

2.1 เตรียมอาหารแข็ง 8 สูตร สำหรับ เลี้ยงเยอบีรา

- MS + BA 1 ppm. + IAA 5 ppm.
- MS + BA 5 ppm. + IAA 5 ppm.
- MS + KI 1 ppm. + IAA 5 ppm.
- MS + KI 5 ppm. + IAA 5 ppm.
- MS + BA 1 ppm. + IBA 2 ppm.
- MS + BA 5 ppm. + IBA 2 ppm.
- MS + KI 1 ppm. + IBA 2 ppm.
- MS + KI 5 ppm. + IBA 2 ppm.

2.2 subculture ดันเยอบีราลงบนอาหารแข็ง 8 สูตร

2.3 เลี้ยงต้นเยอบีราไว้ในสภาพแวดล้อมเดียวกับการชักนำให้เกิดรากโดยเทอาหารเหลว

2.4 สังเกตการเจริญของรากทุกสัปดาห์ บันทึกผลใช้หลักเกณฑ์เดียวกับการชักนำให้เกิดรากโดยเทอาหารเหลว

หมายเหตุ : การทดลองทั้ง 2 ตอน ใช้เยอบีรา 2 พันธุ์ คือ

- พันธุ์ Bahama
- พันธุ์ Dwaf Happpie Pot

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาเทคโนโลยีการ
ผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง

ระยะเวลาทำการทดลอง

พันธุ์ Bahama ทำการทดลองเมื่อ 14 กรกฎาคม 2532 - 3
มกราคม 2533
พันธุ์ Dwaf Haple Pot ทำการทดลองเมื่อ 31 สิงหาคม 2532 - 10
มกราคม 2533

ขอบเขตการทดลอง

นำเยื่อวีราที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมา subculture เพื่อทำการเพิ่ม
จำนวนต้น และทดสอบการชักนำให้เกิดรากโดยการใช้สารอาหาร MS และฮอร์โมน
Auxins และ Cytokinins ในระดับที่เหมาะสม

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาผลของฮอร์โมนไซโตไคนิน (Cytokins⁻) ต่อการเพิ่มจำนวนต้นเขม็ร่าพันธุ์ Bahama

ผลการ subculture ครั้งที่ 1

นำต้นเขม็ร่าพันธุ์ Bahama ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมา subculture ลงในอาหารสูตร MS + cytokinins ทั้ง 4 สูตร จากต้นเขม็ร่า ทั้ง 3 กลุ่ม เป็นเวลา 2 เดือน ทำการบันทึกผลได้ดังนี้

ตารางที่ 1 แสดงการเพิ่มจำนวนต้นเขม็ร่าพันธุ์ Bahama กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ในอาหารสูงต่างๆ โดยแสดงผลเป็นจำนวนต้นเฉลี่ยตามขนาดความสูง A, B และ C (อายุ 2 เดือน)

กลุ่ม	สูตรอาหาร	จำนวนต้นเฉลี่ย (ต้น)	เกรด		
			A	B	C
1	MS + BA 1 ppm.	1.4	1.0	1.11	
	MS + BA 5 ppm.	1.77	2.22	1.88	
	MS + KI 1 ppm.	1.22 ⁺	1.11	0.66	
	MS + KI 5 ppm.	1.11	2.33	2.22	
2	MS + BA 1 ppm.	1.5 ⁺	0.6	0.8	
	MS + BA 5 ppm.	2.6 ⁺	2.3	2.0	
	MS + KI 1 ppm.	1.3	0.5	0.5	
	MS + KI 5 ppm.	1.2	2.7 ⁺⁺	2.2	

กลุ่ม	สูตรอาหาร		จำนวนต้นเฉลี่ย (ต้น)		
			เกรด A	เกรด B	เกรด C
3	MS + BA	1 ppm.	1.33 ⁺	1.33	0.66
	MS + BA	5 ppm.	2.66 ⁺	2.66	2.0
	MS + KI	1 ppm.	1.66 ⁺	0.33	0.66
	MS + KI	5 ppm.	2.33	2.33	3.66

+ มีจำนวนต้นขนาด Extra ประมาณ 1-4 ต้น

++ มีจำนวนต้นขนาด Extra ประมาณ 5-8 ต้น

+++ มีจำนวนต้นขนาด Extra ประมาณ 9-12 ต้น

หมายเหตุ : กลุ่มที่ 1 ทดลองจำนวน 9 ซ้ำ

 กลุ่มที่ 2 ทดลองจำนวน 10 ซ้ำ

 กลุ่มที่ 3 ทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

จากตารางที่ 1 พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ KI ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน สูตรที่เติม BA จะให้จำนวนต้นที่มีเกรด A มากกว่าสูตรที่เติม KI เช่นในกลุ่มที่ 2 สูตร MS + BA 5 ppm. จะมีจำนวนต้นเกรด A ถึง 2.6 ต้น และยังมีต้นขนาด Extra ด้วย ส่วนที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + KI 5 ppm. จะมีจำนวนต้นเกรด A เพียง 1.2 ต้นเท่านั้น แสดงให้เห็นว่า BA มีผลช่วยเพิ่มจำนวนต้นยอดมีราเกรด A ซึ่งมีความสูง ความแข็งแรงดีกว่า KI ซึ่ง KI เป็นสารในกลุ่ม cytokinins มีผลในการแตกตาข้างทำให้ได้ต้นขนาดเล็กกว่าเป็นจำนวนมาก (คือมีเกรด B และเกรด C มากกว่า)

MS + BA	5 ppm.	มีเกรด A	1.77	ต้น
		มีเกรด B	2.22	ต้น
		มีเกรด C	1.88	ต้น
MS + BA	1 ppm.	มีเกรด A	1.4	ต้น
		มีเกรด B	1.0	ต้น
		มีเกรด C	1.11	ต้น

แต่ก็เป็นที่น่าสนใจที่ได้ว่าในอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมนความเข้มข้นต่ำส่วนใหญ่จะให้จำนวนต้นในเกรด A มากกว่าเกรดอื่นๆ มีคุณภาพดีเหมาะแก่การย้ายปลูกรถถ้ามีรากเพียงพอ ซึ่งจะมีโอกาสรอดในการย้ายปลูกรถสูงและเจริญเติบโตได้ดี แต่ไม่เหมาะสมต่อการ subculture เพื่อเพิ่มจำนวนในการขยายพันธุ์

ในการทดลองนี้ เหยบิราที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นสูงจะได้ต้นที่มีความสูงและจำนวนยอดมากกว่า BA ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ซึ่งต่างกับผลการทดลองที่ผ่านมา โดยวิฑูรย์และเสาวนีย์ (2532) รายงานว่า ต้นเหยบิราที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 ppm. จะให้จำนวนยอด และความสูงเฉลี่ยสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ที่เป็นเช่นนี้อาจสันนิษฐานได้ว่า BA ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้อาจเสื่อมสภาพลงได้

จากการแบ่งต้นเหยบิราซึ่งมีขนาดไม่เท่ากันออกเป็น 3 กลุ่มนี้ กลุ่มที่ให้จำนวนต้นในแต่ละเกรดมากเหมาะที่จะนำมาทดลอง คือ กลุ่มที่ 1 และ 2 ส่วนกลุ่มที่ 3 ต้นมีขนาดเล็กและมีจำนวนต้นน้อยไม่เพียงพอที่จะนำมาทดลอง

ผลการ subculture ครั้งที่ 2

นำดินเยอบีราพพันธุ์ Bahama ที่ได้จากการ subculture ครั้งที่ 1 มาเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมทั้ง 4 สูตร โดยนำต้นเกรด A และเกรด B มาทดลองในครั้งที่ 2 นี้ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน ทำการบันทึกผลได้ดังนี้

ตารางที่ 2 แสดงการเพิ่มจำนวนต้นเยอบีราพพันธุ์ Bahama กลุ่ม A และกลุ่ม B ในอาหารสูตรต่างๆ โดยแสดงผลเป็นจำนวนต้นเฉลี่ยตามขนาดความสูง A, B และ C (อายุ 1 เดือน)

กลุ่ม	สูตรอาหาร		จำนวนต้นเฉลี่ย (ต้น)		
			เกรด A	เกรด B	เกรด C
A	MS + BA	1 ppm.	1.4 ⁺⁺	0.4	0.45
	MS + BA	5 ppm.	0.95 ⁺	2.1	1.3
	MS + KI	1 ppm.	1.2 ⁺⁺⁺	0.3	0.45
	MS + KI	5 ppm.	0.55	2.1	1.95
B	MS + BA	1 ppm.	1.5 ⁺	0.53	0.15
	MS + BA	5 ppm.	0.46	1.38	1.46
	MS + KI	1 ppm.	1.0 ⁺	0.46	0.30
	MS + KI	5 ppm.	0.15	1.69	1.46

+ มีจำนวนต้นขนาด Extra ประมาณ 1 - 4 ต้น

++ มีจำนวนต้นขนาด Extra ประมาณ 5 - 8 ต้น

+++ มีจำนวนต้นขนาด Extra ประมาณ 9 - 12 ต้น

หมายเหตุ : กลุ่ม A ทดลองจำนวน 20 ซ้ำ

 กลุ่ม B ทดลองจำนวน 13 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 2 พบว่า ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ KI ที่ความเข้มข้น 5 ppm. จะให้จำนวนต้นในเกรด A ต่ำ เกรด B และ C สูง เช่นต้นกลุ่มที่เลี้ยงในอาหาร MS + KI 5 ppm. ได้จำนวนต้นเฉลี่ยเกรด A เพียง 0.55 ต้น แต่ได้เกรด B ถึง 2.1 ต้นและเกรด C 1.95 ต้น ส่วนเยอบีราที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA และ KI ความเข้มข้น 1 ppm. จะให้ผลตรงกันข้ามกับการใช้ฮอร์โมนความเข้มข้นสูง คือ จะได้จำนวนต้นเฉลี่ยเกรด A สูง เกรด B และ C ต่ำ นอกจากนี้ยังให้ต้นขนาด Extra อีกด้วย

ผลการทดลองในครั้งที่ 2 จะต่างกับครั้งแรกในตารางที่ 1 เยอบีราในอาหาร MS + BA 5 ppm. จะให้จำนวนต้นเฉลี่ยในเกรด A สูงที่สุด และในอาหารสูตร MS + BA ทั้งสองความเข้มข้นจะให้จำนวนต้นในแต่ละ เกรดมากกว่าในสูตรที่เติม kinetin ซึ่งก็ได้ผลเหมือนกับการ subculture ครั้งที่ 2 แต่ต่างกันที่ครั้งที่ 2 นี้สูตรอาหารจะให้จำนวนต้นเฉลี่ยในเกรด A สูง ที่ระดับฮอร์โมนความเข้มข้นต่ำ (1 ppm.) ส่วนที่ความเข้มข้นสูง (5 ppm.) จะให้เกรด A น้อยกว่า

ความแตกต่างที่เกิดขึ้นนี้ อาจเนื่องจากการ subculture ครั้งที่ 1 ทั้งต้นเยอบีราไว้ในอาหารนานเกินไป อาหารที่ใช้จึงเหลือน้อยลง แต่จำนวนต้นมากขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตไม่เต็มที่ และมีการเพิ่มต้นในอัตราที่น้อย ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับผลในการ subculture ครั้งที่ 2 การเลี้ยงเยอบีราไว้ 1 เดือน จึงเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการ subculture

พันธุ์ Dwarf Happie Pot

ผลการ subculture ครั้งที่ 1

นำต้นเยอบีราพันธุ์ Dwarf Happie Pot ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
ในสภาพปลอดเชื้อมา subculture ลงบนอาหาร MS + cytokinins ทั้ง 4 สูตร จาก
ต้นเยอบีราทั้ง 2 กลุ่ม เป็นเวลา 1 เดือน ทำการบันทึกผลได้ดังนี้

ตารางที่ 3 แสดงการเพิ่มจำนวนต้นเยอบีราพันธุ์ Dwarf Happie Pot ในกลุ่มที่ 1
และ 2 ในอาหารสูตรต่าง ๆ (อายุ 1 เดือน)

กลุ่ม	สูตรอาหาร		จำนวนต้นเฉลี่ย (ต้น)		
			เกรด A'	เกรด B'	เกรด C'
1	MS + BA	1 ppm.	0.8	0.7	0.8
	MS + BA	5 ppm.	0.1	1.2	3.1
	MS + KI	1 ppm.	0.6	0.3	1.2
	MS + KI	5 ppm.	0.1	1.0	2.8
2	MS + BA	1 ppm.	1 ⁺	0	0.2
	MS + BA	5 ppm.	0.2	1.6	1.8
	MS + KI	1 ppm.	0.6	0.4	1.2
	MS + KI	5 ppm.	0	1.2	1.6

+ มีจำนวนต้นขนาด Extra ประมาณ 1 - 4 ต้น

หมายเหตุ : กลุ่มที่ 1 ทดลองจำนวน 10 ซ้ำ

 กลุ่มที่ 2 ทดลองจำนวน 5 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ ๑ เพื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เติม cytokinins ความเข้มข้น 5 ppm. และ 1 ppm. พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm. จะให้จำนวนต้นเฉลี่ยเกรด A' น้อย เกรด B' และ C' สูง เช่น กลุ่ม 1 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 5 ppm. มีเกรด A' เฉลี่ย 0.1 ต้น
 เกรด B' เฉลี่ย 1.2 ต้น
 เกรด C' เฉลี่ย 3.1 ต้น

ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm. จะให้จำนวนต้นเฉลี่ยเกรด A' สูง เกรด B' และ C' และเมื่อเปรียบเทียบฮอร์โมนที่ใช้พบว่า BA จะดีกว่า KI คือให้จำนวนต้นเฉลี่ยในแต่ละเกรดมากกว่า

สำหรับความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ที่ใช้คือ

1. การเพิ่มจำนวนต้นเพื่อขยายพันธุ์ ควรใช้ BA หรือ KI ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm. เนื่องจากจะให้ต้นเกรด B' และ C' สูง ซึ่งมีขนาดไม่ใหญ่มาก มีใบมาก เป็นพุ่มเหมาะต่อการ subculture
2. เพื่อย้ายออกปลูก และมีเปอร์เซ็นต์รอดสูง ควรใช้ BA หรือ KI ที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm. จะได้ต้นยอดมีรากเกรด A' สูง ซึ่งเป็นต้นที่สูงใหญ่ แข็งแรง ใบสีเขียวเหมาะต่อการย้ายออกปลูก

ผลการ subculture ครั้งที่ 2

นำต้นเขม็รพันธุ์ Dwarf Happie Pot ที่ได้จากการ subculture ครั้งที่ 1 มาเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมทั้ง 4 สูตร โดยใช้ดินเกรด A', B' และ C' มาทดลองครั้งที่ 2 นี้ เมื่อมีอายุ 1 เดือน ทำการบันทึกผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4 แสดงการเพิ่มจำนวนต้นเขม็รพันธุ์ Dwarf Happie Pot กลุ่ม A', B' และ C' ในอาหารทั้ง 4 สูตร (อายุ 1 เดือน).

กลุ่ม	สูตรอาหาร		จำนวนต้นเฉลี่ย (ต้น)		
			เกรด A'	เกรด B'	เกรด C'
A	MS + BA	1 ppm.	1.5 ⁺	0	1
	MS + BA	5 ppm.	1.5	0.5	0
	MS + KI	1 ppm.	1.0	0	1.0
	MS + KI	5 ppm.	0.5	1.0	1.5
B	MS + BA	1 ppm.	1.6 ⁺	0.7	0.8
	MS + BA	5 ppm.	1.8	1.2	1.2
	MS + KI	1 ppm.	1.2 ⁺	0.6	0.4
	MS + KI	5 ppm.	2 ⁺	0.8	1.2
C	MS + BA	1 ppm.	1.62 ⁺	0.25	0.25
	MS + BA	5 ppm.	1.75 ⁺	1.0	1.25
	MS + KI	1 ppm.	1.75	0.75	0.625
	MS + KI	5 ppm.	1.12	1.25	1.75

+ มีจำนวนต้นขนาดExtra ประมาณ 1 - 4 ต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- หมายเหตุ : กลุ่ม A' ทดลองจำนวน 2 ซ้ำ
 กลุ่ม B' ทดลองจำนวน 5 ซ้ำ
 กลุ่ม C' ทดลองจำนวน 8 ซ้ำ

จากตารางที่ 4 พบว่าผลการ subculture ครั้งที่ 2 ของเยอบีราพันธุ์ Dwaf Happpie Pot ได้ผลใกล้เคียงกับการ Subculture ครั้งที่ 1 ต่างกันที่อาหารสูตร MS + BA หรือ MS + KI ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm. ซึ่งผลการ subculture ครั้งที่ 2 ทั้งสองสูตรนี้จะให้ต้นขนาด A' สูง ขนาด B' และ C' น้อยเหมือนครั้งแรก การเลือกใช้ BA หรือ KI จะให้ผลในการเพิ่มจำนวนต้นในแต่ละเกรดไม่ต่างกันมาก แต่การที่เยอบีราในอาหารสูตร MS + BA หรือ KI ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm. ให้จำนวนต้นเฉลี่ยในเกรด A' สูงนั้น ยังไม่สามารถบอกถึงสาเหตุที่แท้จริงได้ อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนที่ใช้ โดยเฉพาะ BA ซึ่งโดยปกติแล้วที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ จะให้จำนวนต้นและความสูงเฉลี่ย น้อยกว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ นอกจากนี้ยังมีผลมาจากจำนวนซ้ำในการทดลองนี้มีน้อย เนื่องจากมีจำนวนต้นทดลองไม่เพียงพอ อาจทำให้ผลการทดลองคลาดเคลื่อนไปได้ ดังนั้นจึงควรมีการทดลองเพื่อหาสาเหตุการเปลี่ยนแปลงอันนี้ต่อไป

2. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดรากของเยอบีรา เพื่อเปรียบเทียบระหว่างการเหออาหารเหลวและการเลี้ยงในอาหารแข็ง

พันธุ์ Bahama

ตอนที่ 1 ศึกษาผลการออกรากของเขอบีราพันธุ์ Bahama เมื่อเทอาหารเหลวที่มี

Auxin ลงบนอาหารแข็ง

นำต้นเขอบีราที่ได้จากการ subculture แล้วเลี้ยงในอาหารสูตร MS + cytokinins ทั้ง 4 สูตร เมื่อครบ 3 สัปดาห์ นำมาเติมอาหารเหลวที่มี Auxins และทำการบันทึกผลได้ดังนี้

ตอนที่ 5 แสดงการเจริญเติบโตของรากเขอบีรา เมื่อเทอาหารเหลว 2 สูตร โดยตาราง แสดงผลการเกิดรากเฉลี่ย เป็นคะแนนและปริมาณการเกิดรากเป็นเปอร์เซ็นต์

จำนวนวัน	สูตรอาหาร	BA 1 ppm.		BA 5 ppm.		KI 1ppm.		KI 5 ppm.	
		คะแนน	%	คะแนน	%	คะแนน	%	คะแนน	%
3	MS + IAA 5 ppm.	0.35	30	0.025	9	0	0	0	0
	MS + IBA 2 ppm.	0.35	22	0	0	0.375	11	0.2	14
5	MS + IAA 5 ppm.	0.64	30	0.025	9	0	0	0	0
	MS + IBA 2 ppm.	0.44	22	0	0	0.375	11	0.2	14
7	MS + IAA 5 ppm.	0.64	30	0.025	9	0	0	0	0
	MS + IBA 2 ppm.	0.66	22	0	0	0.5	11	0.2	14
10	MS + IAA 5 ppm.	0.71	30	0.025	9	0.10	9	0	0
	MS + IBA 2 ppm.	0.77	22	0	0	0.51	33	0.2	14
17	MS + IAA 5 ppm.	0.78	30	0.025	9	0.17	18	0	0
	MS + IBA 2 ppm.	0.88	33	0	0	0.62	44	0.2	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนวัน	สูตรอาหาร	BA 1ppm.		BA 5ppm.		KI 1ppm.		KI 5ppm.	
		คะแนน	%	คะแนน	%	คะแนน	%	คะแนน	%
24	MS + IAA 5 ppm.	1.07	50	0.025	9	0.29	64	0.02	14
	MS + IBA 2 ppm.	1.13	33	0	0	1.31	44	0.4	14
31	MS + IAA 5 ppm.	1.74	50	18	18	1.04	73	0.04	14
	MS + IBA 2 ppm.	1.13	33	0.06	10	2.0	55	0.6	28
38	MS + IAA 5 ppm.	2.38	90	0.61	54	2.0	91	0.3	28
	MS + IBA 2 ppm.	2.0	44	0.5	40	2.27	71	0.9	28

ลักษณะของรากที่ได้ จะเป็นเส้นหอมขาวสีเขียว ยาว ชดกันเป็นกระจุก

หมายเหตุ : ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า การเทอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม Auxins ลงบนอาหารแข็งเพื่อชักนำการเกิดรากนี้ พบว่ามีผลของ Cytokinins ที่ยังมีเหลืออยู่ในอาหารแข็งมาเกี่ยวข้องด้วย อาหารสูตรที่มี Cytokinins ความเข้มข้นสูง ๆ คือ 5 ppm. ทั้ง BA และ kinetin มีเปอร์เซ็นต์การออกรากต่ำโดยเฉลี่ยประมาณ 30-50% ส่วนอาหารสูตรที่มี Cytokinins ความเข้มข้นต่ำคือ 1 ppm. จะมีเปอร์เซ็นต์การออกรากสูงโดยเฉลี่ยประมาณ 50-90% ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากความสมดุลย์ของฮอร์โมน Auxins และ Cytokinins Miller และ Shooq (1957) ได้เสนอว่า การเกิดต้น, ราก หรือ คัลลัสของพืช ขึ้นอยู่กับความสมดุลย์ของปริมาณออกซินและไซโตไคนินในอาหารหากมีปริมาณออกซินมากจะทำให้อัตราส่วนออกซินต่อไซโตไคนินสูงกว่าอัตราส่วนสมดุลย์ เนื้อเยื่อจะเจริญเป็นก้อนคัลลัสและราก แต่ถ้ามีปริมาณออกซินน้อยแต่มีไซโตไคนินมาก ทำให้อัตราส่วนออกซินต่อไซโตไคนินต่ำ ก็จะทำให้เนื้อเยื่อเจริญเป็นยอดมาก จะเห็นได้ว่าความสมดุลย์ของ Auxins และ Cytokinins มีความสำคัญต่อการเกิดรากและยอด

ในระยะแรกหลังจากเทอาหารเหลวแล้ว 3-10 วัน มีอัตราการเจริญเติบโตของรากน้อยมาก ทั้งนี้เนื่องจากยังมีปริมาณของ Cytokinins ตกค้างอยู่ปริมาณมากในอาหารแข็งทำให้อัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินต่ำ พืชจะมีการเจริญเติบโตของยอดมากกว่า แต่ทั้งนี้หลังจากเทอาหารเหลวประมาณ 24 วัน อัตราการเจริญเติบโตของรากที่เห็นจากกราฟจะมีเส้นชันขึ้นมากต่างกันระยะแรกซึ่งมีอัตราการเพิ่มจำนวนรากน้อยมาก เนื่องจากช่วงหลังปริมาณ Cytokinins ที่สะสมลดลงมีอัตราส่วนที่น้อยกว่า Auxins มีผลให้การออกรากเพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบการออกรากของต้นเขมมีราที่เทอาหารเหลวสูตร MS + IAA และสูตร MS + IBA พบว่า ทั้งสองสูตรที่มี Cytokinins ความเข้มข้นต่ำ (1 ppm.) จากกราฟรูปที่ 1 และ 2 จะมีอัตราการเจริญเติบโตของรากสูง และในตารางที่ 1 มีค่าเปอร์เซ็นต์การออกรากสูงด้วย ตรงกันข้ามกับสูตรที่มี Cytokinins ความเข้มข้นสูง (5 ppm.) ต้นเขมมีราจะมีอัตราการเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การออกรากต่ำ ส่วนการเปรียบเทียบผลของ Cytokinins ทั้งสองชนิดคือ BA และ kinetin ที่ความเข้มข้นเดียวกันนั้น ไม่สามารถบอกได้แน่นอนว่า BA หรือ kinetin ที่สมดุลย์กับ Auxins

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้ว Cytokinins ตัวใดทำให้อัตราการเจริญเติบโตของรากสูงกว่า ซึ่งจากการทดลอง ตอนที่ 1 "เรื่อง" การศึกษาผลของ Cytokinins ต่อการเพิ่มจำนวนต้นเยอบีราสันนิษฐานว่า BA อาจจะเลื่อม แต่ในการทดลองเรื่องนี้ต้องการ เปรียบเทียบการเหออาหารเหลว สูตร MS ที่เติม IAA 5 ppm. หรือ IBA 2 ppm. เพื่อศึกษาหาสูตรที่สามารถชักนำ การเกิดรากของเยอบีราได้ดีกว่าจากรางที่ 1 พบว่าในช่วงท้ายสูตรที่เติม IAA (5 ppm.) จะมี เปอร์เซ็นต์การออกรากสูงกว่าสูตรที่เติม IBA แต่ในช่วง 2 สัปดาห์แรกเปอร์เซ็นต์การ ออกรากไม่แตกต่างกันมากนัก และช่วงระยะแรกนี้จะมีรากยาว เพียงพอสำหรับการย้ายปลูกได้ เพราะเยอบีราที่มีรากยาวประมาณ 1 ซม. ก็สามารถจะย้ายปลูกได้ไม่จำเป็นต้องรอ ใ้รากยาวมาก ๆ เป็นกระจุก ซึ่งกลับจะทำให้เยอบีรามีโอกาสรอดน้อยกว่าหลังย้ายปลูก ดังนั้นจึงอาจเลือกใช้ IAA หรือ IBA ก็ได้

จากข้อมูลในการเหออาหารเหลวนี้ ในกราฟรูปที่ 1, 2 และ ตารางที่ 1 หลัง จากเหออาหารเหลวได้ 1-2 สัปดาห์ก็สามารถนำต้นเยอบีราออกปลูกได้แล้ว และจะสามารถ อยู่รอดเป็นต้นกล้าได้ ซึ่งเทคนิคการเหออาหารเหลวที่เติม Auxins เพื่อชักนำการเกิดราก โดยไม่ต้องมีการย้ายต้นไปในอาหารใหม่ที่มี Auxins เพื่อกระตุ้นการเกิดรากก่อนย้ายปลูก จะสามารถประหยัดเวลาและต้นทุนมาก เนื่องจากการเหออาหารเหลวไม่ใช้เวลานานเหมือน การ Sub-Culture ซึ่งใน 1 ขวดจะใช้อาหารเหลวเพียง 3 cc. ก็เพียงพอ เทคนิค นี้เป็นประโยชน์มากโดยเฉพาะในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการค้า สามารถช่วยลดต้นทุนได้ มากและได้ผลในเวลาสั้น ๆ ทันต่อความต้องการ และยังเป็นประโยชน์ต่อผู้เลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อ งานวิจัยต่างๆ ด้วย แต่ในการเหออาหารเหลวนี้จะเกิดการ Contaminate ขึ้นได้ ซึ่ง อาจเกิดจากการไม่อยู่ในสภาพปลอดเชื้ออย่างเพียงพอขณะเหออาหารเหลวหรือการที่ต้น เยอบีรา ถูกทิ้งไว้นานเกินไป ซึ่งอาจมีเชื้อเกิดอยู่รอบๆปากขวด จึงควรมีวิธีที่จะป้องกันแก้ไขเพื่อมิให้ เกิดการ Contaminate ในการเหออาหารเหลวต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 2 ศึกษาผลการออกรากของเยอบีรา พันธุ์ Bahama เมื่อเลี้ยงบนอาหารแห้งที่มี

Auxin

นำต้นเยอบีราที่ได้จากการ subculture อายุ 1 เดือน มาเพาะเลี้ยง
ในอาหารแห้ง 8 สูตร เมื่อครบ 2 สัปดาห์ ทำการบันทึกผลได้ ดังนี้

ตารางที่ 6 แสดงการเจริญเติบโตของรากต้นเยอบีรา ที่เลี้ยงในอาหารแห้ง 8 สูตร
โดยแสดงผลการเกิดรากเฉลี่ย เป็นคะแนน และปริมาณการเกิดรากเป็น
เปอร์เซ็นต์

สัปดาห์	สูตรอาหาร	BA 1ppm.		BA 5ppm.		KI 1ppm.		KI 5ppm.	
		คะแนน	%	คะแนน	%	คะแนน	%	คะแนน	%
2	MS + IAA 5 ppm.	0.6	36	0.2	20	0.21	36	0	10
	MS + IBA 2 ppm.	0.075	33	0	0	0.07	17	0	8
3	MS + IAA 5 ppm.	1.375	54	0.5	20	0.61	46	0	10
	MS + IBA 2 ppm.	0.19	58	0	0	0.16	17	0.02	17
4	MS + IAA 5 ppm.	1.787	64	0.6	20	1.31	73	0.03	20
	MS + IBA 2 ppm.	0.64	92	0	0	0.35	25	0.02	17
5	MS + IAA 5 ppm.	2.375	64	0.8	20	2.5	73	0.21	30
	MS + IBA 2 ppm.	1.36	92	0.02	8	0.75	50	0.05	17
6	MS + IAA 5 ppm.	2.55	64	1.2	20	3.5	73	0.47	40
	MS + IBA 2 ppm.	1.7	100	0.07	25	1.42	50	0.13	25

ลักษณะของรากที่ได้ อวบน้ำ แข็งแรง รากจะแตกออกจากจุดกำเนิดออกเป็นแฉกรูปดาว

หมายเหตุ : ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟรูปที่ 3, 4 และตารางที่ 2 ซึ่งแสดงผลการออกรากของเยอบีราที่เลี้ยงในอาหารแข็ง พบว่าสมมูลของ Auxins และ Cytokinins มีผลต่อการออกราก เช่นเดียวกับผลของการเหออาหารเหลว ถ้ามีปริมาณ Cytokinins มาก ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ความเข้มข้น 5 ppm. เเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและอัตราการเจริญเติบโตของรากจะต่ำ แต่ถ้ามีปริมาณ Cytokinins ต่ำ คือความเข้มข้น 1 ppm. เเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและอัตราการเจริญเติบโตของรากจะสูง

ในการเปรียบเทียบผลของ EA และ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งจะสมมูลกับ Auxins ในการชักนำการเกิดราก ไม่สามารถจะเปรียบเทียบได้ โดยมีเหตุผลเดียวกับการทดลองเรื่องการเหออาหารเหลวข้างต้นที่สันนิษฐานว่า EA อาจจะไม่สามารถเปรียบเทียบได้

รากที่เกิดจากการย้ายต้นเยอบีราลงในอาหารใหม่นี้ได้ 2-3 สัปดาห์ มีลักษณะยาวและแข็งแรงสมบูรณ์เพียงพอสำหรับการย้ายปลูกและมีชีวิตอยู่รอด ไม่จำเป็นต้องให้รากยาวกว่านี้ถึงจะเห็นได้จากกราฟรูปที่ 3, 4 หลังจากย้ายอาหาร 4 สัปดาห์รากจะมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าในช่วง 2-3 สัปดาห์แรกและได้ปริมาณรากมากกว่า แต่เสียเวลาและการที่มีรากมากเกินไปไม่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของตน ดังนั้นในระยะ 2-3 สัปดาห์หลังย้ายอาหารก็สามารถนำต้นออกปลูกได้

จากผลการทดลองที่ได้ในการชักนำการเกิดราก โดยการเหออาหารเหลวที่เติม Auxins และการเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีทั้ง Auxins และ Cytokinins ทั้งสองวิธีนี้มีข้อแตกต่างพอสรุปได้ดังนี้

วิธีที่ 1 : การเหออาหารเหลวสูตร MS + Auxins

- ข้อดี - ประหยัดเงินทุน, เวลา และแรงงาน
- ใช้เวลาเพียง 2-3 สัปดาห์ ก็สามารถย้ายปลูกได้
- สามารถได้ต้นกล้าที่มีราก ทนต่อความต้องการ
- เป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกรวดเร็ว ทั้งในการเตรียมอาหารและการเหออาหารเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสีย - รากคอมบาง เส้นเล็ก ไม่สมบูรณ์มาก

- ขณะเหออาหารเหลวไม่ปลอดเชื้อพอ จะเกิดการ Contaminate

วิธีที่ 2 : การเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS + Auxins + Cytokinins

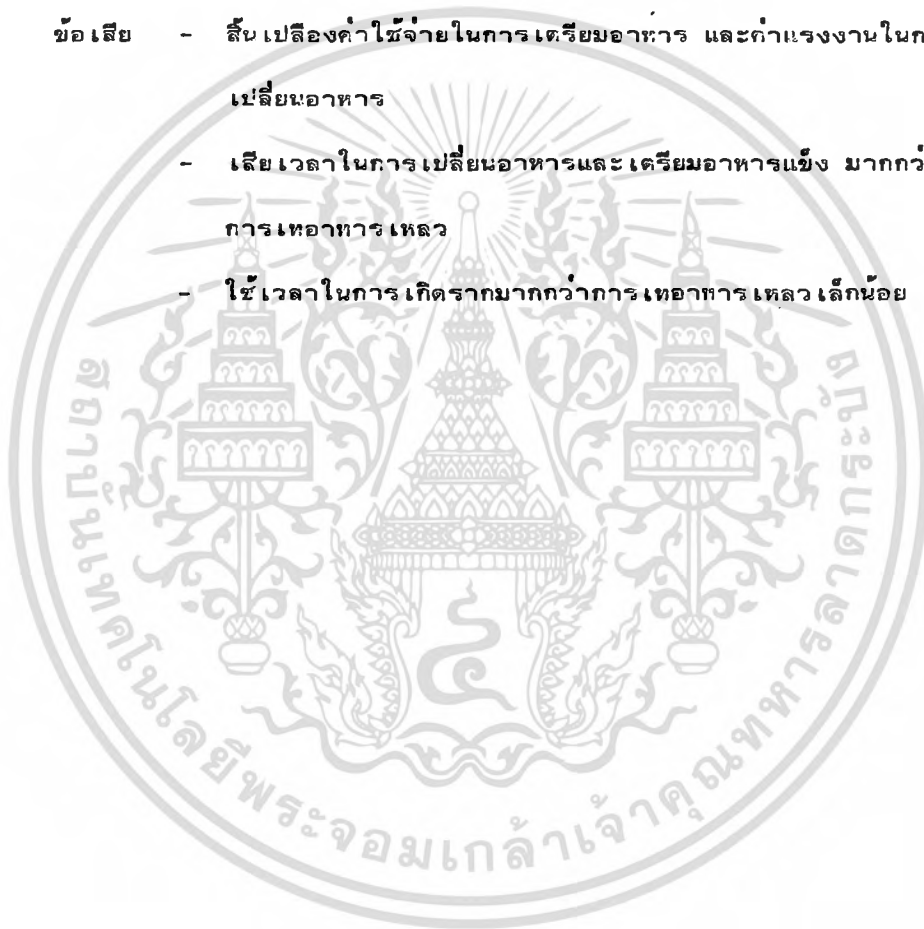
ข้อดี - รากมีความแข็งแรงมาก สามารถถูกน้ำและแร่ธาตุได้ดี

- เกิดการ Contaminate น้อย

ข้อเสีย - ลึน เปลือกดำ ไข่จ้ำจายในการเตรียมอาหาร และกำลังงานในการเปลี่ยนอาหาร

- เสียเวลาในการเปลี่ยนอาหารและเตรียมอาหารแข็ง มากกว่าการเหออาหารเหลว

- ใช้เวลาในการเกิดรากมากกว่าการเหออาหารเหลวเล็กน้อย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ Dwaft Happie-Pot

ตอนที่ 3 ศึกษาผลการออกรากของเยอบีราพันธุ์ Dwaft Happie Pot เมื่อเทอาหารเหลวที่มี Auxins ลงบนอาหารแข็ง

นำต้นเยอบีราที่ได้จากการ subculture แล้วเลี้ยงในอาหารสูตร MS + cytokinins ทั้ง 4 สูตร เมื่อครบ 3 สัปดาห์ นำมาเติมอาหารเหลวที่มี Auxins และทำการบันทึกผลได้ดังนี้

ตารางที่ 7 แสดงการเจริญเติบโตของรากต้นเยอบีรา เมื่อเทอาหารเหลว 2 สูตร ลงบนอาหารแข็ง โดยแสดงผลการเกิดรากเฉลี่ยเป็นคะแนน และปริมาณการเกิดรากเป็น เปอร์เซ็นต์

สัปดาห์	สูตรอาหาร	BA 1ppm.		BA 5ppm.		KI 1ppm.		KI 5ppm.	
		คะแนน	%	คะแนน	%	คะแนน	%	คะแนน	%
3	MS + IAA 5 ppm.	0.66	80	0.4	20	0.625	50	0.04	17
	MS + IBA 2 ppm.	0.28	50	0	0	0.075	17	0.25	20
4	MS + IAA 5 ppm.	1.66	100	0.95	40	1.375	50	0.125	17
	MS + IBA 2 ppm.	0.91	67	0.125	20	0.75	50	0.5	40
5	MS + IAA 5 ppm.	2.33	100	1.5	40	2.75	75	0.56	33
	MS + IBA 2 ppm.	1.5	67	0.25	20	1.75	50	0.5	40

ลักษณะของรากที่ได้ เป็น เส้นหอม ๆ ออกรากเป็นกระจุกชดเป็นวง

หมายเหตุ : ทดการทดลองจำนวน ๓ ซ้ำ

จากกราฟที่ 5, 6 และตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าการเกิดรากของพืชขึ้นอยู่กับความสมดุลของปริมาณ Auxins และ Cytokinins เหมือนกับเยอบีราพันธุ์Bahama อัตราการเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การเกิดรากในช่วงแรกน้อย แต่หลังจากเทอาหารเหลว 4-5 ลิปดาห์ เยอบีราจะมีอัตราการเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงมาก โดยเฉพาะเยอบีราที่เลี้ยงในอาหารที่มี BA และ kinetin ความเข้มข้น 1 ppm. รากของเยอบีราที่เกิดจากการเทอาหารเหลวได้ 3-4 ลิปดาห์ จะสามารถย้ายออกปลูกได้และเจริญเติบโตได้

เมื่อเปรียบเทียบการเทอาหารเหลวสูตร MS + IAA 5 ppm. และ MS + IBA 2 ppm. พบว่าสูตร MS + IAA 5 ppm. จะช่วยส่งเสริมเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและอัตราการเจริญเติบโตของรากได้ดีมากกว่าสูตร MS + IBA 2 ppm. โดยเฉพาะที่เติมบนอาหารแข็งที่มี BA และ kinetin ความเข้มข้น 1 ppm. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากประมาณ 50 - 100% แสดงให้เห็นว่าในเยอบีราพันธุ์ Dwarf Happie Pot นี้การใช้อาหารเหลวสูตร MS + IAA 5 ppm. จะช่วยชักนำให้เกิดรากได้มากและมีอัตราการเจริญเติบโตของรากสูง

สำหรับเทคนิคการเทอาหารเหลวสูตร MS + Auxins นี้เป็นวิธีที่มีประโยชน์ที่เห็นได้ชัดคือ ช่วยประหยัดทั้งแรงงาน ต้นทุน และเวลาในการย้ายเนื้อเยื่อและการเตรียมอาหาร นอกจากนี้ยังช่วยชักนำให้เยอบีราเกิดรากได้ดีในเวลาสั้น แต่ลักษณะรากที่ได้เป็นเส้นผอมบาง ซึ่งไม่มีผลกระทบต่อกรย้ายปลูกมาก เพียงแต่จะแข็งแรงและดูดน้ำได้น้อยกว่ารากที่มีขนาดใหญ่และอ้วน

ตอนที่ 4 ศึกษาผลการออกรากของเยอบีราพันธุ์ Dwarf Happie Pot เมื่อเลี้ยงบน

อาหารแข็งที่มี Auxins

นำต้นเยอบีราที่ได้จากการ subculture อายุ 1 เดือน มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง 8 สูตร แล้วทำการบันทึกผล เมื่อครบ 19 วัน และทำการบันทึกผลได้ดังนี้

ตารางที่ 8 แสดงการเจริญเติบโตของรากต้นเยอบีรา ที่เลี้ยงในอาหารแข็ง 8 สูตร โดยแสดงผลการเกิดรากเฉลี่ยเป็นคะแนนและปริมาณการเกิดรากเป็นเปอร์เซ็นต์

จำนวนวัน	สูตรอาหาร	BA 1ppm.		BA 5ppm.		KI 1ppm.		KI 5ppm.	
		คะแนน	%	คะแนน	%	คะแนน	%	คะแนน	%
19	MS + IAA 5 ppm.	0.25	20	0	0	0.16	20	0	0
	MS + IBA 2 ppm.	0.24	40	0	0	0.66	20	0	0
26	MS + IAA 5 ppm.	0.35	40	0.5	20	0.66	40	0	0
	MS + IBA 2 ppm.	1.0	40	0	0	0.33	20	0	0
33	MS + IAA 5 ppm.	1.125	60	1.0	20	1.16	40	0	0
	MS + IBA 2 ppm.	1.5	80	0.3	40	0.83	60	0	0
40	MS + IAA 5 ppm.	1.375	60	1.3	40	1.66	40	0	0
	MS + IBA 2 ppm.	2.1	80	0.8	40	1.33	60	0	0

ลักษณะของรากที่ได้ ็อวบใหญ่ แข็งแรง และรากแตกออกจุกทำเนิรากเป็นรูปดาว

หมายเหตุ : ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดรากและอัตราการเจริญเติบโตของรากที่ได้จากผลการทดลองนี้ในตารางที่ 4 และกราฟรูปที่ 7 และ 8 แสดงให้เห็นถึงผลของสมมูลย์ของปริมาณ Auxins และ Cytokinins เมื่อมีราที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่เดิม EA และ kinetin ความเข้มข้นสูงคือ 5 ppm. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและอัตราการเจริญเติบโตของรากน้อยมาก โดยเฉพาะสูตรที่เดิม kinetin 5 ppm. ไม่มีรากเกิดขึ้นเลย แต่ในทางตรงกันข้ามอาหารสูตรที่เดิม EA และ kinetin ความเข้มข้นต่ำ 1 ppm. กลับมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและอัตราการเจริญเติบโตสูง

เมื่อมีราที่เลี้ยงในอาหารแข็งซึ่งเติมทั้ง Auxins และ Cytokinins นี้ หลังจากย้ายอาหารได้ 19-26 วัน หรือ (3-4 สัปดาห์) จะสามารถนำต้นย้ายปลูกได้ เนื่องจากมีปริมาณรากเพียงพอที่จะสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพนอกขวด ไม่ต้องปล่อยให้มรากมากเป็นการเสียเวลา

จากผลการทดลองที่ได้ในการชักนำการออกรากทั้งสองวิธีของเยอปีราพันธุ์ Dwaf Hattie Pot นี้ สามารถเปรียบเทียบข้อแตกต่างในด้านผลดีและผลเสียได้ดังนี้

วิธีที่ 1 : การเหออาหารเหลวสูตร MS + Auxins

- ข้อดี - ประหยัดเงินทุน เวลา และแรงงาน
- ใช้เวลาเพียง 3 สัปดาห์ ก็สามารถย้ายปลูกได้
- ได้ต้นกล้าที่มีรากทันต่อความต้องการ
- สะดวกและง่าย ทั้งในการเตรียมอาหารและการเหออาหารเหลว

ข้อเสีย - รากมีลักษณะผอมยาว เส้นเล็ก

- หากขณะเหออาหารเหลวไม่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อพอ จะเกิดการ Contaminate

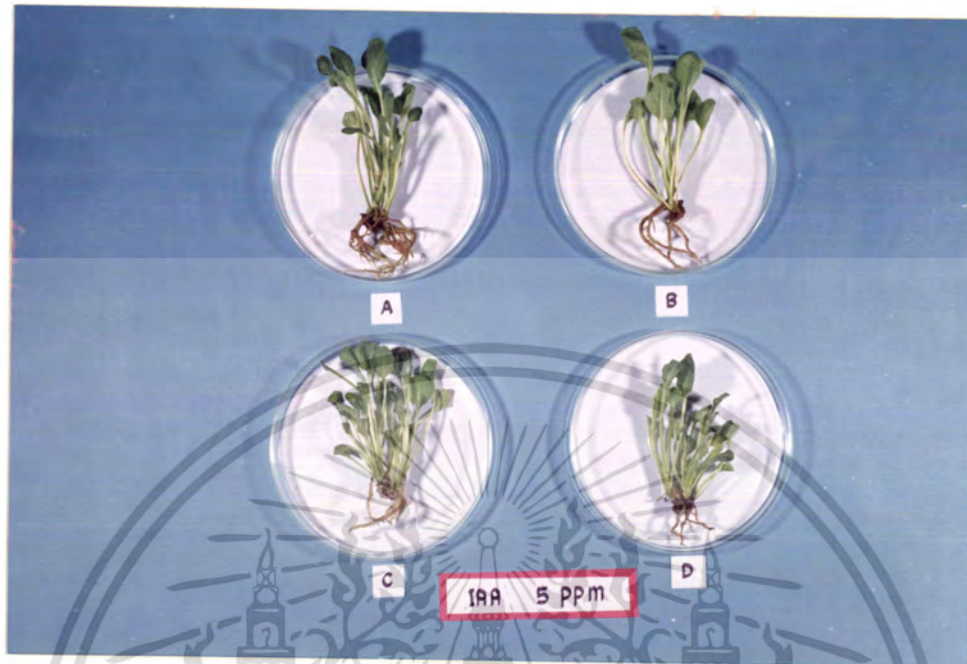
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีที่ 2 : การเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS + Auxins + Cytokinins

- ข้อดี**
- รากมีลักษณะแข็งแรง อวบน้ำ
 - เกิดการ Contaminate น้อยกว่า
- ข้อเสีย**
- สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหาร และค่าแรงงานในการย้ายเนื้อเชื้อ
 - เสียเวลาในการเปลี่ยนอาหารและเตรียมอาหารมากกว่าอาหารเหลว



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 : เยอบีราพันธุ์ Bahama

แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณรากโดยการเทอาหารเหลว
ได้ 1 เดือน (IAA 5 ppm.)

A : MS + BA 1 ppm.

B : MS + KI 1 ppm.

+ IAA 5 ppm.

C : MS + BA 5 ppm.

D : MS + KI 5 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ๒ : เยอบีราพันธุ์ Bahama
แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยการเหาหารเหลว
ได้ 1 เดือน (IBA 2 ppm.)

A : MS + KI 1 ppm.

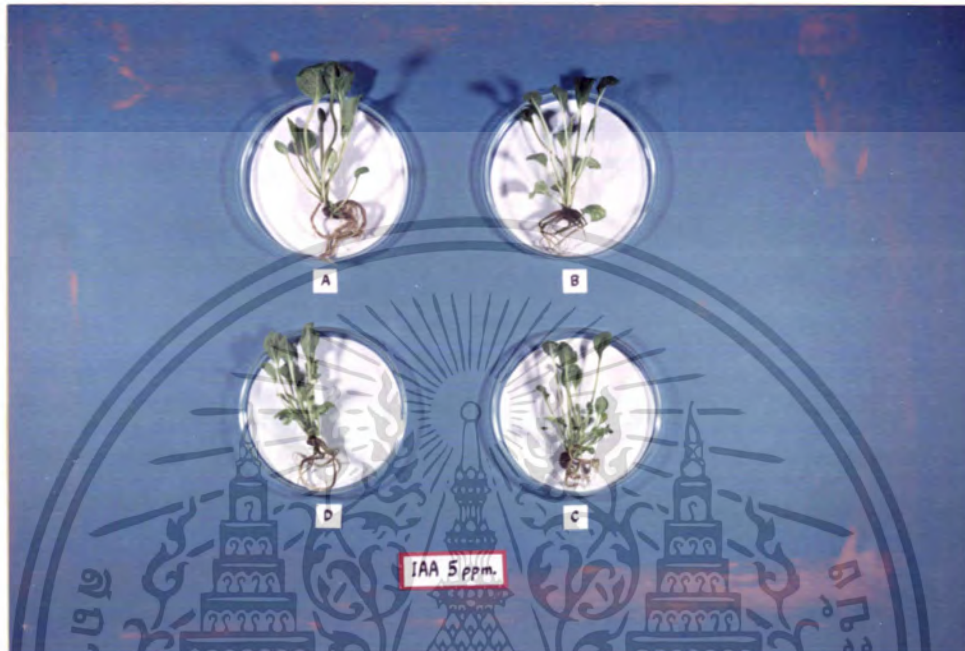
B : MS + EA 1 ppm.

IBA 2 ppm.

C : MS + KI 5 ppm.

D : MS + BA 5 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ๑ เข็มมีราพันธุ์ Bahama

แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งได้ 6 สัปดาห์

A : MS + KI 1 ppm.

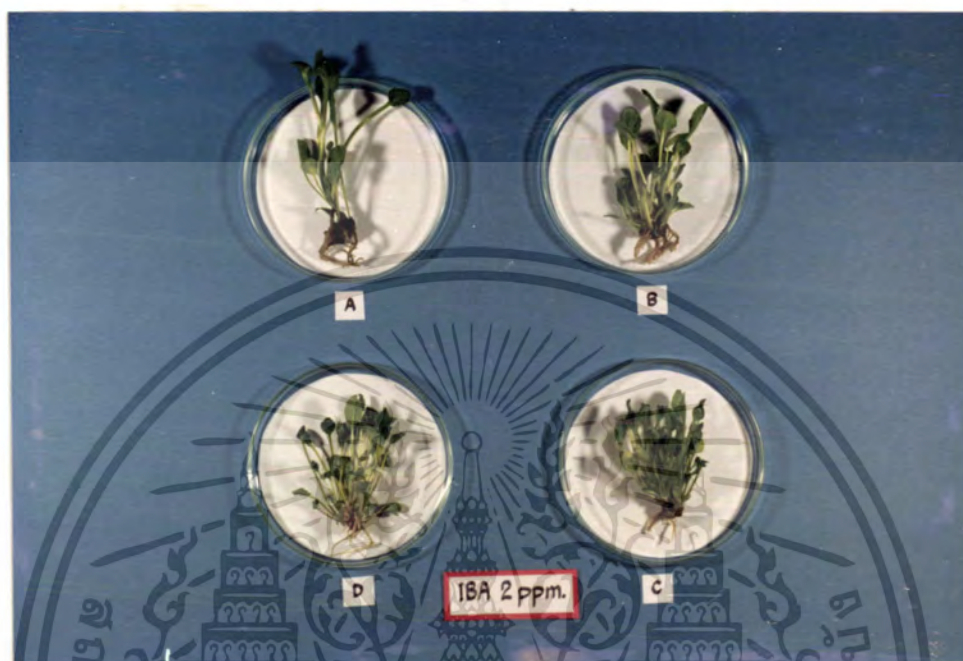
B : MS + EA 1 ppm.

IAA 5 ppm.

C : MS + EA 5 ppm.

D : MS + KI 5 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 : เยอบีร่าพันธุ์ Bahama
แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยเลี้ยงบนอาหารแข็ง
ได้ 6 สัปดาห์

A : MS + BA 1 ppm.

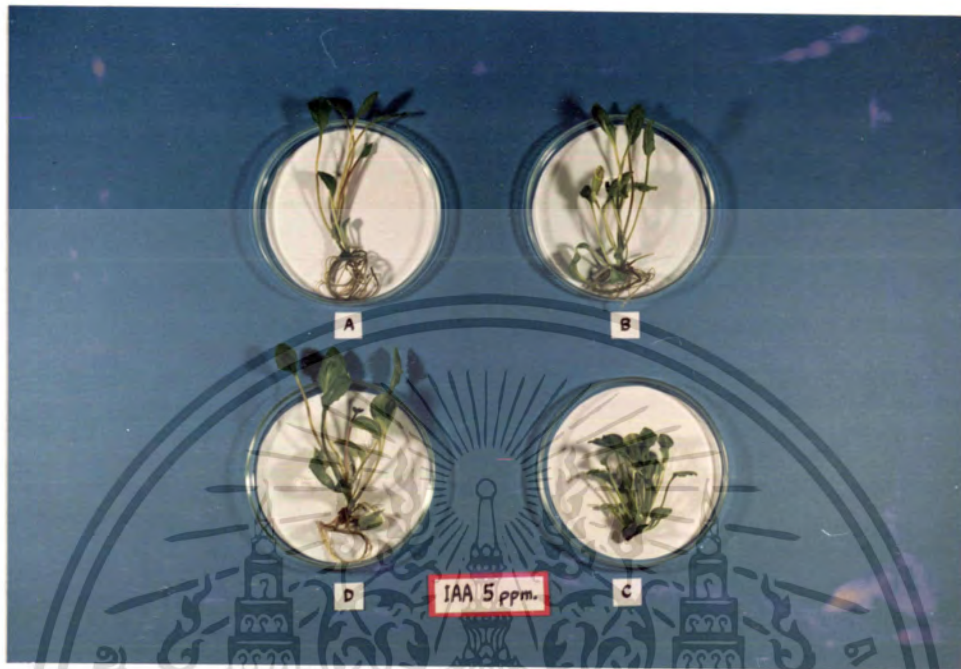
B : MS + KI 1 ppm.

IBA 2 ppm.

C : MS + KI 5 ppm.

D : MS + BA 5 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 : เยอบีราพันธุ์ Dwarf Happye Pot
แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยเลี้ยงบนอาหารแข็ง
ได้ 5 สัปดาห์

- A : MS + KI 1 ppm.
 B : MS + EA 1 ppm.
 C : MS + BA 5 ppm. IAA 5 ppm.
 D : MS + KI 5 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

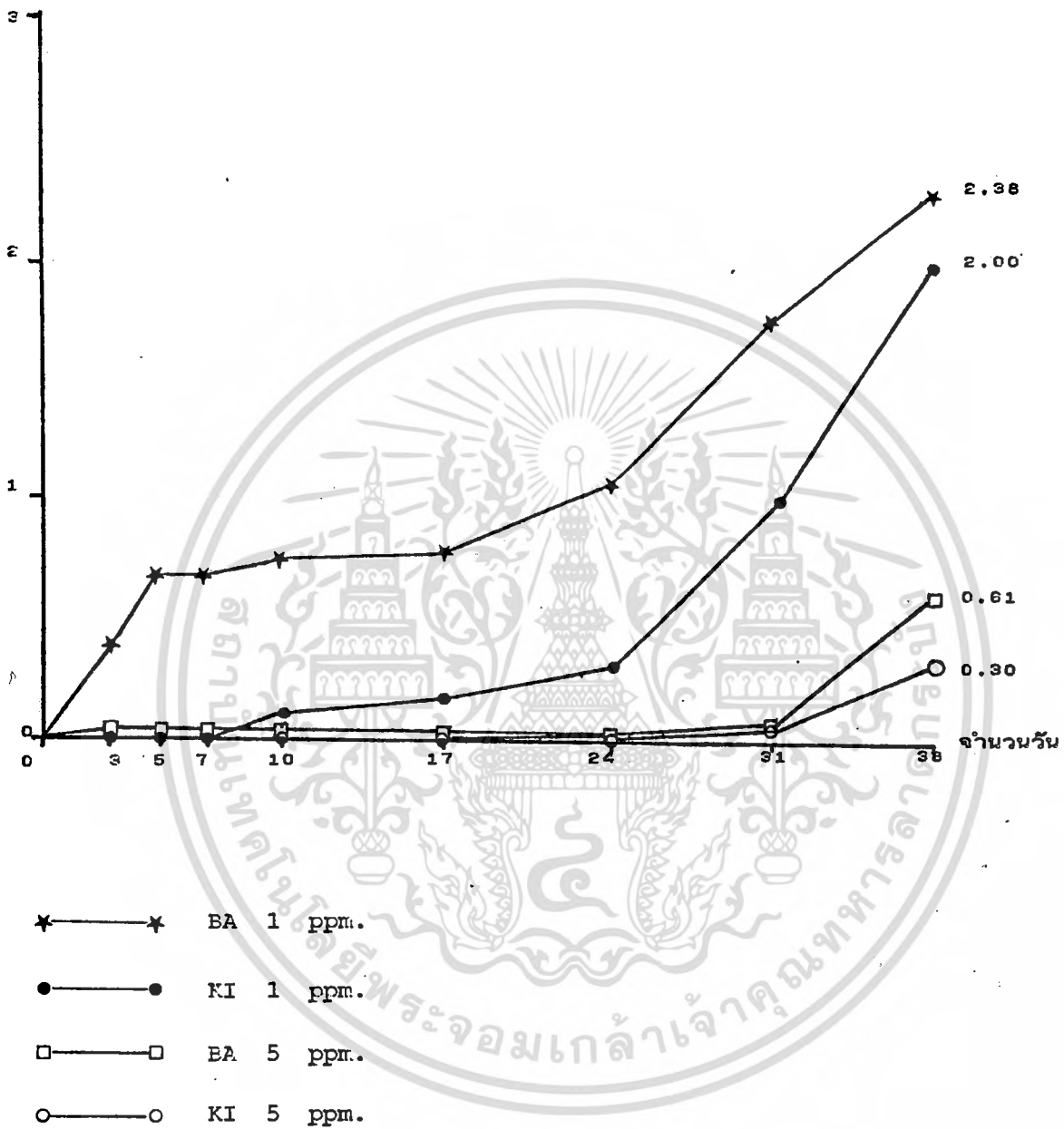


ภาพที่ 6 : เยอบีราพันธุ์ Dwarf Happie Pot
แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณราก โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งได้
5 สัปดาห์

- A : MS + KI 1 ppm.
 B : MS + BA 1 ppm.
 C : MS + BA 5 ppm. IBA 2 ppm.
 D : MS + KI 5 ppm.

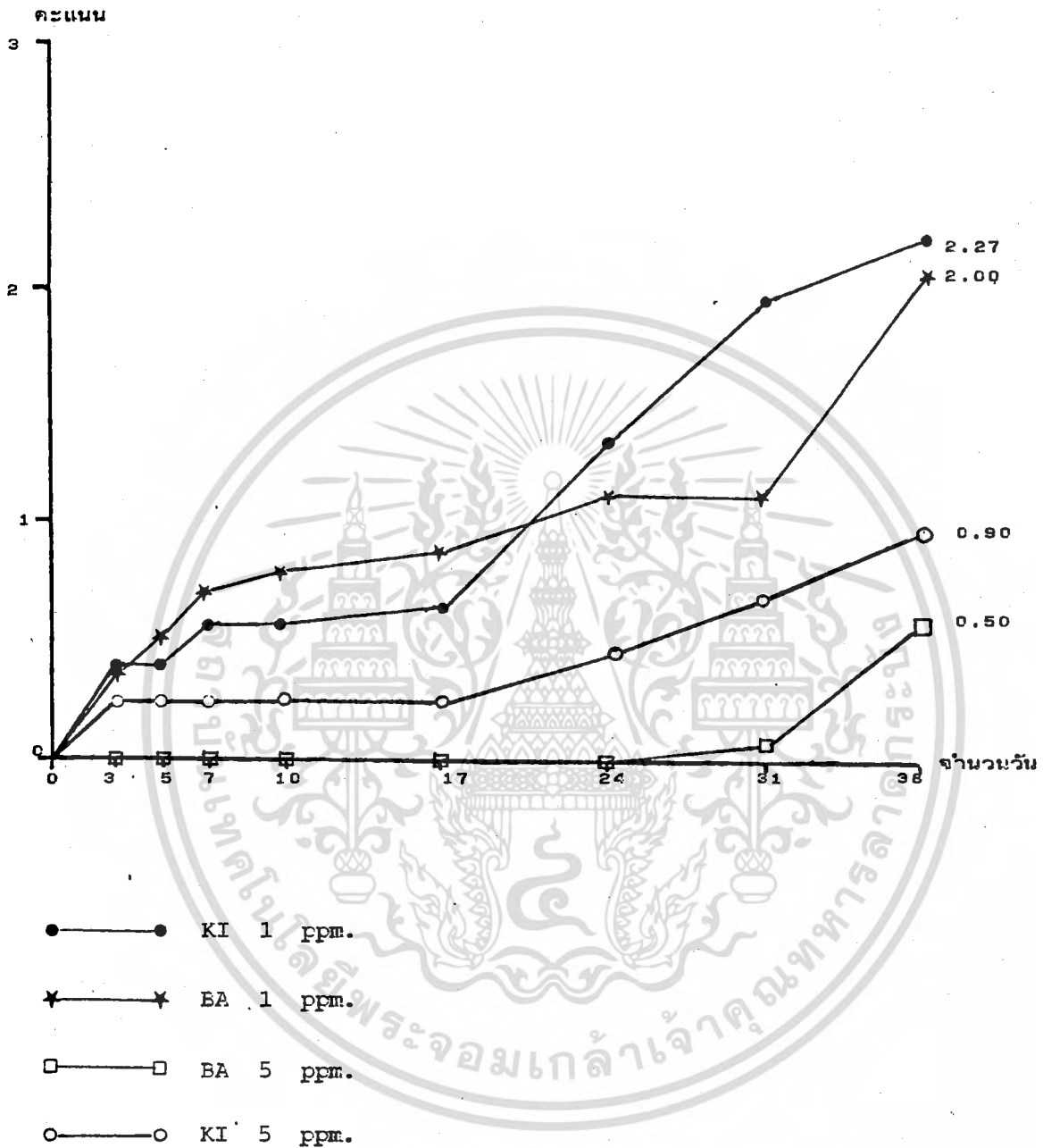
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนน



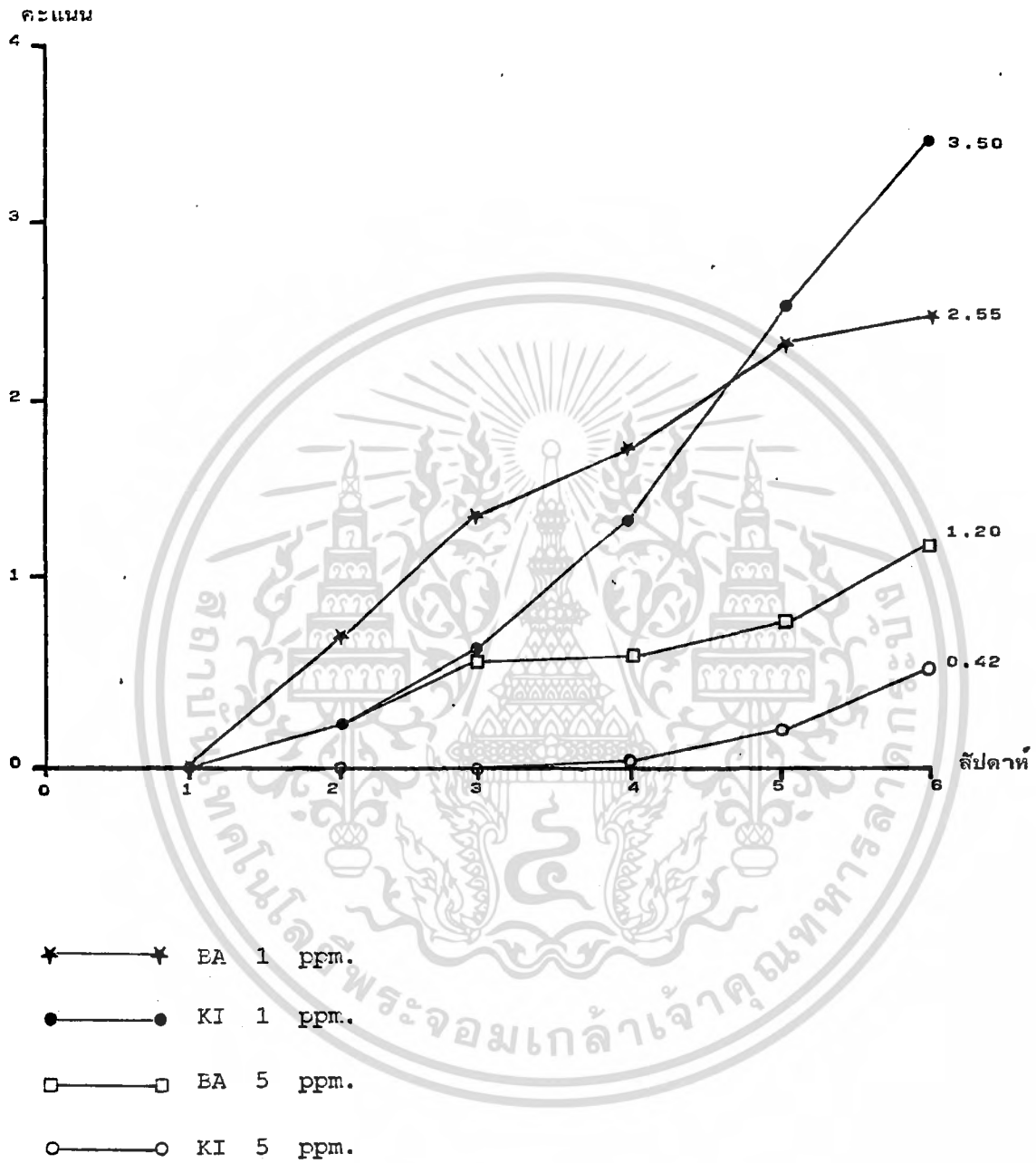
กราฟที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตของรากเยอมีราพันธุ์ Bahama โดยการเทอาหารเหลว สูตร MS + IAA 5 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



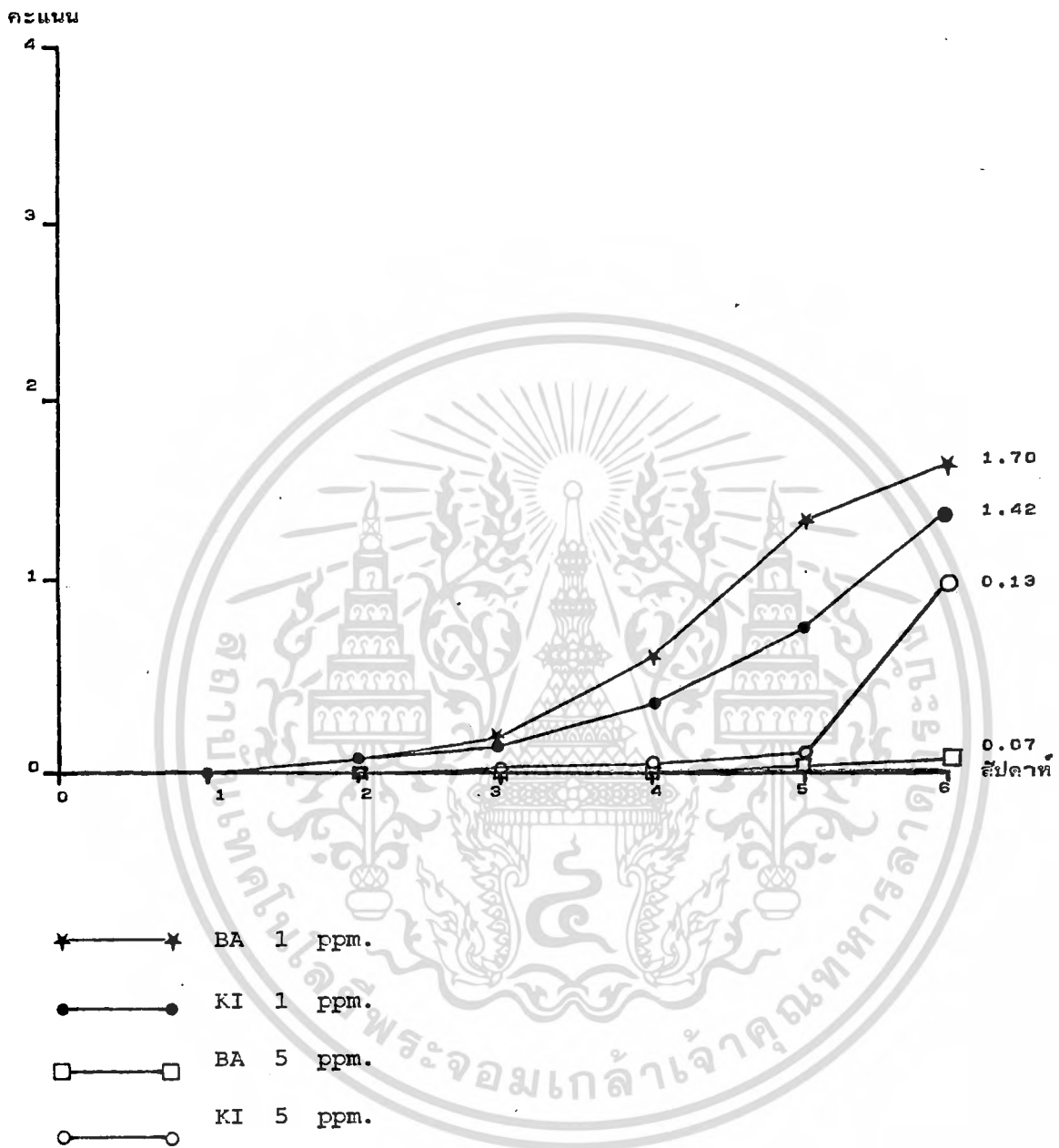
กราฟที่ 2 แสดงการเจริญเติบโตของรากเยอบีราพันธุ์ Bahama โดยการเทอาหารเหลว สูตร MS + IBA 2 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



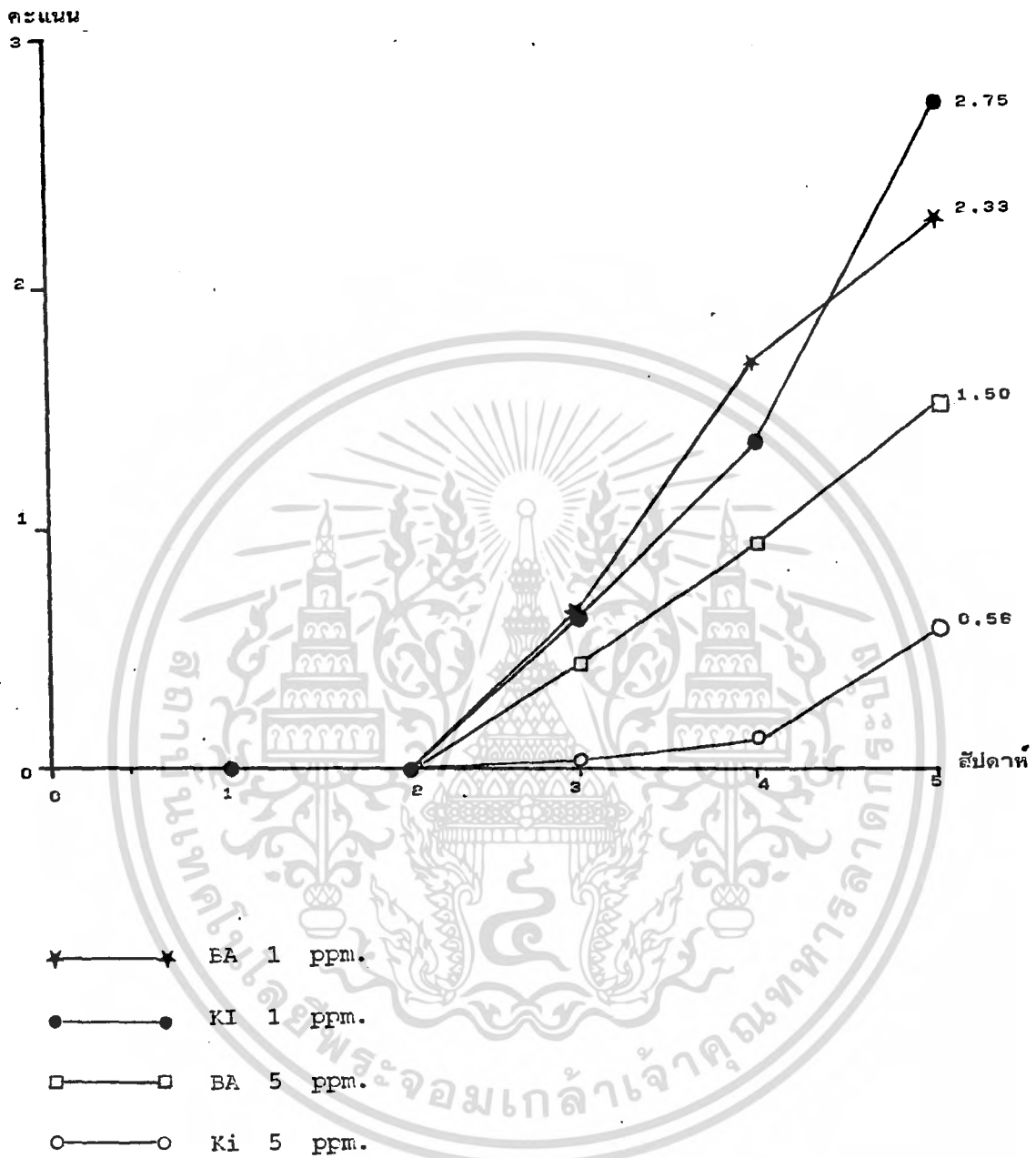
กราฟที่ 3 แสดงการเจริญเติบโตของรากเยอบีราพันธุ์ Bahama โดยการเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS + IAA 5 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



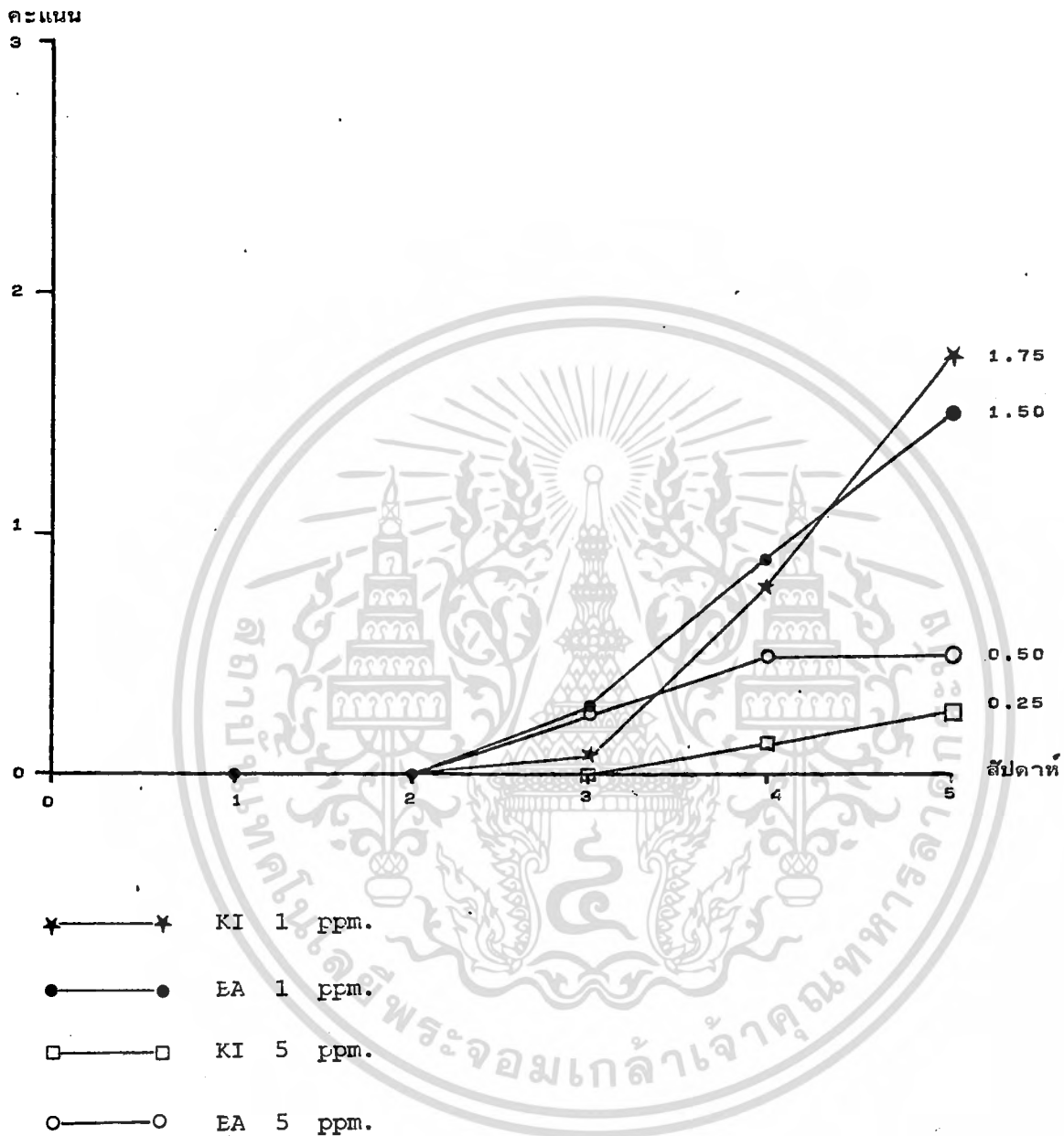
กราฟที่ 4 แสดงการเจริญเติบโตของรากเยอบีราพันธุ์ Bahama โดยการเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS + IBA 2 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



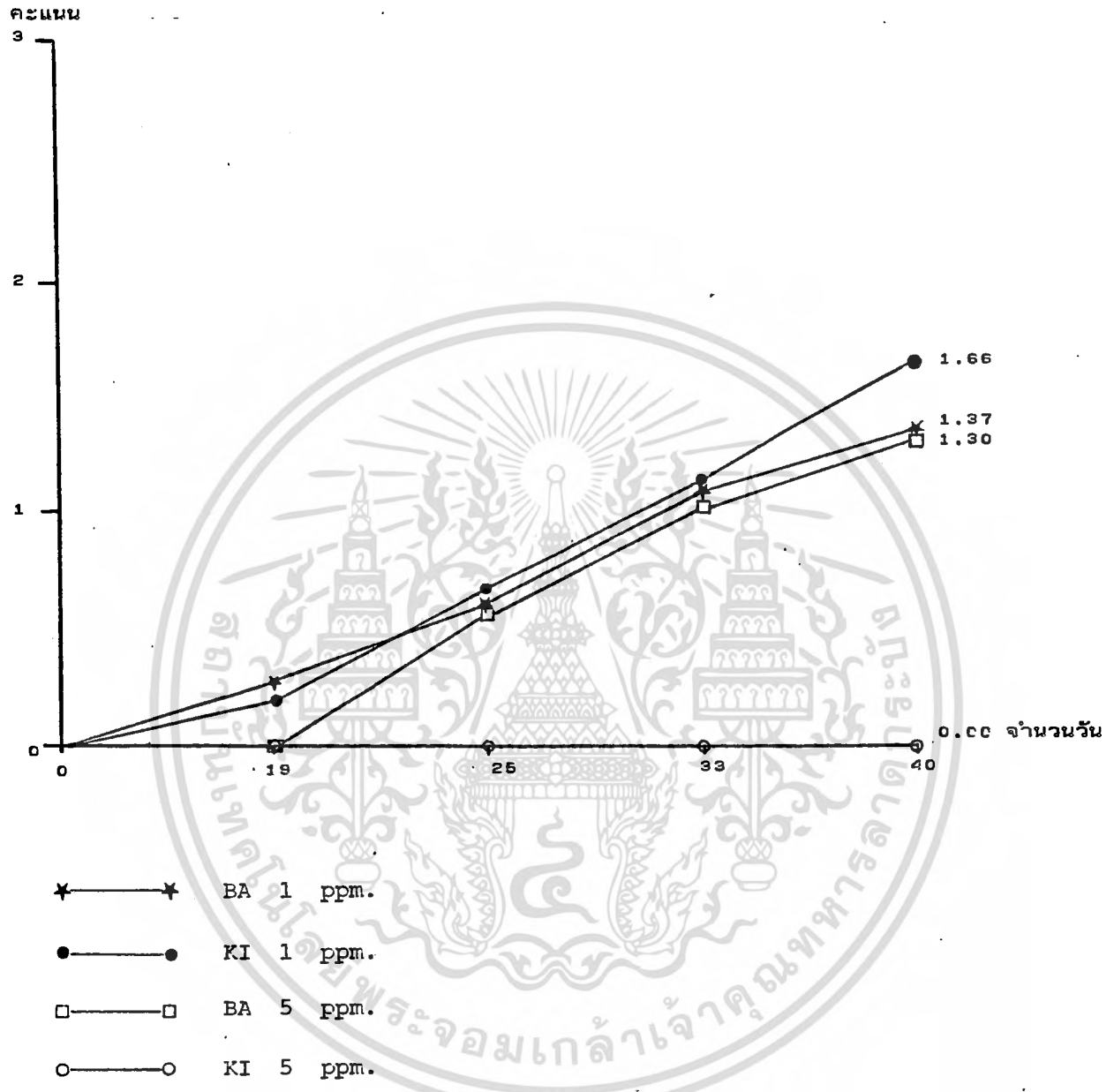
การที่ 5 แสดงการเจริญเติบโตของเขอบีราพันธุ์ Dwarf Happy Pot โดยการเทอาหาร
เหลวสูตร MS + IAA 5 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



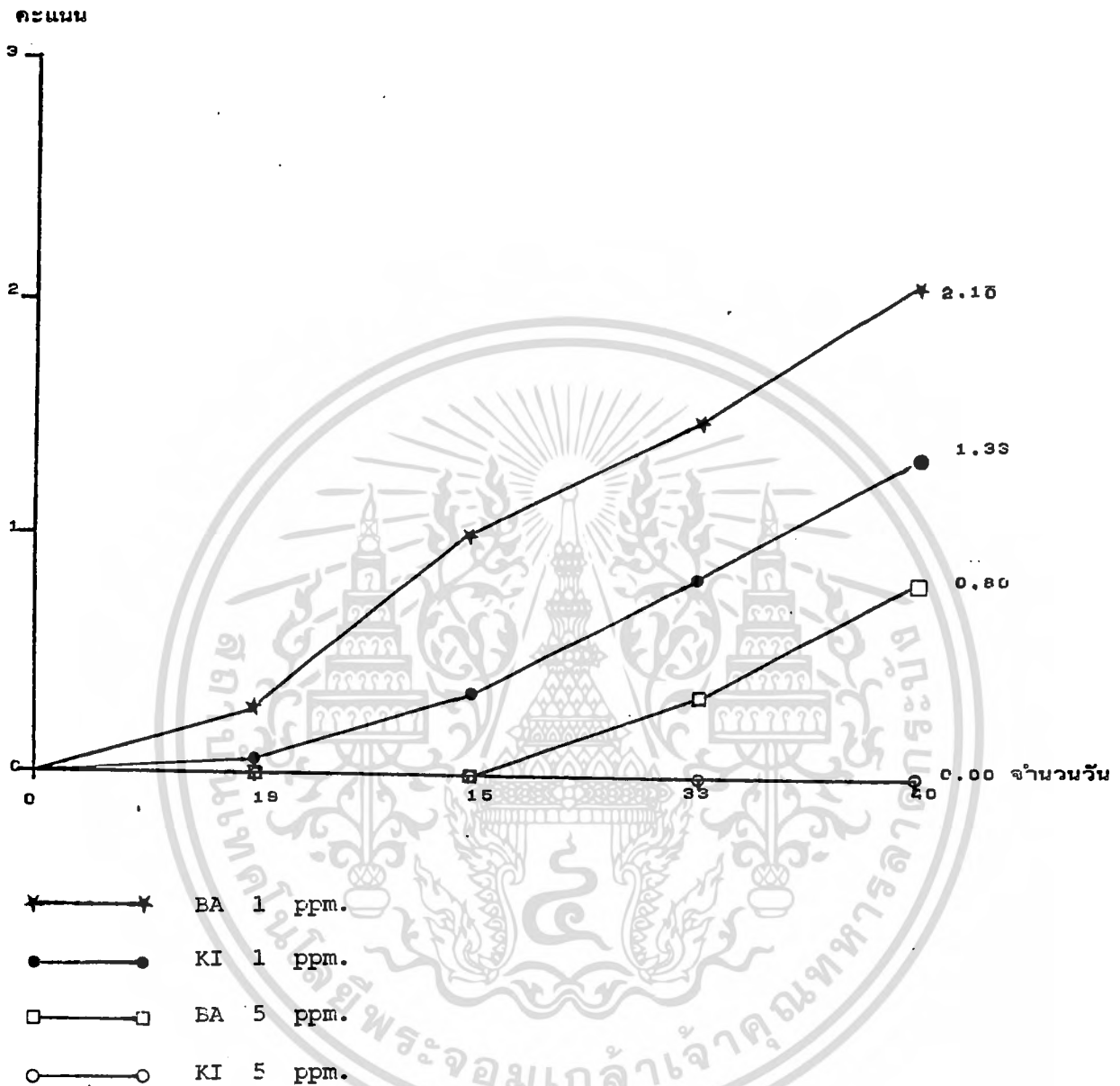
กราฟที่ 6 แสดงการเจริญเติบโตของรากเขอปีราพันธุ์ Dwaft Happie Pot โดยการ
 เทออาหารเหลว สูตร MS + IBA 2 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



กราฟที่ 7 แสดงการเจริญเติบโตของรากเขอบีราพันธุ์ Dwarf Happy Pot โดยการเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS + IAA 5 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



กราฟที่ ๘ แสดงการเจริญเติบโตของรากเขอบีราพันธุ์ Dwaft Happie Pot โดยการเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS + IEA 2 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของ Cytokinins ต่อการเพิ่มจำนวนต้นเยอบีรา พบว่า ถ้าต้องการเพิ่มต้นเยอบีราพันธุ์ Bahama เพื่อการขยายพันธุ์ สูตรอาหารที่เหมาะสมคือ MS+ BA 5 ppm. หรือ MS + KI 5 ppm. แต่ถ้าต้องการต้นที่มีขนาดใหญ่แข็งแรง เหมาะสมต่อการย้ายออกปลูกควรเลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 1 ppm. หรือ MS + KI 1 ppm. เมื่อเปรียบเทียบ BA และ KI ที่ความเข้มข้นเดียวกัน BA จะให้ผลดีกว่า KI คือได้จำนวนต้นเฉลี่ยมากกว่า และต้นเยอบีราที่เหมาะสมต่อการ subculture เพื่อเพิ่มจำนวนต้นมีอายุประมาณ 1 เดือน

ถ้าต้องการเพิ่มต้นเยอบีราพันธุ์ Dwaft Happie Pot สามารถใช้สูตรอาหาร MS + BA 5 ppm. หรือ MS + KI 5 ppm. จะให้ต้นเยอบีราที่มีขนาดเล็กใหญ่เป็นจำนวนมาก แต่ถ้าใช้สูตรอาหาร MS + BA 1 ppm. หรือ MS + KI 1 ppm. ทำให้ต้นเยอบีรา มีขนาดสูงใหญ่ ใบกว้าง แข็งแรง เหมาะต่อการย้ายออกปลูก

จากการศึกษาสูตรอาหารและวิธีการที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากพบว่า การเกิดจากของเยอบีราทั้ง 2 พันธุ์ ขึ้นอยู่กับสมดุลของ Auxins และ Cytokinins ถ้าปริมาณ Auxins ต่อ Cytokinins สูง จะทำให้เกิดรากมาก แต่ถ้าปริมาณ Auxins ต่อ Cytokinins ต่ำ จะเกิดรากได้น้อย

เยอบีราพันธุ์ Bahama ที่ทำการทดสอบอาหารเหลวสูตร MS + Auxins ลงบนอาหารแข็งที่เลี้ยงต้นเยอบีราเพื่อชักนำให้เกิดราก พบว่า จะเกิดรากภายใน 1-2 สัปดาห์ รากแข็งแรง และอยู่ในช่วงที่ย้ายออกปลูกได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับเยอบีราที่ชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็ง จะได้รากที่อวบ, แข็งแรง กว่า การทดสอบอาหารเหลว และการเลือกใช้ Auxins IAA 5 ppm. หรือ IBA 2 ppm. จะให้ผลไม่แตกต่างกันมาก

เยอบีราพันธุ์ Dwaft Happie Pot พบว่า การทดสอบอาหารเหลวสูตร MS + Auxins ลงบนอาหารแข็งที่เลี้ยงต้นเยอบีรา ใช้เวลาในการชักนำให้เกิดราก ใกล้เคียงกับวิธีการชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็ง รากที่เกิดจากการเลี้ยงในอาหารแข็ง จะอวบและ

แข็งแรงกว่า ซึ่งเยอบีราพันธุ์นี้เลือกใช้ Auxins IAA 5 ppm. จะให้ผลดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นการชักนำให้เกิดรากควรใช้วิธีการเทอาหารเหลวลงบนอาหารแข็ง เนื่องจาก
จากช่วยประหยัดแรงงาน, ค่าใช้จ่ายและเวลา ซึ่งถ้าทำการผลิตเพื่อการค้าเป็นจำนวนมาก
นับว่าเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้มาก แต่วิธีการเทอาหารเหลวจะต้องทำอย่างระมัดระวัง
และมีความชำนาญ เนื่องจากจะเกิดการติดเชื้อ (Contaminate) ได้ง่าย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- จินดา ศรศรีวิชัย. 2524. สรีรวิทยาพืชภาคการเจริญเติบโตและการควบคุม. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, กรุงเทพฯ. 249 หน้า.
- บุญยืน กิจวิจารณ์. 2528. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 165 หน้า.
- ปิฎฐะ บุญนาค. 2519. ไม้ดอกไม้ประดับ. โรงพิมพ์เฟื่องอักษร, กรุงเทพฯ. 500 หน้า.
- ไพบุลย์ กรินเลิศวัฒนา. 2524. หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 88 หน้า.
- รงรอง วิเศษสุวรรณ. 2528. การชักนำให้เยื่อมีรา กลายพันธุ์ในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ปริญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วิฑูรย์ มุขกรเรื่องรัตน์ และเสาวนีย์ ศุภนิมิตवासนา. 2532. การขยายพันธุ์เยื่อมีรา โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สมเพียร เกษมทรัพย์. 2526. ไม้ดอกกระถาง. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 272 หน้า.
- สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. 2526. ฮอว์โมนพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 147 หน้า.
- สายสมร มุขลาย. 2527. การเปรียบเทียบอัตราการงอกของเมล็ดและการเพิ่มปริมาณต้นเยื่อมีราสายพันธุ์ต่างๆ ในอาหารวิทยาศาสตร์. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อรดี สหวิชรินทร์. 2522. ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้านการเกษตร.

วารสารพืชสวน. 14(4) : 35-44.

อุทัย จารณศรี. 2509. การขยายพันธุ์พืชวิธีใหม่ที่น่าสนใจ. วารสารพืชสวน. 3(5) :

61 - 66.

อุบลพงษ์ แสงวณิช. 2520. การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วน

ต่างๆ ของเยอบีรา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

Debergh P.C. 1986. Micropropagation of herbaceous plants.

Micropropagation in Horticulture (Practice and commercial problems) p. 27-36.

Maene, L.J. and P.C. Debergh. 1986. Optimization of plant

micropropagation. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent. p. 1479-1488.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid

growth and bioassays with tobacco tissue cultures.

Physiologia Pl. 15 : 473-397.

Murashige, T., M. Serpa and J.B. Jones. 1974. Clonal multiplication

of gerbera through tissue culture. Hort. Science. 9 : 175-

180.

Pierik, R.L.M., H.H.M. Steegmans and J.J. Marelis. 1973. Gerbera

plantlets from *in vitro* cultivated capitulum explants.

Scientia Hortic. 1: 117-119.

Pierik, R.L.M., H.H.M. Steegmans, J.A.M. Verhaegh and A.N. Wouters.

1982. Effect of cytokinins and cultivar on shoot formation

of *Gerbera jamesonii* *In vitro*. Neth. J. Agric. Sci. 30 : 341-346.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นใจประโยชน์ด้านการศึกษา
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ culture formation in plant tissue cultured In vitro.
Sym. Soc. Exp. Biol. 11 : 118-131.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

MURASHIGE & SKOOG MEDIA (1962)

<u>Macronutrients</u>	<u>mg/1</u>	<u>Iron</u>	<u>mg/1</u>
NH_4NO_3	1,650	Sodium EDTA	37.25
KNO_3	1,900	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	<u>Organic components mg/1</u>	
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	Glycine	2
KH_2PO_4	170	Nicotinic acid	0.5
<u>Micronutrients</u>		Pyridoxine	0.5
H_3BO_3	6.2	Thiamin	0.1
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	6.9	Sucrose	30 gm/1
$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	6.14	pH	5.6
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		



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้