ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข็มสามสี

Tissue Culture of Dracaena marginata "Tricolor"

โดย

นาย กีรติ กะระณา

ได้พิจารณาเห็นชอบจาก

.....

(ดร.สุเม อรัญนารถ)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผศ.ดร.ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 6 เดือน ต.ค. พ.ศ. 37

8 ส.ค. 2541

ว.พ.
ก 695ก
2536

14554

หอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข็มสามสี

Tissue Culture of Dracaena marginata "Tricolor"

T099993

โดย

นาย กีรติ กะระณา

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ ดร.สุเม อรัญนารถ

ปพ.
ก695ก
2536
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....99993
วัน,เดือน,ปี...17 JUN 2009

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2536

คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อเรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข็มสามสี

Tissue Culture of Dracaena marginata "Tricolor"

โดย นาย กีรติ กะระณา

สาขา พืชสวน ภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะ เทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.สุเม อรัญนารถ

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข็มสามสีในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ชิ้นส่วน ตาข้าง มาทำการฟอกด้วย alcohol เข้มข้น 70% นาน 1 นาที หลังจากนั้นฟอกด้วยสารละลาย Mercuric chloride เข้มข้น 0.5% ที่ผสม Tween 20 จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 3 นาที ตามด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว นาน 10 นาที แล้วเขย่าในน้ำยาคลอรอกซ์เข้มข้น 10% นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที ทำการทดลองเพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของ 2,4-D และ kinetin ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของตาข้าง โดยนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตรของ Murashige and Skoog (1962) ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิ กรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลให้เนื้อเยื่อตาข้างเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ซึ่งเติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสจากตาข้างเจริญเป็นยอดได้ผลดีที่สุด

Abstract

Tissue culture of Dracaena marginata "Tricolor" was investigated. Lateral buds were disinfested in 70% alcohol for 1 minute, then immersed in 0.5% Mercuric chloride with several drops of Tween 20 for 30 min after that rinsed one time in sterile water for 10 min and shaken in 10% clorox for 15 min, rinsed three times in sterile distilled water. Cultures were initiated on Murashige and Skoog media (MS) containing various concentration of 2,4-D (0, 0.1, 0.5 and 1.0 mg/l) and kinetin (0, 0.5, 1.0 and 1.5 mg/l). Callus was obtained from lateral buds cultured on Murashige and Skoog media containing 0.5 mg/l 2,4-D and 1.0 mg/l kinetin. Multiple shoots were produced by culturing callus on MS media supplemented with 0.5 mg/l 2,4-D and 0.5 mg/l kinetin.

คำนิยม

ปัญหาพิเศษพิเศษเรื่องนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี โดยความกรุณาแนะนำของอาจารย์ ดร.สุเม อรัญนารถ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่ช่วยให้ข้อคิดและแนวทางตลอดจนแก้ไขตั้งแต่เริ่มแรก จนสำเร็จเรียบร้อยสมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

นอกจากนี้ยังได้รับความช่วยเหลือจาก คุณพรพรรณ และ คุณพรนุช ภาสุรวงศ์ ในการจัดส่งเอกสารจากต่างประเทศมาให้ข้าพเจ้าได้นำมาศึกษาและเป็นข้อมูลในการเขียนรายงานอ้างอิง ขอขอบคุณ คุณลาวัลย์ สุธนมนตรี คุณณัฐ วงศ์สนิท คุณอายุวัฒน์ จิตประเสริฐ ตลอดจนเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทดลองบางอย่าง และเป็นกำลังใจในการทำปัญหาพิเศษเรื่องนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และทุกคนในครอบครัว รวมทั้งพระเดชพระคุณ พระมงคลเทพมุนี (สด จนฺทสโร) ที่เป็นแรงบันดาลใจและให้การสนับสนุนข้าพเจ้าในการศึกษาตลอดมาจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

กีรติ กะระณา

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	(ก)
สารบัญภาพ	(ข)
คำย่อที่ใช้ในรายงาน	1
คำนำ	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	
- อุปกรณ์	6
- วิธีการ	7
ผลการทดลอง	12
วิจารณ์ผลการทดลอง	28
สรุปผลการทดลอง	30
เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก	34

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 1 เดือน 13

ตารางที่ 2 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 1 เดือน 14

ตารางที่ 3 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 2 เดือน 16

ตารางที่ 4 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 2 เดือน 17

ตารางที่ 5 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 3 เดือน 19

ตารางที่ 6 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 3 เดือน 20

ตารางที่ 7 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 4 เดือน 22

ตารางที่ 8 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 4 เดือน 23

ตารางที่ 9 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 5 เดือน 25

ตารางที่ 10 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 5 เดือน 26

ตารางที่ 11 แสดงจำนวนใบเฉลี่ย, ความสูงเฉลี่ย, จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน, จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยของเข็มสามสี จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l เป็นเวลา 4 เดือน และ 5 เดือน 27

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสีที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ 2,4-D และ kinetin ระดับต่างๆ เมื่ออายุ 1 เดือน, 2 เดือน, 3 เดือน, 4 เดือน และ 5 เดือน 11

คำย่อที่ใช้ในรายงานฉบับนี้

Ads	Adenine sulfate . $2H_2O$
BA	6-Benzylamino purine
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid
IAA	Indole-3-acetic acid
IBA	3-Indolebutyric acid
2iP	N^{2}- (Δ^{2} - isopentenyl) adenine
MS	Murashige and Skoog (1962)
NOA	Naphtoxy acetic acid
Clorox	เป็นชื่อทางการค้าประกอบด้วย NaOCl 5.25 w/w
NaP	$NaH_2PO_4.H_2O$

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข็มสามสี

Tissue Culture of Dracaena marginata "Tricolor"

คำนำ

เข็มสามสีเป็นไม้ประดับในสกุลดราเซียนา ซึ่งเป็นพืชที่มีใบสวยงามมาก ไม่ว่าจะเป็นในด้านรูปร่างหรือสีสรรของใบที่สะดุดตา มีทรงพุ่มที่สมดุลย์และสง่างาม อีกทั้งยังเป็นพืชที่เกิดการกลายพันธุ์ง่าย ทำให้ได้พันธุ์แปลกใหม่อยู่ตลอดเวลา (ณรงค์, 2534) นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี การปลูกและการดูแลรักษาก็ทำได้ไม่ยากนัก (ประชิด, 2524) ด้วยเหตุนี้ เข็มสามสีจึงเป็นไม้ประดับที่นิยมปลูกเพื่อผลิตเป็นการค้าในรูปของไม้ประดับกระถาง และไม้ประดับยืนต้นปลูกลงดิน (ณรงค์, 2534) เนื่องจากเข็มสามสีเป็นไม้ประดับที่มีเนื้อไม้ต้องใช้ระยะเวลาการเจริญเติบโตนาน หากเป็นระยะที่กำลังอยู่ในความนิยม การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติอย่างเดียวอาจทำให้ได้จำนวนต้นที่ไม่เพียงพอต่อการจำหน่าย (วิไลลักษณ์, 2528) ซึ่งปัญหานี้ อาจใช้วิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อเข้ามาช่วยได้ เนื่องจากวิธีการนี้จะทำให้ได้ต้นเป็นจำนวนมากในเวลาอันสั้นและสามารถคัดเลือกต้นที่แข็งแรง มีอัตราการเจริญเติบโตดีออกปลูกในสภาพธรรมชาติที่เหมาะสมกับพืชได้

สำหรับงานทดลองนี้เป็นงานทดลองเบื้องต้นสำหรับการเพิ่มปริมาณต้นเข็มสามสี โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การทดลองในครั้งนี้ได้ศึกษาถึงสูตรอาหารและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเจริญของตาข้างเข็มสามสี เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มปริมาณต้นเข็มสามสีให้ได้ปริมาณมากในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

การตรวจเอกสาร

เข็มสามสี เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ อยู่ในวงศ์ Liliaceae (Graft, 1981) อยู่ในสกุล Dracaena ชนิดที่ให้ต้นที่มีสรรงดงาม คือ Dracaena marginata var. "Tricolor" ลักษณะของใบมีแถบ 3 สี คือ ขอบนอกสีแดง สีครีมหรือเหลืองอยู่ถัดเข้ามา และสีเขียวจะอยู่ส่วนตรงกลางใบ หากเลี้ยงในที่ที่มีแสงแดดจัดสีบนใบจะสดใสสวยงามมาก เป็นพันธุ์ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ในประเทศญี่ปุ่น ต่อมาได้นำไปขยายพันธุ์และแพร่พันธุ์ในรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา เมื่อปี ค.ศ. 1973 (ณรงค์, 2534)

เข็มสามสี (ประชิด, 2524) มีลักษณะต้นเล็ก แตกกิ่งเป็นพุ่ม โคนต้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 12 เซนติเมตร ลำกิ่งมีขนาด 2.5-5 เซนติเมตร ส่วนใบออกที่ยอดเป็นคู่ ขนาดใบแคบเล็กยาวประมาณ 30 ถึง 62 เซนติเมตร กว้างประมาณ 2.7 เซนติเมตร ช่อดอกออกตั้ง รวมดอกเป็นกลุ่มสีเขียวอ่อน ไม่หอม ชอบอากาศที่ชุ่มชื้น แตกพุ่มงามมาก มีความสูงประมาณ 8 ฟุต (James, 1978)

ในปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาใช้ให้เกิดประโยชน์กับวงการเกษตรอย่างกว้างขวาง ซึ่งการเลี้ยงเนื้อเยื่อเข็มสามสีและพืชที่อยู่ในสกุล Dracaena ได้มีผู้ศึกษาการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่อยู่ในสกุล Dracaena ร่วมกับสกุล Cordyline ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Liliaceae (Graft, 1981) เหมือนกัน โดยนำมาเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกัน พบว่ามีความแตกต่างเกิดขึ้นน้อยมาก (Debergh และ Maene, 1976) จึงขอเสนอรายงานของพืชสกุล Dracaena ร่วมกับ สกุล Cordyline

Debergh (1975) ได้นำชิ้นส่วนตาข้างของ Dracaena deremensis var. Warneckei มาทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก สูตร MS ธาตุอาหารรองสูตรของ Nitsch และ Nitsch (1970) และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 2% ซึ่งเติม 2,4-D 2 mg/l ร่วมด้วย kinetin 1 mg/l เพื่อชักนำให้เกิด callus ได้ภายในเวลา 1 เดือน และเมื่อนำ callus มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เพิ่ม NOA 1 mg/l ร่วมด้วย 2iP 5 mg/l พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณการเกิด callus และกระตุ้นให้เกิดต้นได้ หลังจากนั้นนำ callus ที่มีต้นเจริญอยู่ลงเลี้ยงในอาหารสูตร MS ซึ่งเติม NOA 1 mg/l ร่วมด้วย kinetin 5 mg/l เพื่อเพิ่มปริมาณของยอด แล้วทำให้เกิดรากโดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 2 mg/l ต้นที่ได้มีขนาด 5 เซนติเมตร ในระยะเวลา 3 เดือน จำนวน 1-10 ต้น ต้นที่เกิดขึ้นมีลักษณะแตกต่างจากต้นเดิม (Debergh, 1976)

Kunisaki (1975) รายงานว่า การเพิ่มปริมาณของ Cordyline terminalis (L.) Kuth โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox เข้มข้น 10% นาน 10 นาที ตัดชิ้นส่วนให้

เหลือประมาณ 0.5 เซนติเมตร ตามความยาว จากนั้นฟอกด้วย Clorox เข้มข้น 5% นาน 5 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วจึงนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม thiamine-HCl 0.4 mg/l, nicotinic acid 0.5 mg/l, pyridoxin-HCl 0.5 mg/l และน้ำตาลซูโครส 30 mg/l โดยเพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตคือ BA 0.5 ppm พบว่า ตาข้างจะเจริญเป็นต้นขนาดเล็กได้ 10-23 ต้น ภายในเวลา 3 เดือน เมื่อต้องการให้เกิดรากก็ย้ายลงเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 ppm

Miller และ Murashige (1976) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Dracaena godseffiana โดยนำตายอด ขนาด 2-4 มิลลิเมตร มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 10% นาน 10 นาที ตามด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ เข้มข้น 20% ที่ผสม Tween 20 1-2 หยด นาน 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วอีก 3 ครั้ง แล้วจึงนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ซึ่งเติม i-inositol 100 mg/l, thiamine-HCl 0.4 mg/l, น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3% และเพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตคือ kinetin 0.3-1 mg/l, IAA 1 mg/l, AdS 120 mg/l และ NaP 170 mg/l นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 °c แสงประมาณ 1000 lux เพื่อชักนำให้เกิด callus หลังจากนั้นทำการเพิ่มยอดโดยย้ายลงเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตคือ kinetin 3 mg/l, IAA 1 mg/l, AdS 120 mg/l และ NaP 170 mg/l ความเข้มของแสงประมาณ 3000 lux แล้วทำให้เกิดรากโดยเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IAA 10 mg/l

Mee (1978) ได้ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Cordyline terminalis โดยนำตาข้างขนาด 2.5 เซนติเมตร มาฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol เข้มข้น 95% นาน 1 นาที หลังจากนั้นฟอกด้วย Clorox เข้มข้น 20% นาน 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ตัดชิ้นส่วนให้เหลือประมาณ 3 มิลลิเมตร ตามความยาว แล้วจึงนำมาเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS โดยใส่ 2,4-D 3 mg/l, thiamine hydrochloride 1 mg/l, myo-inositol 100 mg/l, น้ำมะพร้าวเข้มข้น 10% และ น้ำตาลซูโครส 20 mg/l นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28-30 °c แสงประมาณ 1000 lux สามารถชักนำให้เกิด callus ได้ภายในเวลา 2-4 สัปดาห์ เมื่อนำ callus มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 10% สามารถกระตุ้นให้เกิดต้นได้และเมื่อย้ายต้นอ่อนลงในสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 5 mg/l สามารถเกิดรากได้ พบว่า หลังจากนั้น 3 เดือน ต้นสามารถเพิ่มปริมาณได้จากเดิม 1 ต้น เป็น 200-300 ต้น

Chua et al. (1981) ได้ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Dracaena พันธุ์ Dracaena marginata var. tricolor โดยนำตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox เข้มข้น 10% พร้อมกับหยด Tween 20 นาน 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3-4 ครั้ง แล้วจึงนำมาเลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลงของ MS ที่ใส่น้ำมะพร้าวเข้มข้น 15% น้ำตาลซูโครส 20 mg/l และเติม 2,4-D 0.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้

ดีภายในเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อนำ callus มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งเติม kinetin 1.0 mg/l สามารถกระตุ้นให้เกิดต้นจำนวน 2-7 ต้น ภายในเวลา 10 สัปดาห์ เมื่อย้ายต้นอ่อนลงเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 1 mg/l สามารถเกิดรากได้ภายในเวลา 4 สัปดาห์

Debergh และ Maene (1981) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุล Dracaena และ Cordyline โดยนำตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol เข้มข้น 95% นาน 30 วินาที แล้วล้างด้วย $HgCl_2$ เข้มข้น 0.5% พร้อมกับหยด Tween 20 1-2 หยด นาน 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 10 นาที แช่ใน Clorox เข้มข้น 10% ที่มี teepol 1-2 หยด นาน 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นฟอกใน Clorox เข้มข้น 20% นาน 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วอีก 3 ครั้ง นาน 10 นาที พบว่า จะมีเปอร์เซ็นต์ตาที่ปลอดเชื้อสูงที่สุด เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม adS 30 mg/l, BA 0.5 mg/l และ IAA 0.3 mg/l สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ถึง 60 ต้น ภายใน 3-4 สัปดาห์ (Debergh และ Maene, 1983) การชักนำให้พืชออกรากโดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin 0.25 mg/l และผสมผงถ่าน 0-3% ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 50 และ 100 mg/l พบว่า ต้นมีการแตกยอดจำนวนมากและเกิดรากได้ดี (Debergh และ Maene, 1985)

Debergh และ Maene (1990) ได้ทำการศึกษาพืชสกุล Dracaena และ Cordyline โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol เข้มข้น 70% 3 วินาที หลังจากนั้นฟอกด้วย $HgCl_2$ พร้อมกับหยด Tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 10 นาที ตามด้วย Clorox เข้มข้น 10% พร้อมกับหยด Tween 20 นาน 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นแช่ใน Clorox เข้มข้น 20% นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วอีก 3 ครั้ง หลังจากนั้นตัดส่วนของลำต้นซึ่งมีตาเจริญ นำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก สูตร Murashige และ Skoog (1962) ธาตุอาหารรอง สูตร Nitsch และ Nitsch (1970) NaFeEDTA 88.7 μM และ น้ำตาลซูโครส 58.4 μM โดยเพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตคือ kinetin 4.6-46 μM พบว่าตาสามารถขยายตัวจากจุดกำเนิดเจริญเป็นต้นได้ 3-5 ต้น ในระยะเวลา 5-8 สัปดาห์ เมื่อย้ายลงเลี้ยงในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก สูตร Murashige และ Skoog (1962) ธาตุอาหารรอง สูตร Nitsch และ Nitsch (1970) NaFeEDTA 88.7 μM น้ำตาลซูโครส 58.4 μM และเติม kinetin 1.15 μM ต้นใหม่สามารถเพิ่มจำนวนต้นได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 6 สัปดาห์ สามารถกระตุ้นให้ต้นเกิดรากได้เมื่อย้ายต้นอ่อนลงในสูตรอาหาร MS ที่ปราศจากวุ้น และเติม IBA 2.5 μM

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง ส่วนตาข้างของเข็มสามสี (Dracaena marginata var. "Tricolor")

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
   2.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียดสำหรับชั่งสารเคมี
   2.2 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
   2.3 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ
   2.4 เตาแก๊ส
   2.5 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ สำหรับเตรียมอาหารและบรรจุอาหาร เช่น กระบอกตวง บีกเกอร์ ปิเปต และแท่งแก้วคนสารเคมี

3. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
   3.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) (ดูส่วน ประกอบในภาคผนวก)
   3.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ 6-furfurylaminopurine (kinetin)

4. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ
   4.1 ตู้เลี้ยงเนื้อเยื่อ
   4.2 เครื่องมือผ่าตัดชนิดต่างๆ เช่น มีดผ่าตัด ปากคีบ จานแก้ว เป็นต้น
   4.3 เครื่องมืออื่นๆ เช่น ตะเกียงแอลกอฮอล์

5. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ
   5.1 Alcohol 70%
   5.2 Mercuric chloride
   5.3 Clorox 10%
   5.4 น้ำยาจับใบ (Tween 20)

6. น้ำกลั่น

7. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งควบคุมแสงและอุณหภูมิ ช่วง 25-27 องศาเซลเซียส

8. อุปกรณ์การถ่ายภาพ

วิธีการ

1. การเตรียมอาหาร

ชั่งสารเคมีชนิดต่างๆ ตามสูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962) ทำเป็น Stock solution โดยเตรียม Macroelements ให้มีความเข้มข้นของ Stock solution เป็น 10 เท่า ของความเข้มข้นที่ต้องการใช้ ส่วน Microelements และ Organic compound ให้มีความเข้มข้นของ Stock เป็น 100 เท่า ของความเข้มข้นที่ต้องการใช้ เมื่อเตรียมอาหารจึงเตรียมมาใช้ตามต้องการ แล้วเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตตามปริมาตรที่คำนวณได้ในแต่ละสูตร จากนั้นเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร นำไปปรับ pH ของอาหารให้อยู่ในช่วง 5.5-5.7 ด้วย NaOH 1 N หรือ HCl 1 N เติมน้ำกลั่นให้ครบตามจำนวนที่ต้องการ และเติมวุ้น 8 กรัมต่อลิตร แล้วต้มให้ละลาย เทอาหารที่เตรียมลงในขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วปิดฝาให้เรียบร้อย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

2. การเตรียมตาข้างและการฟอกฆ่าเชื้อ

นำกิ่งเข็มสามสีตัดใบออกให้เหลือความยาวของใบประมาณ 1 เซนติเมตร และตัดส่วนของลำต้นให้มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปผ่านน้ำไหลนานอย่างน้อย 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยจุ่มในแอลกอฮอล์ เข้มข้น 70% นาน 1 นาที หลังจากนั้นฟอกด้วยสารละลาย Mercuric chloride เข้มข้น 0.5% ที่ผสมสารจับใบ (Tween 20) จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 3 นาที ตามด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว นาน 10 นาที แล้วแช่ในน้ำยาคลอรอกซ์ เข้มข้น 10% นาน 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที นำเอามีดผ่าตัดและปากคีบชุบแอลกอฮอล์เผาไฟฆ่าเชื้อ แล้วทิ้งไว้ให้เย็น ใช้ปากคีบจับลำต้นเข็มสามสีแล้วลอกกาบใบออก และใช้มีดผ่าตัดตัดส่วนของตาให้มีขนาด 2 ถึง 3 มิลลิเมตร

3. การย้ายชิ้นส่วน

ทำการเปลี่ยนอาหารทุกๆ 1 เดือน ตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในแต่ละการทดลอง

4. สภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของแสง 2500 lux โดยมีช่วงแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน

5. วิธีการทดลอง

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญของตาข้างเข็มสามสี

ใช้ตาข้างเข็มสามสี (Dracaena marginata var. "Tricolor") ในการทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design 3 ซ้ำ โดยให้ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D เป็น factor A มี 4 ระดับ คือ 2,4-D เข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และระดับความเข้มข้นของ kinetin เป็น factor B มี 4 ระดับ คือ kinetin เข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน บันทึกผลการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นทุกๆ 1 เดือน

การบันทึกผลการทดลอง

1. บันทึกการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน เมื่ออายุ 1 เดือน, 2 เดือน, 3 เดือน, 4 เดือน และ 5 เดือน โดยการให้คะแนน ซึ่งมีหลักเกณฑ์การให้คะแนน ดังนี้

คะแนน 1 : ตาเปลี่ยนเป็นสีดำหรือสีน้ำตาล ไม่มีการเจริญเติบโต (ภาพที่ 1a)

คะแนน 2 : ตาที่มีลักษณะสด สีขาว และยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (ภาพที่ 1b)

คะแนน 3 : ตาที่มีลักษณะสด ส่วนของตาขยายตัวเล็กน้อย มีสีขาวบริเวณตา และส่วนที่ฐานรอบๆตา มีลักษณะสีเขียวอ่อน (ภาพที่ 1c)

คะแนน 4 : ตาที่มีลักษณะสด เกิดรอยแยกขึ้นที่ตา ส่วนของตาเริ่มแตกออก มีสีขาวอมเหลืองบริเวณตา และส่วนที่ฐานรอบๆตา มีลักษณะสีเขียวเข้มขึ้น (ภาพที่ 1d)

คะแนน 5 : ตาที่มีลักษณะสด ส่วนของตาและฐานรอบๆตา แตกออก รอยแยกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และส่วนที่อยู่ระหว่างตาที่แตกเริ่มขยายตัว ชิ้นส่วนมีสีเขียวมากขึ้น (ภาพที่ 1e)

คะแนน 6 : ตาที่มีลักษณะสด ส่วนของตาที่แตกออกขยายตัวมากขึ้น เริ่มมีการสร้าง callus บริเวณชิ้นส่วน (ภาพที่ 1f)

คะแนน 7 : เกิดยอดเล็กๆ ใบเริ่มคลี่ออก callus ขยายตัวบริเวณชิ้นส่วนมากขึ้น (ภาพที่ 1g)

คะแนน 8 : ยอดเจริญขยายขนาดใหญ่ขึ้น ใบเจริญมากขึ้น เริ่มมีรากเกิดขึ้นมีการสร้าง callus สีเหลืองอ่อนรอบๆ ชิ้นส่วน แบบ friable callus (ภาพที่ 1h)

คะแนน 9 : ยอดเจริญสูงขึ้น ใบขนาดใหญ่ขึ้น รากเจริญมากขึ้น ชิ้นส่วนมีcallus สีเหลืองอ่อน

เพิ่มปริมาณมากกว่าคะแนน 8 (ภาพที่ 1i)

2. เมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 1 เดือน, 2 เดือน, 3 เดือน, 4 เดือน และ 5 เดือน ทำการบันทึกข้อมูลดังนี้
   1. เปอร์เซ็นต์การเกิด callus
   2. เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด
   3. เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และ callus
   4. เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนมีชีวิต ไม่เกิดยอด และ callus
   5. เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตาย
3. เมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 4 เดือน และ 5 เดือน ทำการบันทึกข้อมูลดังนี้
   1. จำนวนใบ
   2. ความสูงของยอด
   3. จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน
   4. จำนวนราก
   5. ความยาวราก

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มการทดลอง พฤษภาคม พ.ศ.2536

สิ้นสุดการทดลอง ธันวาคม พ.ศ.2536

ภาพที่ 1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ 2,4-D และ kinetin ระดับต่างๆ เมื่ออายุ 1 เดือน, 2 เดือน, 3 เดือน, 4 เดือน และ 5 เดือน

a แสดงการให้คะแนน 1 (กำลังขยาย 0.91x)

b แสดงการให้คะแนน 2 (กำลังขยาย 0.93x)

c แสดงการให้คะแนน 3 (กำลังขยาย 0.89x)

d แสดงการให้คะแนน 4 (กำลังขยาย 0.91x)

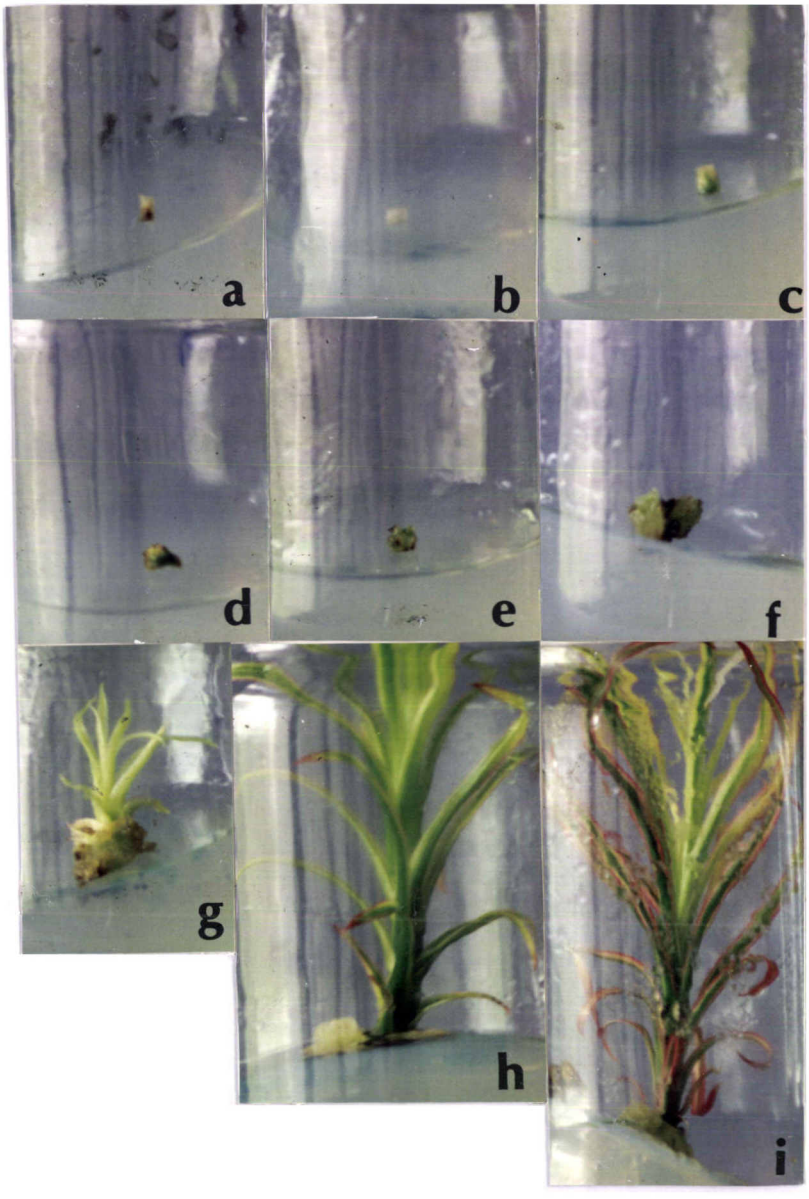
e แสดงการให้คะแนน 5 (กำลังขยาย 0.92x)

f แสดงการให้คะแนน 6 (กำลังขยาย 0.89x)

g แสดงการให้คะแนน 7 (กำลังขยาย 0.87x)

h แสดงการให้คะแนน 8 (กำลังขยาย 0.87x)

i แสดงการให้คะแนน 9 (กำลังขยาย 1.26x)


a
b
c
d
e
f
g
h
i

ผลการทดลอง

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญของตาข้างเข็มสามสี

การเจริญเติบโตของตาเมื่ออายุ 1 เดือน

ตาข้างเข็มสามสีที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนคือ kinetin โดย kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ ส่วน 2,4-D ทุกระดับมีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1)

สำหรับการใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ทุกระดับความเข้มข้น พบว่า มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุดเท่ากับ 4.27 ตาข้างสามารถขยายตัวจากจุดกำเนิดตา มีลักษณะสีขาวบริเวณตา และส่วนที่ฐานรอบๆตา มีลักษณะสีเขียวอ่อน ซึ่งไม่แตกต่างจากสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.67 ตาข้างแตกออก ส่วนของตาที่แตกออกขยายตัวมากขึ้น ชิ้นส่วนเริ่มสร้างแคลลัส โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 13.33% ซึ่งไม่แตกต่างจากสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0 และ 0.5 mg/l และ 2,4-D 0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.60, 3.27 และ 3.33 ตามลำดับ ตาข้างขยายตัวมากขึ้นและแตกออก ชิ้นส่วนเริ่มสร้างแคลลัสขึ้น โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 13.33%, 6.67% และ 13.33% ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ระดับความเข้มข้นอื่นๆ นอกเหนือจากที่กล่าวมานี้ ตาข้างขยายตัวจากจุดกำเนิดบ้างเล็กน้อย ส่วนที่ฐานรอบๆตา มีลักษณะสีเขียวอ่อน (ตารางที่ 1 และ 2)

ตารางที่ 1 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 1 เดือน

2,4-D (mg/l)	คะแนนการเจริญเติบโต (± S.E.) kinetin (mg/l) 0	0.5	1.0	1.5	ค่าเฉลี่ย
0	2.33±0.05	3.33±0.33	4.27±0.01	2.40±0.30	3.08±0.31
0.1	2.53±0.05	2.90±0.07	2.93±0.03	2.27±0.78	2.63±0.03
0.5	3.13±0.12	3.67±0.21	2.60±0.02	2.47±0.21	2.97±0.11
1.0	3.60±0.07	3.27±0.51	2.87±0.20	2.40±0.72	3.04±0.10
ค่าเฉลี่ย*	2.89±0.13 ab	3.27±0.05 a	3.12±0.21 a	2.39±0 a	

*ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวนอน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P<=0.05 เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 2 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 1 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%ชิ้นส่วนเกิดcallus	%ชิ้นส่วนเกิดยอด	%ชิ้นส่วนเกิดยอดและ callus	%ชิ้นส่วนมีชีวิตไม่เกิดยอดและ callus	%ชิ้นส่วนตาย
2,4-D	kinetin					
0	0	0.00	0.00	0.00	60.00	40.00
0.1	0	0.00	0.00	0.00	73.33	26.67
0.5	0	0.00	0.00	0.00	73.33	26.67
1.0	0	13.33	0.00	0.00	66.67	20.00
0	0.5	13.33	0.00	0.00	60.00	26.67
0.1	0.5	0.00	0.00	0.00	66.67	33.33
0.5	0.5	13.33	0.00	0.00	80.00	6.67
1.0	0.5	6.67	0.00	0.00	60.00	33.33
0	1.0	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
0.1	1.0	0.00	0.00	0.00	66.67	33.33
0.5	1.0	0.00	0.00	0.00	60.00	40.00
1.0	1.0	13.33	0.00	0.00	33.33	53.33
0	1.5	0.00	0.00	0.00	53.33	46.67
0.1	1.5	0.00	0.00	0.00	40.00	60.00
0.5	1.5	0.00	0.00	0.00	66.67	33.33
1.0	1.5	0.00	0.00	0.00	53.33	46.67

การเจริญเติบโตของตาเมื่ออายุ 2 เดือน

ตาข้างเข็มสามสีที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า ผลของ 2,4-D หรือ kinetin มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน โดย kinetin เข้มข้น 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 3.45 ส่วน 2,4-D เข้มข้น 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 3.64 (ตารางที่ 3)

สำหรับการใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ทุกระดับความเข้มข้น พบว่า มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยที่อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุด เท่ากับ 4.47 เนื้อเยื่อตาแตกออกเป็นยอดเล็กๆ ใบเริ่มคลี่ออก 3-5 ใบ ชิ้นส่วนเกิดยอด 13.33% และชิ้นส่วนเกิดแคลลัส 6.67% ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 4.17 ส่วนของตาขยายตัวมากขึ้น ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสสีเขียวอ่อนขยายตัวรอบๆตา 13.33% ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 4.04 ตาข้างขยายตัวมากขึ้น เกิดรอยแยกที่ตาจุดกำเนิดตามีสีขาว และส่วนที่ฐานรอบๆตา มีลักษณะสีเขียวเข้มขึ้น ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.80 ตาข้างขยายตัวมากขึ้น ส่วนของตาและฐานรอบๆตาแตกออก รอยแยกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ส่วนที่อยู่ระหว่างตาที่แตกเริ่มขยายตัว ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l; 2,4-D 0.5 และ 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l และ 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 2.80, 2.80, 2.93 และ 3.24 ตามลำดับ ตาข้างแตกออก แคลลัสขยายตัวรอบๆ ชิ้นส่วนมากขึ้น ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสเท่ากับ 20%, 6.67%, 6.67% และ 13.33% ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ นอกเหนือจากที่กล่าวมานี้ ส่วนของตาขยายตัวจากจุดกำเนิดบ้างเล็กน้อย ส่วนที่ฐานรอบๆ ตามีลักษณะสีเขียวอ่อน (ตารางที่ 3 และ 4)

ตารางที่ 3 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 2 เดือน

	คะแนนการเจริญเติบโต (± S.E.)				
2,4-D	kinetin (mg/l)				ค่าเฉลี่ย
(mg/l)	0	0.5	1.0	1.5	
0	2.27±0.38	2.80±0.48	1.13±0.03	2.93±0.51	2.28±0.25 b
0.1	2.20±0.44	3.80±0.28	2.00±0.65	1.87±0.29	2.47±0.30 b
0.5	4.04±0.48	4.47±0.70	2.80±0.09	3.24±0.23	3.64±0.21 a
1.0	4.17±0.14	2.73±0.61	2.93±0.10	1.87±0.56	2.93±0.34 ab
ค่าเฉลี่ย*	3.17±0.44 ab	3.45±0.26 a	2.22±0.26 c	2.48±0.19 bc	

* ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งและแนวนอน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P<=0.05 เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 4 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 2 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%ชิ้นส่วนเกิดcallus	%ชิ้นส่วนเกิดยอด	%ชิ้นส่วนเกิดยอดและ callus	%ชิ้นส่วนมีชีวิตไม่เกิดยอดและ callus	%ชิ้นส่วนตาย
2,4-D	kinetin					
0	0	0.00	0.00	0.00	33.33	66.67
0.1	0	0.00	0.00	0.00	33.33	66.67
0.5	0	0.00	0.00	0.00	73.33	26.67
1.0	0	13.33	0.00	0.00	66.67	20.00
0	0.5	20.00	0.00	0.00	26.67	53.33
0.1	0.5	0.00	6.67	0.00	60.00	33.33
0.5	0.5	13.33	6.67	0.00	73.33	6.67
1.0	0.5	0.00	6.67	6.67	26.67	60.00
0	1.0	0.00	0.00	0.00	6.67	93.33
0.1	1.0	0.00	0.00	0.00	33.33	66.67
0.5	1.0	6.67	0.00	6.67	46.67	40.00
1.0	1.0	6.67	0.00	0.00	33.33	60.00
0	1.5	6.67	0.00	0.00	33.33	60.00
0.1	1.5	0.00	0.00	0.00	26.67	73.33
0.5	1.5	13.33	0.00	0.00	53.33	33.33
1.0	1.5	0.00	0.00	0.00	26.67	73.33

99993

การเจริญเติบโตของตาเมื่ออายุ 3 เดือน

ตาข้างเข็มสามสีที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D และ kinetin มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ชิ้นส่วนมีคะแนนการเจริญเติบโตลดลงทุกระดับความเข้มข้น เนื่องจากภายหลังจากที่ตาเริ่มแตก บางชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำ ไม่มีการเจริญเป็นยอดหรือแคลลัส โดยที่ kinetin เข้มข้น 0.5 mg/l มีผลต่อการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุดคือเท่ากับ 2.65 โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ kinetin ความเข้มข้นอื่นๆ ส่วน 2,4-D เข้มข้น 1.0 mg/l มีผลต่อการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุดคือเท่ากับ 2.68 โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ 2,4-D ความเข้มข้นอื่นๆ (ตารางที่ 5)

การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ทุกระดับความเข้มข้น พบว่า มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุดคือ 3.67 ส่วนของตาขยายตัวมากขึ้น แคลลัสสีเขียวอ่อนขยายตัวรอบๆ ชิ้นส่วนมากขึ้น ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.20 ตาข้างแตกออก ยอดเจริญสูงขึ้นเล็กน้อย เกิดแคลลัสสีเหลืองอ่อนรอบๆชิ้นส่วน ซึ่งไม่แตกต่างจากชิ้นส่วนในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 และ 1.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 2.93 และ 3.13 ตามลำดับ เนื้อเยื่อตาแตกออก แคลลัสขยายตัวรอบๆ ชิ้นส่วนมากขึ้น ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ นอกเหนือจากที่กล่าวมานี้ ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตลดลง บางชิ้นส่วนแสดงอาการตายมากขึ้น (ตารางที่ 5)

จากตารางที่ 6 พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.5 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงที่สุดเท่ากับ 40% รองลงมาได้แก่ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 26.67% อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและแคลลัส 20% อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดเท่ากับ 93.33% ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การตายต่ำที่สุดเท่ากับ 20%

ตารางที่ 5 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 3 เดือน

2,4-D (mg/l)	คะแนนการเจริญเติบโต * (± S.E.) kinetin (mg/l) 0	0.5	1.0	1.5	ค่าเฉลี่ย
0	1.87±0.01	2.40±0.21	1.13±0.03	2.20±0.21	1.90±0.15
0.1	2.07±0.66	3.20±0.70	2.13±0.75	1.87±0.65	2.32±0.14
0.5	1.93±0.13	2.27±0.69	2.93±0.05	3.13±0.59	2.57±0.12
1.0	3.67±0.03	2.73±0.01	2.13±0.75	2.20±0.70	2.68±0.19
ค่าเฉลี่ย	2.39±0.28	2.65±0.06	2.08±0.20	2.35±0.11	

* F-test แสดงค่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P<=0.05

ตารางที่ 6 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 3 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%ชิ้นส่วนเกิดcallus	%ชิ้นส่วนเกิดยอด	%ชิ้นส่วนเกิดยอดและ callus	%ชิ้นส่วนมีชีวิตไม่เกิดยอดและ callus	%ชิ้นส่วนตาย
2,4-D	kinetin					
0	0	0.00	0 00	0.00	20.00	80.00
0.1	0	0.00	0.00	0.00	26.67	73.33
0.5	0	0.00	0.00	0.00	13.33	86.67
1.0	0	26.67	0.00	0.00	66.67	20.00
0	0.5	20.00	0.00	0.00	13.33	66.67
0.1	0.5	0.00	6.67	6.67	40.00	46.67
0.5	0.5	0.00	0.00	20.00	0.00	80.00
1.0	0.5	6.67	6.67	6.67	13.33	66.67
0	1.0	0.00	0.00	0.00	6.67	93.33
0.1	1.0	0.00	0.00	0.00	26.67	73.33
0.5	1.0	6.67	0.00	6.67	46.67	40.00
1.0	1.0	6.67	0.00	0.00	13.33	80.00
0	1.5	0.00	0.00	6.67	26.67	66.67
0.1	1.5	0.00	0.00	0.00	26.67	73.33
0.5	1.5	40.00	0.00	0.00	0.00	60.00
1.0	1.5	20.00	0.00	0.00	0.00	80.00

14554

การเจริญเติบโตของตาเมื่ออายุ 4 เดือน

เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนเข็มสามสีในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D และ kinetin มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเข็มสามสีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ kinetin เข้มข้น 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุดคือเท่ากับ 2.53 โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ kinetin เข้มข้น 0, 1.0 และ 1.5 mg/l ส่วน 2,4-D เข้มข้น 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุดคือเท่ากับ 2.58 โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ 2,4-D เข้มข้น 0, 0.1 และ 1.0 mg/l (ตารางที่ 7)

การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ทุกระดับความเข้มข้น พบว่า มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเข็มสามสีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ในอาหารสูตร MS ที่ 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมด้วย kinetin 1.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุดคือเท่ากับ 3.53 แคลลัสสีเขียวอ่อนเพิ่มปริมาณมากขึ้น ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 และ 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l และ 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.20, 3.00 และ 2.87 ตามลำดับ ยอดเจริญขยายขนาดใหญ่ขึ้น ใบเจริญมากขึ้น ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0 mg/l และ 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 2.67 และ 2.33 ตามลำดับ ยอดเจริญสูงขึ้น แคลลัสขยายตัวรอบๆ ชิ้นส่วนมากขึ้น ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ นอกเหนือจากที่กล่าวมานี้ ชิ้นส่วนมีสีน้ำตาลจนถึงสีดำ แสดงอาการตายมากขึ้น (ตารางที่ 7)

จากตารางที่ 8 พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.5 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงที่สุดคือ 40% อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและแคลลัสเท่ากับ 20% อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0 และ 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l; 2,4-D 0 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l และ 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.5 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดเท่ากับ 100% ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l และ 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.5 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การตายต่ำที่สุดเท่ากับ 60%

[illegible]

จากตารางที่ 11 แสดงจำนวนใบ ความสูงของยอดและจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน เมื่ออายุ 4 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีความสูงของยอด จำนวนใบ และการเกิดรากสูงที่สุด ต้นสูงประมาณ 3.6 ซม. จำนวนใบเฉลี่ย 12 ใบ จำนวนยอด 1 ยอดต่อชิ้นส่วน จำนวนรากเฉลี่ย 2.33 ราก และความยาวรากเฉลี่ย 1.17 ซม. รองลงมาได้แก่ ชิ้นส่วนในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l ต้นสูงประมาณ 2.27 ซม. จำนวนใบเฉลี่ย 10.33 ใบ จำนวนยอด 1 ยอดต่อชิ้นส่วน ไม่มีรากเกิดขึ้น

ตารางที่ 7 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 4 เดือน

2,4-D (mg/l)	คะแนนการเจริญเติบโต* (± S.E.) kinetin (mg/l)				ค่าเฉลี่ย
	0	0.5	1.0	1.5	
0	1.13±0.01	1.60±0.15	1.00±0	2.20±0.07	1.48±0.11
0.1	1.00±0	3.20±0.65	1.60±0.07	1.07±0.01	1.72±0.39
0.5	1.60±0.16	2.33±0.56	2.87±0.51	3.53±0.64	2.58±0.25
1.0	2.67±0.40	3.00±0.65	1.80±0.22	2.40±0.74	2.47±0.10
ค่าเฉลี่ย	1.60±0.22	2.53±0.20	1.82±0.23	2.30±0.28	

* F-test แสดงค่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P<=0.05

ตารางที่ 8 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 4 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%ชิ้นส่วนเกิดcallus	%ชิ้นส่วนเกิดยอด	%ชิ้นส่วนเกิดยอดและ callus	%ชิ้นส่วนมีชีวิตไม่เกิดยอดและ callus	%ชิ้นส่วนตาย
2,4-D	kinetin					
0	0	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
0.1	0	0.00	0.00	0.00	20.00	80.00
0.5	0	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
1.0	0	13.33	0.00	0.00	20.00	66.67
0	0.5	6.67	0.00	0.00	0.00	93.33
0.1	0.5	0.00	6.67	13.33	20.00	60.00
0.5	0.5	0.00	0.00	20.00	0.00	80.00
1.0	0.5	6.67	13.33	6.67	0.00	73.33
0	1.0	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
0.1	1.0	0.00	0.00	0.00	13.33	86.67
0.5	1.0	6.67	0.00	6.67	26.67	60.00
1.0	1.0	6.67	0.00	0.00	0.00	93.33
0	1.5	0.00	0.00	6.67	20.00	73.33
0.1	1.5	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
0.5	1.5	40.00	0.00	0.00	0.00	60.00
1.0	1.5	20.00	0.00	0.00	0.00	80.00

การเจริญเติบโตของตาเมื่ออายุ 5 เดือน

เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนเข็มสามสีในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l เป็นเวลา 5 เดือน พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเจริญของชิ้นส่วนคือ kinetin โดยที่ kinetin เข้มข้น 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุดคือเท่ากับ 2.47 โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ kinetin เข้มข้น 1.0 และ 1.5 mg/l ส่วนความเข้มข้นของ 2,4-D ทุกระดับ พบว่า มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ 2,4-D 1.0 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุดคือเท่ากับ 3.07 รองลงมาได้แก่ 2,4-D 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 2.35 (ตารางที่ 9)

สำหรับการใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ทุกระดับความเข้มข้น พบว่า มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเข็มสามสีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุดเท่ากับ 3.27 ยอดเจริญสูงขึ้น ใบขนาดใหญ่ขึ้นและมีรากเกิดขึ้น ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.20 ยอดเจริญมากขึ้น ใบขนาดใหญ่ขึ้นและมีรากเจริญขึ้น ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 และ 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 2.93 และ 2.53 ตามลำดับ ยอดขยายขนาดมากขึ้น ใบเจริญมากขึ้น แคลลัสรอบๆ ชิ้นส่วนขยายตัวมากขึ้น ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ นอกเหนือจากที่กล่าวมานี้ ชิ้นส่วนมีสีน้ำตาลจนถึงสีดำ แสดงอาการตายเกิดขึ้น (ตารางที่ 9)

จากตารางที่ 10 พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมด้วย kinetin 1.0 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงที่สุดเท่ากับ 13.33% อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุดเท่ากับ 13.33% รองลงมาได้แก่ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดยอดและแคลลัสเท่ากับ 20% สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0, 0.1 และ 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0 mg/l; 2,4-D 0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l; 2,4-D 0 และ 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l และ 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.5 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุด 100% ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l และ 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การตายต่ำที่สุดเท่ากับ 66.67%

จากตารางที่ 11 แสดงจำนวนใบ ความสูงของยอด จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน จำนวนรากและความยาวรากของยอดที่มีอายุ 5 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีความสูงของยอด จำนวนใบ และการเกิดรากสูงที่สุด ต้นสูงประมาณ 6.4 ซม. ขอบใบมีสีแดง กลางใบสีเหลืองอ่อน ส่วนในสุดสีเขียว จำนวนใบเฉลี่ย 17 ใบ จำนวนยอดเฉลี่ย 1.33 ยอดต่อชิ้นส่วน จำนวนรากเฉลี่ย 6.67 ราก และความยาวรากประมาณ 2.83 ซม. รองลงมาได้แก่ ชิ้นส่วนในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l ความสูงของยอดประมาณ 4.07 ซม. กลางใบสีเขียวอมเหลือง ส่วนในสุดที่เขียว จำนวนใบเฉลี่ย 13 ใบ จำนวนยอดเฉลี่ย 1 ยอดต่อชิ้นส่วน ไม่มีรากเกิดขึ้น สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l มีจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนมากที่สุดเท่ากับ 1.67 ยอดต่อชิ้นส่วน ส่วนชิ้นส่วนในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l และ 2,4-D 0, 0.5 และ 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.5 mg/l ความสูงของยอดและจำนวนใบเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ชิ้นส่วนในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 และ 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.5 mg/l ไม่มีรากเกิดขึ้น

ตารางที่ 9 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเซ็มสามสี เมื่ออายุ 5 เดือน

	คะแนนการเจริญเติบโต (± S.E.)				
2,4-D	kinetin (mg/l)				ค่าเฉลี่ย
(mg/l)	0	0.5	1.0	1.5	
0	1.13±0.01	1.13±0.03	1.00±0	2.27±0.13	1.38±0.13
0.1	1.00±0	2.93±0.61	1.60±0.28	1.07±0.01	1.65±0.30
0.5	1.60±0.16	2.53±0.74	3.20±0.62	2.07±0.49	2.35±0.17
1.0	2.00±0.30	3.27±0.63	1.33±0.03	2.60±0.63	3.07±0.26
ค่าเฉลี่ย*	1.43±0.08 b	2.47±0.33 a	1.78±0.36 ab	2.00±0.16 ab	

* ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งและแนวนอน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P<=0.05 เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 10 ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 5 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%ชิ้นส่วนเกิดcallus	%ชิ้นส่วนเกิดยอด	%ชิ้นส่วนเกิดยอดและ callus	%ชิ้นส่วนมีชีวิตไม่เกิดยอดและ callus	%ชิ้นส่วนตาย
2,4-D	kinetin					
0	0	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
0.1	0	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
0.5	0	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
1.0	0	6.67	0.00	0.00	0.00	93.33
0	0.5	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
0.1	0.5	0.00	6.67	13.33	13.33	66.67
0.5	0.5	0.00	0.00	20.00	0.00	80.00
1.0	0.5	0.00	13.33	13.33	0.00	73.33
0	1.0	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
0.1	1.0	0.00	0.00	0.00	13.33	86.67
0.5	1.0	13.33	6.67	13.33	0.00	66.67
1.0	1.0	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
0	1.5	0.00	0.00	0.00	20.00	80.00
0.1	1.5	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
0.5	1.5	0.00	0.00	13.33	0.00	86.67
1.0	1.5	0.00	0.00	6.67	0.00	93.33

ตารางที่ 11 แสดงจำนวนใบเฉลี่ย, ความสูงเฉลี่ย, จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน, จำนวนรากเฉลี่ยและความยาวรากเฉลี่ยของยอดเข็มสามสีจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D เข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l ร่วมด้วย kinetin เข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l เป็นเวลา 4 เดือน และ 5 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		จำนวนใบเฉลี่ย		ความสูงเฉลี่ย (ซม.)		จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน		จำนวนรากเฉลี่ย		ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	
2,4-D	kinetin	อายุ 4 เดือน	อายุ 5 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 5 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 5 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 5 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 5 เดือน
0.1	0.5	10.33	15	2.27	4.07	1	1	-	-	-	-
0.5	0.5	12	17	3.60	6.40	1	1.33	2.33	6.67	1.17	2.83
1.0	0.5	8	12.33	1.43	1.57	1	1.67	0.33	0.35	0.33	0.67
0.5	1.0	7	11.33	1.27	1.93	1	1.33	0.33	0.67	0.33	1.17
0	1.5	1	4.67	0.01	0.13	0.33	0.33	-	0.35	-	0.50
0.5	1.5	1.67	4.67	0.10	0.27	0.33	0.67	-	-	-	-
1.0	1.5	-	1.33	-	0.07	-	0.67	-	-	-	-

วิจารณ์ผลการทดลอง

การเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างเข็มสามสี บนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l ควบกับ kinetin ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมด้วย kinetin 1.0 mg/l ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด การเกิดแคลลัสของตาข้างในอาหารที่เติมออกซินและไซโตไคนิน เนื่องจากไซโตไคนินจะส่งเสริมการทำงานของออกซินคือ ช่วยกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเกิดแคลลัส และทำให้แคลลัสมีการเจริญเติบโตดีขึ้น (Okazawa, Katsura และ Tagawa, 1966) ดังรายงานการทดลองของ Chua et al. (1981) ได้นำตาข้างของ Dracaena marginata var. Tricolor มาทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีภายใน 4 สัปดาห์ เช่นเดียวกับการทดลองของ Swamy และคณะ (1988) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Solanum melongena พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในปริมาณมาก และจากรายงานการทดลองของ Marita และ Sen (1989) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแครอท พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี ภายใน 10-12 วัน นอกจากนี้แล้วรายงานการทดลองของ Fitch และ Moore (1990) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย พบว่า ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในปริมาณมาก เช่นเดียวกับการทดลองของ Ahmed (1991) ได้นำส่วนใบอ่อนของ Moghania macrophylla ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในปริมาณมาก และจากรายงานการทดลองของ Liu และคณะ (1991) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Ipomea triloba พบว่า อาหารสูตรดัดแปลง MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ภายใน 12 สัปดาห์

การเกิดยอดเข็มสามสี พบว่า เนื้อเยื่อตาข้างเข็มสามสีสามารถเกิดยอดได้ผลดีที่สุด ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l ซึ่งการเกิดยอดของเข็มสามสีที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D และ kinetin นี้ อาจเกิดจาก 2,4-D หรือ kinetin มีผลไปกระตุ้นการแบ่งเซลบริเวณตาข้าง (สัมพันธ์, 2526; Krishnamoorthy, 1981) นอกจากนี้ อาจเกิดจาก 2,4-D หรือ kinetin ที่เติมลงในอาหารจะเพิ่มปริมาณไซโตไคนินภายในเนื้อเยื่อให้มากขึ้น ทำให้สมดุลย์ของอัตราส่วนระหว่างออกซิน กับไซโตไคนินเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของต้น (Skoog และ Miller, 1957; สัมพันธ์, 2526) ดังรายงานการทดลองของ Kabaláková (1985) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Digitalis lanata พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 mg/l ร่วมกับ kinetin 3 mg/l สามารถชักนำให้แคลลัสเกิดยอดได้ เช่นเดียวกับการทดลองของ Rai (1988) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Cassia podocarpa พบว่า ในอาหาร

ปริมาณมาก และจากรายงานการทดลองของ Mujib และคณะ (1990) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Coriandrum sativum L. พบว่า ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอดได้

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของเข็มสามสีในสภาพปลอดเชื้อ สรุปได้ดังนี้

1. สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด

2. สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดได้ดีที่สุด

เอกสารอ้างอิง

ณรงค์ โฉมเฉลา. 2534. เทคโนโลยีการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ. สมาคมไม้ดอกไม้ประดับแห่งประเทศไทย. กทม. 149-161. "เทคโนโลยีการผลิตไม้ประดับในสกุลดราเซียนา".

ประชิด วามานนท์. 2524. ไม้ประดับสกุลดราเซียนา คอดีไลน์ พลีโอเมลเล่. วารสารพืชสวน. 16 (4):51-70.

วิไลลักษณ์ สุวจิตตานนท์. 2528. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโกสน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กทม.

สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2526. ฮอร์โมนพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กทม. 147 น.

Ahmed, J., and Nag, K.K. 1991. Tissue culture studies on a lac host Moghania macrophylla, pp.375-381. In Trivedi, R.N.; Sarma, P.K.S.; and Singh, M.P. Environmental assessment. New Delhi, India.

Chua, B.U.; Kunisaki, J.T., and Sagawa, Y. 1981. In vitro propagation of Dracaena marginata 'Tricolor'. HortScience. 16:494.

Debergh, P. 1975. Intensified vegetative multiplication of Dracaena deremensis. Acta Hort. 54: 83-92.

----------. 1976. An in vitro technique for the vegetative multiplication of chemical plants of Dracaena and Cordyline. Acta Hort. 64: 17-19.

---------- and Maene, L.J. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Sci. Hortic. 14: 335-346.

----------. 1990. Cordyline and Dracaena, pp. 337-351. In Philip, V.; David, R.; William, R., and Yashpal, P.S. (d.). Handbook of Plant Cell Culture. McGraw-Hill Inc. USA.

Fitch, M.M.M., and Moore, P.H. 1990. Comparison of 2,4-D and picloram for selection of long-term totipotent green callus cultures of sugarcane. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 20(3): 157-163.

Graf, A.B. 1981. Tropica. Roehrs, East Rutherford N.J. USA. : 1072-1078.

James Underwood, C. 1978. Foliage house plants. Time-Life Books Inc. Canada. : 107-108.

Kabaláková, M. 1985. Callus and suspension culture of Digitalis lanata. Acta Universitatis Agriculturae Brno. 33(3): 319-327.

Krishnamoorthy, H.N. 1981. Plant Growth Substances. Tata McGraw-Hill Publishing Co.Ltd., New Delhi. 66 p.

Kunisaki, J.T. 1975. In vitro propagation of Cordyline terminalis (L.) Kunth. HortScience. 10(6): 601-602.

Liu, Q.C.; Kokubu, T., and Sato, M. 1991. Plant regeneration from Ipomoea triloba L. protoplasts. Japanese Journal of Breeding. 41 (1): 103-108.

Maene, L.J. and Debergh, P.C. 1983. Rooting of tissue cultured plants under in vivo conditions. Acta Hort. 131: 201-208.

---------- and Debergh, P. 1985. Liquid medium additions to estabilished cultured to improve elongation and rooting in vivo . Plant Cell Tissue and Organ Culture. 5: 22-33.

Maitra, R.K. and Sen, S.P. 1989. Production of ethylene and ethane by callus tissues of Daucus carota L. in presence of 2,4-disubstituted phenols. Plant Science (Limerick). 62 (1): 33-35.

Mee, G.W.P. 1978. Propagation of Cordyline terminalis from callus culture. HortScience. 13 (6): 660.

Miller, L.R. and Murashige, T. 1976. Tissue culture propagation of tropical foliage plants. In vitro. 12 (2): 793-813.

Mujib, A.; Bandyopadhyay, S.; Banerjee, S., and Ghosh, P.D. 1990. Somatic embryogenesis from hypocotyl callus of coriander (Coriandrum sativum L.). Horticultural Journal. 3 (12): 59-62.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissure culture physiol Plant. 15 : 473-497

Okazawa, Y.; N. Katsura, and T. Tagawa. 1966. Effect of auxin and cytokinin on the development and differentiation of potato tissue culture in vitro. Physiol. Plant. 20: 262-269.

Rai, P.P. 1988. Anthraquinone formation in callus cultures of Cassia podocarpa. Journal of Natural Products. 51 (3): 492-495.

Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue culture in vitro. Symp. Soc. Exp. Biol. 11: 118-137.

Swamy, M.S.; Christopher, T., and Subhash, K. 1988. Multiple shoot formation in embryo culture of Solanum melongena. Current Science. 57 (4): 197-198.

ภาคผนวก

สูตรอาหารดัดแปลงของ Murashige and Skoog (1962)

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณ (mg/l)
$(NH_4)NO_3$	1650
KNO_3	1900
$CaCl.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3	6.2
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
KI	0.83
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
$FeSO_4.7H_2O$	27.8
$Na_2EDTA.2H_2O$	37.3
Myo-inositol	100
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Glycine	2.0
Sucrose	20 g
น้ำมะพร้าว	150 ml/l

ตารางผลทางสถิติที่ 1 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 1 เดือน

SOURCE	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	15	14.87	0.99	2.36*	1.97	2.62
2,4-D	3	1.48	0.49	1.17NS	2.90	4.46
kinetin	3	8.38	2.76	6.64**	2.90	4.46
2,4-D, kinetin	9	5.01	0.56	1.13NS	2.19	3.01
Error	32	13.47	0.42			
Total	47	28.36				

Grand Mean = 2.93 C.V. = 22.14% S.E = 0.37

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผลทางสถิติที่ 2 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 2 เดือน

SOURCE	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	15	39.62	2.64	3.07**	1.97	2.62
2,4-D	3	13.06	4.35	5.06NS	2.90	4.46
kinetin	3	12.01	9.01	10.48**	2.90	4.46
2,4-D, kinetin	9	14.55	1.67	1.94NS	2.19	3.01
Error	32	27.66	0.86			
Total	47	67.28				

Grand Mean = 2.83 C.V. = 32.77% SE = 0.54

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผลทางสถิติที่ 3 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 3 เดือน

SOURCE	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	15	17.71	1.18	1.24^{NS}	1.97	2.62
2,4-D	3	4.33	1.44	1.52^{NS}	2.90	4.46
kinetin	3	1.94	0.65	0.68^{NS}	2.90	4.46
2,4-D, kinetin	9	11.44	1.27	1.34^{NS}	2.19	3.01
Error	32	30.02	0.95			
Total	47	48.03				

Grand Mean = 2.37 C.V. = 41.13% S.E = 0.56

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผลทางสถิติที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 4 เดือน

SOURCE	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	15	27.41	1.83	1.71^{NS}	1.97	2.62
2,4-D	3	7.32	2.44	2.28^{NS}	2.90	4.46
kinetin	3	6.63	2.21	2.07^{NS}	2.90	4.46
2,4-D, kinetin	9	13.46	1.50	1.40^{NS}	2.19	3.01
Error	32	34.46	1.07			
Total	47	61.77				

Grand Mean = 2.06 C.V. = 50.21% S.E = 0.60

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผลทางสถิติที่ 5 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างเข็มสามสี เมื่ออายุ 5 เดือน

SOURCE	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	15	32.84	2.19	2.19^{NS}	1.97	2.62
2,4-D	3	12.10	4.03	4.03*	2.90	4.46
kinetin	3	10.55	3.52	3.52*	2.90	4.46
2,4-D, kinetin	9	10.19	1.13	1.13^{NS}	2.19	3.01
Error	32	32.00	1.00			
Total	47	64.84				

Grand Mean = 1.90 C.V. = 52.63% S.E = 0.58

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร ท้องสมุด สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า