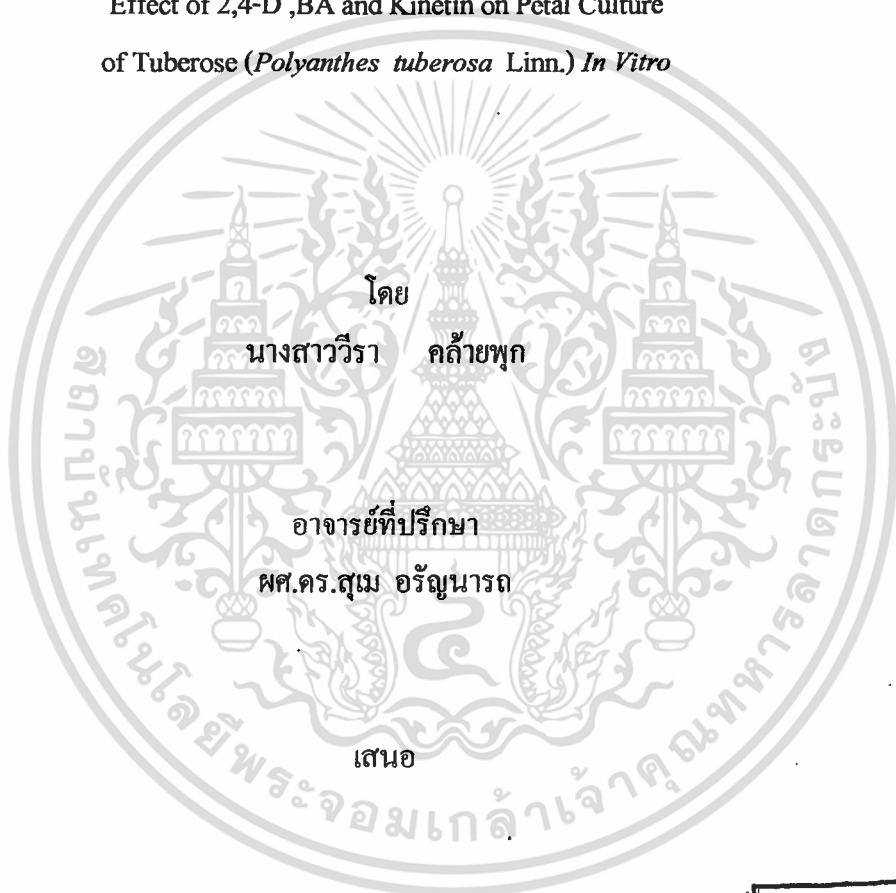


ปัญหาพิเศษ  
ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

ผลของ 2,4-D , BA และ Kinetin ต่อการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลั่น ไทย  
ในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of 2,4-D ,BA and Kinetin on Petal Culture  
of Tuberose (*Polyanthes tuberosa* Linn.) *In Vitro*



โดย

นางสาววีรา

คล้ายพุก

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.สุเม อรัญนารถ

เสนอ

ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

11725102  
b.....  
i.....

๒๗.

๑๘๕๓ ๗  
๒๕๔๕

เพื่อความเป็นสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช ๒๕๔๕

ลงหมู่.....

ลงทะเบียน 51255

วัน,เดือน,ปี - 8 ก.ค. ๒๕๔๗

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี  
ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

ผลของ 2,4-D ,BA และ Kinetin ต่อการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกกลิ่นไทย  
ในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of 2,4-D ,BA and Kinetin on Petal Culture  
of Tuberose (*Polyanthes tuberosa* Linn.) *In Vitro*

โดย

นางสาววีรา

คล้ายพุก

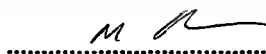
ได้พิจารณาเห็นชอบจาก



( ผศ.ดร.สุเม อรัญนารถ )

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว



( รศ.สมภพ จิตะวสันต์ )

หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

วันที่ 3 เดือน ๗ พ.ศ. ๒546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง ผลของ 2,4-D , BA และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของกลีบดอก  
ช่อกลิ้นไทยในสภาพปลอดเชื้อ  
Effect of 2,4-D ,BA and Kinetin on Petal Culture of Tuberose  
(*Polyanthes tuberosa* Linn.) *In Vitro*

โดย นางสาววิรา คล้ายพุก  
ภาควิชา พืชสวน  
สาขา พืชสวน  
คณะ เทคโนโลยีการเกษตร  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สุเม อรัญนารถ

### บทคัดย่อ

จากการศึกษากลีบดอกช่อกลิ้นไทยในสภาพปลอดเชื้อ จากการนำชิ้นส่วนกลีบดอกไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง MS ที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0,1,2 และ 3 mg/l ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0,1 และ 2 mg/l และ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0,1 และ 2 mg/l ร่วมกับ kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0,1 และ 2 mg/l เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 1 mg/l ร่วมกับ BA 2 mg/l ชิ้นส่วนมีการพัฒนาเป็น callus ได้ดีที่สุด ลักษณะ callus ที่ได้มีสีเขียว เป็นเม็ดๆเกาะตัวกันหลวมๆ และอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า callus ที่ได้มีลักษณะเป็น hard callus สีเหลือง

Title : Effect of 2,4-D ,BA and Kinetin on Petal Culture of Tuberose  
(*Polyanthes tuberosa* Linn.) *In Vitro*

By : Miss Veera Klaipuk

Major : Horticulture

Department : Horticulture

Faculty : Agriculture Technology

Advisor : Assist.Prof.Dr.Sumay Arunyanart

### Abstract

Effect of 2,4-D ,BA and kinetin for *in vitro* inflorescences of *Polyanthes tuberosa* Linn. (Tuberose) was studied. Petals were cultured on Murashige and Skoog (1962) medium supplemented with 0,1,2,3 mg/l 2,4-D and 0,1,2 mg/l BA and with 0,1,2 mg/l 2,4-D and 0,1,2 mg/l kinetin for 16 weeks. It was found that the great callus was formed on medium containing 1 mg/l 2,4-D and 2 mg/l BA and callus was green and friable. On the other hand ,callus obtained from medium with 2,4-D and kinetin was yellow and hard.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้ สามารถสำเร็จได้ด้วยดี จากความกรุณาชี้แนะจากอาจารย์ที่ปรึกษา  
ปัญหาพิเศษ ศศ.ดร.สุเม อรัญนารถ ให้แนวทางการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นจนการทดลองจบลงได้ด้วย  
ดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง

ขอขอบพระคุณพี่นักศึกษาปริญญาโททุกท่าน และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ที่ช่วยให้คำ  
ปรึกษาและแก้ไขปัญหอันเกิดจากความค้อยประสบการณ์ของข้าพเจ้าเสมอมา

ขอขอบพระคุณภาควิชา พืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอม  
เกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ให้การศึกษและอำนวยความสะดวกในเรื่องสถานที่ในการปฏิบัติการงานทดลอง  
ชั้นนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณแม่และพี่สาวที่คอยให้กำลังใจ และเพื่อนๆทุกคนที่คอยช่วย  
เหลือด้วยดีมาโดยตลอด



นางสาววีรา คล้ายพุก

## สารบัญ

| เรื่อง              | หน้า |
|---------------------|------|
| สารบัญตาราง         | ก    |
| สารบัญตารางภาคผนวก  | ข    |
| สารบัญภาพ           | ค    |
| คำย่อที่ใช้ในรายงาน | ง    |
| คำนำ                | 1    |
| การตรวจเอกสาร       | 2    |
| อุปกรณ์และวิธีการ   | 10   |
| ผลการทดลอง          | 17   |
| วิจารณ์ผลการทดลอง   | 30   |
| สรุปผลการทดลอง      | 31   |
| เอกสารอ้างอิง       | 32   |
| ภาคผนวก             | 34   |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

| ตารางที่   |   | หน้า |
|------------|---|------|
| ตารางที่ 1 | แสดงผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อ<br>คะแนนการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลี้น<br>ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่ออายุ 4 สัปดาห์.....                 | 20   |
| ตารางที่ 2 | แสดงผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อ<br>คะแนนการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลี้น<br>ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....                | 21   |
| ตารางที่ 3 | แสดงผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อ<br>คะแนนการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลี้น<br>ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....                | 22   |
| ตารางที่ 4 | แสดงผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผล<br>ต่อน้ำหนักชิ้นส่วนของกลีบดอกช่อนกลี้น<br>ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....                    | 23   |
| ตารางที่ 5 | แสดงผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผล<br>ต่อขนาด callus (ความกว้าง x ความยาว) ของกลีบดอกช่อนกลี้น<br>ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่ออายุ 16 สัปดาห์..... | 24   |
| ตารางที่ 6 | แสดงผลของ 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผล<br>ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลี้น<br>ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin เมื่ออายุ 8 สัปดาห์.....       | 26   |
| ตารางที่ 7 | แสดงผลของ 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผล<br>ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลี้น<br>ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....      | 27   |
| ตารางที่ 8 | แสดงผลของ 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผล<br>ต่อน้ำหนักชิ้นส่วนของกลีบดอกช่อนกลี้น<br>ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....          | 28   |

## สารบัญตารางภาคผนวก

| ตารางภาคผนวกที่   | หน้า |
|---|------|
| 1. องค์ประกอบของสูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962).....   | 34   |
| 2. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโต<br>ของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 4 สัปดาห์.....       | 35   |
| 3. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโต<br>ของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 12 สัปดาห์.....      | 35   |
| 4. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโต<br>ของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....      | 36   |
| 5. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อน้ำหนัก<br>ของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....                  | 36   |
| 6. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อความกว้าง<br>ของแคลลัสกลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....                  | 37   |
| 7. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อความยาว<br>ของแคลลัสกลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....                    | 37   |
| 8. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโต<br>ของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 8 สัปดาห์.....  | 38   |
| 9. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโต<br>ของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์..... | 38   |
| 10. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่มีผลต่อน้ำหนัก<br>ของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....            | 39   |
| 11. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่มีผลต่อความกว้าง<br>ของ callus กลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....          | 39   |
| 12. การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่มีผลต่อความยาว<br>ของ callus กลีบดอกช่อนกลั่นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....            | 40   |

## สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

|  |    |
|--|----|
| ภาพที่ 1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของcallus ที่เลี้ยงในอาหาร MS<br>( Murashige and Skoog,1962 ) ที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนแตกต่างกัน..... | 15 |
| ภาพที่ 2 แสดงลักษณะ callus ที่มีลักษณะเป็นเม็ดกลมๆ เล็กๆ สีเหลืองขุ่น.....   | 18 |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำย่อที่ใช้ในรายงานฉบับนี้

|         |                                   |
|---------|-----------------------------------|
| BA      | 6-Benzylaminopurine               |
| IAA     | Indole-3-acetic acid              |
| 2-4,D   | 2,4-dichlorophenoxy acetic acid   |
| kinetin | 6-Furfurylamino purine            |
| MS      | Murashige and Skoog (1962)        |
| NAA     | $\alpha$ -Naphthalene acetic acid |
| cm.     | เซนติเมตร                         |
| mg/l    | มิลลิกรัมต่อลิตร                  |
| ml/l    | มิลลิลิตรต่อลิตร                  |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของ 2,4-D , BA และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลี้นไทยในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of 2,4-D ,BA and Kinetin on Petal Culture  
of Tuberose (*Polyanthes tuberosa* Linn.) *In Vitro*

### คำนำ

ปัจจุบันถือได้ว่าไม้ดอกไม้ประดับเป็นปัจจัยที่ 5 ในการดำรงชีวิตของมนุษย์โลก แม้ประเทศที่กำลังพัฒนาดังเช่นประเทศไทย ชีวิตคนไทยและสังคมโดยเกี่ยวข้องกับไม้ดอกไม้ประดับอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ นับแต่โบราณกาลมีการใช้ดอกไม้ใบไม้ในชีวิตประจำวันในงานมงคลต่างๆ ของแต่ละคน แต่ละครอบครัวแต่ละสังคม ตลอดจนในงานพิธีในวันสำคัญของชาติ ศาสนาแลพระมหากษัตริย์ ครั้นเมื่อสิ้นชีวิตลงการตั้งสวดพระอภิธรรมและพิธีเผาศพ ยังนิยมใช้ดอกไม้ในรูปของพวงหรีดไปกราบเคารพศพด้วยและดอกไม้ใบไม้จะช่วยบรรเทาความเศร้าโศกลงได้อย่างประหลาด จะเห็นได้ว่าคนไทยแต่ละชีวิตมีค่าใช้จ่ายในเรื่องต้นไม้ดอกไม้ไม่น้อยเลย(สมเพียร,2532) คนไทยนิยมใช้ดอกช่อนกลี้นบูชาพระและประดับตกแต่งในงานศพ คนจีนนิยมใช้บูชาเทพเจ้าในวันตรุษจีนและเทศกาลสารทจีน นอกจากนี้จังหวัดที่ทำการประมงก็นิยมใช้ดอกช่อนกลี้นเช่นไหว้แม่ย่านางเรือก่อนออกเรือไปจับปลาด้วย อย่างไรก็ตามคนไทยบางคนก็ไม่นิยมนำดอกช่อนกลี้นมาประดับบ้าน เนื่องจากเชื่อว่าไม่เป็นมงคลแต่ปัจจุบันนี้ความเชื่อดังกล่าวได้ลดลงไปแล้วในต่างประเทศ เช่น ฮองกง สิงคโปร์ ญี่ปุ่น ซาอุดีอาระเบีย ลาว และประเทศทางยุโรปมักนิยมสั่งซื้อช่อนกลี้นจากไทยไปเช่นไหว้และประดับตกแต่งเช่นกัน (ณรงค์,2534) ในประเทศไทยมีการปลูกช่อนกลี้นกันบริเวณรอบ ๆ กรุงเทพมหานคร เช่น เขตหนองแขม ภาษีเจริญและจังหวัดใกล้เคียง เช่น ที่อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม นอกจากนี้ยังมีปลูกทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดอุดรธานี หนองคายและขอนแก่นเนื่องจากช่อนกลี้นมีกลิ่นหอมเย็นจึงอาจใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยเช่นเดียวกับมะลิ จำปี จำปา หรือไม้หอมอื่นๆ ได้(ณรงค์,2534) ซึ่งในปัจจุบัน ได้มีการนำดอกช่อนกลี้นไทยมาศึกษาวิจัยนำหอมระเหย โดยได้รับการสนับสนุนจากบริษัทนิธิกรณฟาร์ม แอนด์ เอสเซนเชียลออยล์จำกัดและสำนักงานเกษตรอำเภอห้วยกระเจา จังหวัดกาญจนบุรี เพราะดอกช่อนกลี้นเป็นที่ต้องการในตลาดน้ำหอม และสารสกัดสามารถนำไปใช้ในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชได้(วัชรภรณ์,2545) และยังพบด้วยว่า callus จากดอกช่อนกลี้นสามารถสกัดสารบางชนิดที่เป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอางค์อีกด้วย(Honda *et al.*1996)

งานวิจัยชิ้นนี้ จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาไปเป็น callus ของกลีบดอกช่อนกลี้นไทยในสภาพปลอดเชื้อ

## การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของชอนกลิน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

**Common name : Tuberos**

**Scientific name : *Polyanthes tuberosa* Linn.**

**Family : Amaryllidaceae**

ชอนกลิน (tuberos) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Polyanthes tuberosa* Linn. เป็นพืชอยู่ในวงศ์ว่านตีนทิส หรือ Amaryllidaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ แต่ได้แพร่กระจายพันธุ์ออกไปสู่ส่วนต่างๆ ของโลก โดยเฉพาะในเขตร้อน เป็นเวลาช้านานมาแล้ว ลักษณะทั่วไปของชอนกลินมีดังต่อไปนี้

**ราก** ชอนกลินมีระบบรากฝอย รากมีสีน้ำตาลขนาดเล็ก มีจำนวนมากไม่มากนัก มีขนาดสั้นจนถึงยาวเป็นพืด

**หัว** ชอนกลินเป็นไม้หัวแบบ tuber ซึ่งใช้เป็นแหล่งสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน รอบ ๆ tuber จะมีตาโดยรอบ ซึ่งจะเจริญเติบโตไปเป็นลำต้น (shoot) หรือหัว (tuber) ต่อไป

**ใบ** เจริญมาจากฐานของหัว มีลักษณะเรียวยาว แฉก มีความยาวประมาณ 30-40 เซนติเมตร กว้าง 2-3 เซนติเมตร ใบมีสีเขียวสด และมีจุดสีแดงที่ฐานใบ กลางใบห่อเข้าหากัน ใบหนาพอสมควร ใบล่างจะมีขนาดเล็กกว่าใบที่อยู่ติดถัดขึ้นมา ใบที่แตกออกมาใหม่จะตั้งขึ้น ส่วนใบที่แก่จะห้อยลง

**ช่อดอก** เจริญมาจากโคนของหัว เช่นเดียวกับหอม ช่อดอกแทงออกมาจากบริเวณปลายสุด (terminal) ก้านดอกใหญ่ แข็งแรง มีสีเขียวและตั้งตรงในแนวตั้ง โดยไม่ต้องใช้ไม้ช่วยค้ำจุน ช่อดอกเป็นแบบ spike ยาวประมาณ 30-80 เซนติเมตร ดอกเมื่อบานจะมีสีขาว เป็นแบบสมบูรณ์เพศ (perfect flower) มีกลีบดอก (petal) เชื่อมติดกัน รูปร่างคล้ายกรวยโค้ง ยาวประมาณ 4-6 เซนติเมตร ดอกเริ่มบานตั้งแต่ตอนเย็น โดยทยอยบานจากตอนล่างของช่อดอกขึ้นมาเรื่อยๆ เมื่อดอกบานจะมีกลิ่นหอมเย็น (ณรงค์, 2534)

## พันธุ์ช่อนกลีน

แม้จะเป็นที่นิยมปลูกกันมาช้านานแล้ว แต่ก็เป็นที่น่าประหลาดใจว่า ความผันแปรใน ลักษณะต่าง ๆ ของช่อนกลีนที่มีปลูกกันอยู่ในขณะนี้มีน้อยมาก เท่าที่พบในประเทศไทย คือความแตกต่างในลักษณะของดอก คือพันธุ์ที่มีกลีบดอกไม่ซ้อน กับพันธุ์ที่มีกลีบดอกซ้อน ซึ่งเรียกดอกกลีบซ้อนว่าดอกช่อนชู ส่วนดอกกลีบไม่ซ้อนเรียกว่าดอกช่อนกลีน (ชวลิตและสุควาศี,2540)

### พันธุ์ที่นิยมปลูก

1. ช่อไข่มุก (the Pearl) เป็นพันธุ์ที่มีกลีบดอกซ้อน ดอกเกาะกันแน่น มีดอกสีขาวบริสุทธิ์ กลิ่นหอมรุนแรง จัดเป็นพันธุ์ที่มีคุณภาพดี และนิยมปลูกเป็นการค้ามากพันธุ์หนึ่ง
2. เม็กซิกัน เอเวอร์บลูมมิ่ง (Mexican Everblooming) กลีบดอกมีชั้นเดียวดอกย่อยเรียงตัวกันอยู่หลวม ๆ
3. ทอลดับเบิล (Tall Double) ดอกบานดีกว่าและมีสีขาวบริสุทธิ์กว่าช่อไข่มุก ช่อดอกยาวประมาณ 60 เซนติเมตร
4. ช่อไข่มุกแคระ (Dwarf Pearl) มีกลีบดอกซ้อน ก้านช่อดอกยาวประมาณ 30 เซนติเมตร (วิจิต,2540)

## สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Regulator Chemicals) (คำณูญ,2542)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Regulator Chemicals) เป็นสารอินทรีย์ซึ่งไม่จำกัดว่าพืชสร้างเองหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น และถ้าใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็จะสามารถกระตุ้น ยับยั้ง หรือเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาในพืชได้

ฮอร์โมนพืช (Plant Hormone) เป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นในปริมาณเล็กน้อยและมีผลในการเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาในพืชนั้นๆ อาจมีความหมายรวมถึงวิตามินบางชนิด แต่ไม่รวมถึงอาหารที่พืชสร้างขึ้น

เพื่อให้เข้าใจง่ายขึ้นอาจกล่าวได้ว่า PGRC (คำย่อของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช) มีความหมายรวมถึงฮอร์โมนพืช และสารที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้นมาใช้ประโยชน์ ในทางเกษตรเราไม่อาจใช้ฮอร์โมนพืชได้โดยตรง เนื่องจากสารดังกล่าวทำได้ยากและใช้ต้นทุนสูง ดังนั้นสารที่ใช้อยู่ทุกวันนี้จึงเป็นสารสังเคราะห์แทบทั้งสิ้น ถ้าจะกล่าวให้ถูกต้องจึงควรเรียกรวมว่า PGRC

สารหลายชนิดมีผลต่อการเติบโตของพืชหรือแม้กระทั่งการออกดอก แต่สารเหล่านี้อาจไม่ใช่ PGRC ก็ได้ เมื่อพิจารณาจากคำจำกัดความของ PGRC เพื่อความเข้าใจที่ถูกต้องจึงควรทราบดังต่อไปนี้

1. ต้องเป็นสารอินทรีย์ ซึ่งจะต้องประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นหลัก มีสารหลายชนิดที่สามารถกระตุ้นหรือเร่งการเติบโตของพืชได้ เช่น ปุ๋ยชนิดต่างๆ หรือแม้แต่โพแทสเซียมซึ่งใช้เร่งการออกดอกของมะม่วง แต่สารเหล่านี้ไม่จัดเป็น PGRC เนื่องจากไม่ใช่สารอินทรีย์

2. ใช้หรือมีในปริมาณเล็กน้อยเท่านั้นก็สามารถแสดงผลต่อพืชได้ ส่วนใหญ่แล้วที่ใช้กันอยู่ทั่วไปจะใช้ความเข้มข้นต่ำมากๆ เช่น 1 mg/l ก็สามารถมีผลต่อพืชได้ บางครั้งอาจใช้ถึง 5,000 mg/l ซึ่งก็ยิ่งถือว่าความเข้มข้นต่ำ ความเข้มข้นที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารและจุดประสงค์ที่ต้องการ

3. ไม่ใช่อาหารหรือธาตุอาหารของพืช สารพวกน้ำตาล กรดอะมิโน และไขมันถึงแม้ว่าจะเป็นสารอินทรีย์และมีผลต่อการเติบโตของพืช แต่ก็ไม่จัดว่าเป็น PGRC สารเหล่านี้เป็นอาหารของพืชโดยตรง ธาตุอาหารต่างๆ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เป็นวัตถุดิบในการสร้างอาหารและไม่จัดเป็นสารอินทรีย์ จึงไม่จัดอยู่ในข่ายที่จะเป็น PGRC เช่นกัน

PGRC เป็นสารกลุ่มใหญ่ ประกอบด้วยสารชนิดต่างๆ มากมายซึ่งสามารถแยกออกเป็นหมวดหมู่ตามคุณสมบัติซึ่งแตกต่างกันได้ดังนี้

#### 1. ออกซิน (auxin)

สารในกลุ่มนี้มีทั้งที่พืชสร้างขึ้นเอง (ฮอร์โมน) และสารสังเคราะห์มีหน้าที่ควบคุมการขยายตัวของเซลล์ การเติบโตของใบ การติดผล การเกิดรากและเกี่ยวข้องกับกระบวนการอื่นๆ อีกมากมาย สารออกซินที่ใช้ในการเกษตรส่วนใหญ่เป็นสารสังเคราะห์ โดยใช้ประโยชน์ในการเร่งรากของกิ่งตอนหรือกิ่งปักชำ ช่วยเปลี่ยนเพศดอกของพืชบางชนิด ช่วยติดผล ป้องกันผลร่วงหรือขยายขนาดผล ออกซินบางชนิดใช้กันมากเพื่อการกำจัดวัชพืช

#### 2. จิบเบอเรลลิน (gibberellin)

สารกลุ่มนี้พืชสร้างขึ้นเองได้ และยังมีเชื้อราบางชนิดสร้างสารนี้ได้ จึงมีการเลี้ยงเชื้อราเหล่านี้เพื่อนำมาสกัดสารจิบเบอเรลลินออกมาใช้ประโยชน์ ปัจจุบันยังไม่สามารถสังเคราะห์สารนี้ได้ในห้องปฏิบัติการ จึงทำให้สารชนิดนี้มีราคาสูง จิบเบอเรลลินมีหน้าที่ควบคุมการยืดตัวของเซลล์ การติดผล การเกิดดอก เร่งการเจริญเติบโตของต้นพืช ชาวสวนองุ่นใช้ประโยชน์จากจิบเบอเรลลินกันมาก โดยใช้ในการยืดช่อผล และปรับปรุงคุณภาพของผล เป็นต้น

### 3. ไซโตไคนิน (cytokinins)

มีหน้าที่ควบคุมการแบ่งเซลล์ การเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบการแตกแขนงสารกลุ่มนี้ใช้ประโยชน์ทางพืชสวนน้อยมากส่วนใหญ่ใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่ปัจจุบันเริ่มนำมาใช้เร่งการแตกตาข้างของพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งในการขยายพันธุ์พืชโดยการติดตา

### 4. เอทิลีนและสารปล่อยเอทิลีน (ethylene and ethylene releasing compound)

สารเอทิลีนเป็นก๊าซ ซึ่งพบได้ทั่วไป แม้กระทั่งในควันไฟก็มีเอทิลีนเป็นองค์ประกอบพืชสามารถสร้างเอทิลีนได้เอง จึงจัดเป็นฮอร์โมนพืชชนิดหนึ่ง เอทิลีนมีหน้าที่ควบคุมการออกดอก การแก่และการสุกของผล และเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล อาจกล่าวรวมๆได้ว่า เอทิลีนมีหน้าที่กระตุ้นให้พืชแก่ตัวได้เร็วขึ้น การใช้ประโยชน์จากเอทิลีนในแปลงปลูกกระทำไต่ยากเนื่องจากเอทิลีนเป็นก๊าซ ดังนั้นจึงมีการสังเคราะห์สารต่างๆ ให้อยู่ในรูปของแข็งหรือของเหลวที่สามารถปลดปล่อยก๊าซเอทิลีนออกมาได้ ซึ่งปัจจุบันได้นำมาใช้ประโยชน์ในการเร่งดอกสับประรด เร่งการแก่ของผลไม้บนต้น เร่งการไหลของยางพารา

### 5. สารชะลอการเจริญเติบโต (plant growth retardants)

สารกลุ่มนี้ไม่พบตามธรรมชาติในพืช เป็นกลุ่มของสารซึ่งสังเคราะห์ขึ้นมาทั้งหมด คุณสมบัติหลักของสารกลุ่มนี้คือ ยับยั้งการสร้างหรือการทำงานของจิบเบอเรลลิน ดังนั้นลักษณะของพืชที่ได้รับสารเหล่านี้จึงมักแสดงออกในทางที่ตรงกันข้ามกับผลของจิบเบอเรลลิน ประโยชน์ของสารชะลอการเจริญเติบโตมีหลายอย่าง เช่น ลดความสูงของต้น ทำให้ปล้องสั้นลง ช่วยในการออกดอกและติดผลของพืชบางชนิด

### 6. สารยับยั้งการเจริญเติบโต (plant growth inhibitors)

สารกลุ่มนี้พืชสร้างขึ้นมาเพื่อถ่วงดุลกับสารเร่งการเจริญเติบโต ไม่ให้พืชเติบโตมากเกินไป สารกลุ่มนี้ยังควบคุมการพักตัว การหลุดร่วงของใบ ดอก ผล หรือแม้กระทั่งควบคุมการออกดอกของพืช ปัจจุบันมีการใช้สารสังเคราะห์ที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช เพื่อประโยชน์ทางการเกษตร เช่น ทำให้พืชแตกกิ่งแขนงมากขึ้น ยับยั้งการเกิดหน่อยาสูบ เร่งการออกดอกของพืชบางชนิด

### 7. สารอื่นๆ

เป็นสารที่ไม่อาจจัดอยู่ในกลุ่มใดได้กลุ่มหนึ่งข้างต้นได้ เนื่องจากมีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป เช่นสารเร่งการเจริญเติบโตทั่วไป สารทำให้ใบร่วง สารเพิ่มผลผลิต สารในกลุ่มนี้มีผลต่อพืชค่อนข้างจำกัด และมักใช้เพื่อประโยชน์อย่างใดอย่างหนึ่งโดยเฉพาะ (สมภพ,2539)

## ฮอร์โมนที่นิยมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (คำคุณ,2542)

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ฮอร์โมนที่นิยมใช้กันมากมี 2 กลุ่ม ได้แก่ ออกซิน และไซโตไคนิน ออกซินช่วยให้เซลล์ยึดตัวและเกิดราก ส่วนไซโตไคนินช่วยให้เกิดการแบ่งเซลล์และเกิดยอด ความจริงแล้วสารทั้งสองกลุ่มนี้จะมีปฏิกริยาร่วมกันและยังได้รับอิทธิพลจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อมอีกด้วย เช่น แสงและอุณหภูมิ ไม่ว่าจะป็นกรณีใดก็ตาม สิ่งที่สำคัญที่สุดก็คืออาหารจะต้องมีอัตราส่วนและชนิดของฮอร์โมนที่เหมาะสมที่สุด สำหรับพืชแต่ละชนิดที่นำมาเลี้ยงอาจมีออกซินหรือไซโตไคนินอยู่ในเนื้อเยื่ออยู่แล้วจำนวนหนึ่ง หรือเนื้อเยื่อเหล่านี้สามารถสังเคราะห์ฮอร์โมนลงไปในการเพาะเลี้ยง

พัฒนาการของชิ้นพืชในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาจพัฒนาขึ้นมาโดยที่ไม่จำเป็นต้องมีออกซินหรือไซโตไคนิน หรืออาจจะต้องการออกซินหรือไซโตไคนินอย่างใดอย่างหนึ่ง หรืออาจจะต้องการทั้งออกซินและไซโตไคนินก็ได้

## การเพาะเลี้ยงแคลลัส

แคลลัส (Callus) หมายถึง กลุ่มเซลล์พาราไคมา (Parenchyma) ที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อหรืออวัยวะอื่นๆ (คำคุณ,2542) ลักษณะของ callus แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ callus ชนิดที่เซลล์เกาะกันอยู่หลวมๆ แยกออกจากกันได้ง่าย เรียกว่า friable callus หรือ soft callus และอีกชนิดหนึ่งคือ callus ที่เกาะกันแน่น แยกออกจากกันได้ยาก เรียกว่า compact callus หรือ hard callus ทุกส่วนที่มีชีวิตของพืชสามารถชักนำให้เกิด callus ได้แต่ส่วนที่ประสบความสำเร็จมากที่สุดคือในพืชใบเลี้ยงคู่คือ คัพภะ (embryo) ใบเลี้ยง (cotyledon) ลำต้น (stem) ส่วนเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) ส่วนใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) และราก (root) ส่วนพืชใบเลี้ยงเดี่ยวคือ คัพภะ ใบอ่อน (young flower) และเมล็ดที่เพิ่งเริ่มงอก นอกจากนี้ยังมีเนื้อเยื่ออื่นๆ เช่น แคมเบียม (cambium) คอร์เทค (cortex) ไม้ (pith) ท่อลำเลียงอาหาร (phloem) (ประศาสตร์,2536;รังสฤษฎ์,2540)

ถึงแม้ว่าสามารถใช้อวัยวะทุกส่วน และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของพืชในการชักนำให้เกิด callus แต่การสร้าง callus ได้มากน้อยเพียงใด ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิด ตำแหน่ง และอายุของชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น กล่าวคือ ไม้ล้มลุกให้ callus ได้ดีกว่าไม้ยืนต้น พืชใบเลี้ยงคู่ให้ callus ดีกว่าใบเลี้ยงเดี่ยว ชิ้นส่วนพืชที่อายุน้อยกว่าให้ callus เร็วกว่าชิ้นส่วนที่มีอายุแก่กว่า ความต้องการอาหารในการชักนำให้เกิด callus นั้น แตกต่างกันไปในแต่ละชิ้นส่วนพืชซึ่งมาจากที่ต่าง ๆ กัน เช่น ชิ้นส่วนพืชที่มี cambium สามารถให้ callus ได้ โดยไม่ต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตในการกระตุ้นให้เกิด callus สีของเนื้อเยื่อ callus นั้นมีได้หลายสี เช่น สีขาว เหลือง ม่วง แดง เขียว ทั้งนี้ขึ้นกับ รังสีต่าง ๆ ภายในเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต ความเข้มข้นและสัดส่วนที่ขึ้นกับ genotype และระดับ สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีอยู่ภายในพืช นอกจากสารควบคุมการเจริญเติบโตแล้วยังมีปัจจัยอื่น ๆ อีกที่มีผลต่อการสร้าง callus เช่น

1. องค์ประกอบของแร่ธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยง โดยมากนิยมใช้สูตรอาหาร MS ที่อาจตัดแปลงหรือไม่มีการตัดแปลงสูตรที่ใช้
2. แสง พืชบางชนิดต้องการความมืดในการกระตุ้นการเกิด callus
3. อุณหภูมิ โดยทั่วไปอุณหภูมิในช่วง 22-28 องศาเซลเซียส ชักนำการเกิด callus ได้ดี (คำคุณ, 2542)

### การเพาะเลี้ยงพืชในวงศ์ Amaryllidacea ในสภาพปลอดเชื้อ

สุพจน์ (2534) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกของช่อนกลั่นไทย โดยนำมาฟอกใน ethyl alcohol เข้มข้น 70% นาน 30 วินาที Benlate 50 เข้มข้น 2% นาน 1 ชั่วโมงและ Clorox เข้มข้น 10% นาน 20 นาที แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารแข็งตัดแปลงสูตร Murashige และ Skoog (1962) ซึ่งเติม NAA เข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 mg/l ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 mg/l พบว่าส่วนของ ก้านช่อดอกพัฒนาเป็น callus ได้ดีบนอาหารที่เติม NAA เข้มข้น 2 mg/l ร่วมกับ kinetin เข้มข้น 2 mg/l และในอาหารที่เติม NAA เข้มข้น 2 mg/l ร่วมกับ kinetin ในช่วงความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 mg/l พบว่า callus สามารถเกิดรากได้ดี

Bapat and Narayanaswamy (1976) เลี้ยงส่วนต่างๆ ของว่านสีทศดอกสีแดง โดยเลี้ยงส่วนหัว ก้านช่อดอก เกสรตัวผู้ รังไข่ ไข่อ่อน และกลีบดอกบนอาหารของ MS โดยใช้ vitamin ของ Lin and staba (1961) โดยเติม auxin cytokinin และน้ำมะพร้าว ปรากฏว่า ในอาหารที่เติม 2,4-D 2 ppm เพียง ตัวเดียว เนื้อเยื่อส่วนหัวและก้านช่อดอกจะสามารถเจริญเป็น callus ได้ โดยใช้เวลา 4-6 สัปดาห์ แต่ ถ้ามี 2,4-D ร่วมกับ kinetin หรือน้ำมะพร้าว callus จะเกิดได้ดีขึ้น auxin ตัวอื่น เช่น IAA และ NAA จะเกิด callus ได้น้อย แม้จะใช้ร่วมกับ cytokinin ก็ตาม callus ที่ได้นี้ เมื่อย้ายอาหารไปสูตรเดิม แต่ ให้มีความเข้มข้นของ auxin ต่ำ จะเกิดเป็นต้นอ่อนได้ดีขึ้น ส่วนการเลี้ยงเกสรตัวผู้ รังไข่ ไข่อ่อน และกลีบดอกนั้น พบว่า เกสรตัวผู้ที่ยังอ่อนเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin และน้ำ มะพร้าว จะเกิด callus ได้ดี ส่วนรังไข่และไข่อ่อนไม่สามารถเกิด callus ได้ ก้านชูเกสรตัวผู้และก้าน

ชูเกสรตัวเมียเมื่อเลี้ยงไปในระยะแรกจะมีสีเขียวและยึดยาวออก แต่ไม่สามารถเกิด callus ได้ และกลีบดอกเมื่อเลี้ยงบนอาหารจะไม่มีการเจริญเติบโต

Seabrook and Cumming (1977) เลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของว่านสี่ทิศ นอกจากเนื้อเยื่อส่วนหัว (bulb scale) ซึ่งได้แก่เนื้อเยื่อส่วนใบ ก้านช่อดอก ก้านช่อดอกย่อย กลีบดอก รังไข่ เกสรตัวผู้ และ basal plate บนอาหาร MS ซึ่งเติม NAA; 2,4-D และ BA ในความเข้มข้นต่างๆ พบว่าส่วนฐานใบ ก้านช่อดอก ก้านช่อดอกย่อย และรังไข่ สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนใหม่ ส่วนปลายใบ กลีบดอก ลำต้น และเกสรตัวผู้ ไม่สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนใหม่ ส่วนปลายใบ กลีบดอก ลำต้น และเกสรตัวผู้ ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนใหม่ได้

Narayanaswamy *et al.* (1979) ทดลองเพาะเลี้ยงช่อกลิ้นส่วนราก, ใบประดับและกลีบดอกของช่อกลิ้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 2 mg/l หรือ kinetin เข้มข้น 1 mg/l พบว่าเกิดโครงสร้างคล้ายกับ embryoid มากมาย แต่ไม่เกิดจุดกำเนิดยอดโดยอาจมีเพียงการพัฒนาเป็นเพียงรากในระยะแรก

Bose *et al.* (1987) ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์ช่อกลิ้นในอาหารแข็งสูตร Murashige และ Skoog (1962) พบว่าส่วนที่ตัดจากลำต้นถูกพัฒนาเป็น callus และเกิดเป็นหน่ออ่อนอีกครั้งหนึ่ง โดยสูตรอาหารที่เติม 2,4-D เข้มข้น 0.1 mg/l มีผลต่อการพัฒนาเป็น callus ในอาหารที่เติม kinetin เข้มข้น 0.05-0.2 mg/l ทำให้ยอดเกิดเร็วกว่าราก เมื่อทำการขยาย callus แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA เข้มข้น 2 mg/l พบว่าเริ่มเกิดรากและยอดภายใน 15-20 วัน และเกิดหน่ออ่อนได้ดี หน่ออ่อนที่แตกทั้งหมดถูกย้ายปลูกในกระถางและมีการเจริญเติบโตได้ตามปกติ

Dinkelman *et al.* (1989) ใช้ชิ้นส่วนของ *Paramongaia weberbaueri* จากเนื้อเยื่อส่วนหัวมาเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหาร MS ที่มีส่วนผสมของ sucrose 3 % Difco Bacto-agar 0.8 % ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1-3 mg/l และ kinetin 0.5-2.0 mg/l ในชิ้นส่วนที่ใส่ลงไป ในอาหารที่มี NAA 1-2 mg/l หรือ kinetin 0.5 mg/l จะให้ห่วย่อย และ callus ตามลำดับ callus ที่ได้จะมีลักษณะเป็นตุ่มๆ ซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นห่วย่อยได้ เมื่อเปลี่ยนห่วย่อยที่ได้ลงในอาหารสูตรเดิม พบว่าจะเกิดการพัฒนานจนเกิดใบและราก

Gi and Tsay (1989) ได้เพาะเลี้ยงเกสรตัวผู้ซึ่งมี microspore ซึ่งเซลล์สืบพันธุ์เป็น haploid ของ ซ่อนกลีบบนอาหารสูตร Murashige และ Skoog ( 1962 ) ที่ไม่เติม Na-Fe EDTA แต่เสริมด้วย 2,4-D เข้มข้น 1 mg/l และซูโครสในอัตรา 3 % พบว่า callus มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็น embryoid และเจริญ เป็นหน่ออ่อนหลังจากให้ NAA เข้มข้น 0.2 mg/l และ kinetin เข้มข้น 2 mg/l ประมาณ 35 หน่ออ่อนที่เกิดขึ้นมี 8 หน่ออ่อนที่นำไปเลี้ยงจนกระทั่งถึงระยะออกดอกและแสดงความผันแปรให้เห็นในลักษณะ ของดอกคือ ความยาวของดอก จำนวนตาดอก ขนาดและสีของดอก

Mujib *et al.* (1991) ใช้ส่วนของตาดอกของว่านสี่ทิศมาเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหาร MS ที่เติมสาร ควบคุมการเจริญเติบโตหลายชนิดในระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า callus ที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA เข้มข้น 0.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอด และในอาหารที่เติม IBA สามารถชักนำให้เกิดราก และสามารถนำต้นไปปลูกลงแปลงได้



## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

#### 1. ชิ้นส่วนเริ่มต้น

1.1 กลีบดอกช่อนกลี้นไทยระยะแรกแย้มวัดจากปลายกลีบดอกประมาณ 1 เซนติเมตร

#### 2. สารเคมี

2.1 สารเคมีในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) (ตารางภาคผนวกที่ 1)

2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต

- สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน ได้แก่ 2,4-D
- สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA และ Kn

2.3 สารเคมีสำหรับฟอกฆ่าเชื้อ

- ethanol 70 เปอร์เซ็นต์
- clorox
- tween 20

#### 3. เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์

3.1 เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ บีเปต กระจกตวง แท่งแก้วคนสาร จานแก้ว (plate) ขนาดขนาดเล็ก

3.2 อุปกรณ์สำหรับย้ายชิ้นส่วนพืช ได้แก่ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar flow) ตะเกียงแอลกอฮอล์ ขวดใส่แอลกอฮอล์ มีคผ่าตัด จานแก้ว forcep ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

3.3 เครื่องชั่งไฟฟ้า

3.4 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

3.5 หม้อนึ่งความดันไอไฟฟ้า

3.6 ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ  $25 \pm 3$  องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอด Cool White วันละ 14 ชั่วโมง

3.7 กล้องถ่ายภาพพร้อมฟิล์ม

3.8 อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ ปากกา ดินสอ สมุดบันทึก ถุงพลาสติก ขางรัด และนาฬิกา

## วิธีการ

### 1. การเตรียมอาหาร

การเตรียม Stock solution ของอาหารพื้นฐาน Murashige and Skoog (1962) โดยเตรียม Stock solution ของ Macroelements ให้มีความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการใช้ และเตรียม Stock solution ของ Microelements ให้มีความเข้มข้นเป็น 100 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการ ดังนั้นในการเตรียมอาหารพื้นฐาน Murashige and Skoog (1962) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จะต้องใช้ Stock solution ของ Macroelements อย่างละ 100 มิลลิลิตร และจะใช้ Stock solution ของ Microelements อย่างละ 10 มิลลิลิตร

#### 1.1 การเตรียมอาหารสูตรชักนำ callus ตามวิธีการทดลอง

- ตวงน้ำกลั่น ประมาณ 300 มิลลิลิตรลงในกระบอกตวงปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
- เติม Stock solution ของอาหารสูตรพื้นฐาน Murashige and Skoog (1962) สำหรับการเตรียมอาหาร 1,000 มิลลิลิตร
- เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตตามปริมาณที่คำนวณได้ในแต่ละสูตร
- เติมน้ำตาล 30 กรัม ใช้แท่งแก้วคนจนกระทั่งละลายหมด
- ปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 850 มิลลิลิตร
- นำไปวัดค่า pH ให้ได้ประมาณ 5.5-5.7 โดยใช้ NaOH 1 N และ HCL 1 N ปรับ
- ปรับปริมาตรอีกครั้งให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร
- ชั่งวุ้น 8.5 กรัมต่อลิตร
- ต้มจนวุ้นละลายหมด แบ่งใส่ขวดขนาดเล็ก ขวดละ 10 มิลลิลิตร
- ปิดปากขวดแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไฟฟ้า โดยปรับใช้ที่ระดับความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

## 2. วิธีการทดลอง

**การทดลองที่ 1** ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ BA ที่เหมาะสมต่อการเกิด callus จากชิ้นส่วนปลายกลีบดอกของดอกช่อนกลั่นไทยระยะแรกแย้ม

### วิธีการทดลอง

1. นำดอกช่อนกลั่นไทยในระยะแรกแย้มมาทำการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1.1 นำดอกช่อนกลั่นไทยแช่น้ำยาที่โพลนาน 10 นาทีแล้วนำไปผ่านน้ำไหลอีก

10 นาที

1.2 ฟอกฆ่าเชื้อผิวหนังด้วย

- ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วินาที
- clorox 30 เปอร์เซ็นต์ + tween 20 ( 2 หยดต่อ 100 มิลลิลิตร) นาน 1 นาที
- clorox 10 เปอร์เซ็นต์ + tween 20 ( 2 หยดต่อ 100 มิลลิลิตร) นาน 1 นาที

1.3 ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที

2. นำดอกช่อนกลั่นที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาทำการผ่าตัดในสภาพปลอดเชื้อโดยตัดเอาแต่กลีบดอกกวัดจากปลายกลีบดอกลงมาประมาณ 1 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตระดับต่างๆ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD มี 12 treatment combinations 5 ซ้ำๆ ละ 3 ชั้น มี 2 ปัจจัย ดังนี้

ปัจจัย A คือ ความเข้มข้น 2,4-D มี 4 ระดับ คือ

- $a_1 = 0$  มิลลิกรัมต่อลิตร
- $a_2 = 1$  มิลลิกรัมต่อลิตร
- $a_3 = 2$  มิลลิกรัมต่อลิตร
- $a_4 = 3$  มิลลิกรัมต่อลิตร

ปัจจัย B คือ ความเข้มข้น BA มี 3 ระดับ คือ

- $b_1 = 0$  มิลลิกรัมต่อลิตร
- $b_2 = 1$  มิลลิกรัมต่อลิตร
- $b_3 = 2$  มิลลิกรัมต่อลิตร

แล้วนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 3$  องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน

การทดลองที่ 2 ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ kinetin ที่เหมาะสมต่อการเกิด callus จากกลีบดอกของดอกช่อนกลั่นไทย

#### วิธีการทดลอง

1. นำดอกช่อนกลั่นไทยในระยะแรกแย้มมาทำการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1.1 นำดอกช่อนกลั่นไทยแช่น้ำยาที่โพลนาน 10 นาทีแล้วนำไปผ่านน้ำอีก 10

นาที

1.2 ฟอกฆ่าเชื้อผิวด้วย

- ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วินาที
- clorox 30 เปอร์เซ็นต์ + tween 20 ( 2 หยดต่อ 100 มิลลิตร) นาน 1 นาที
- clorox 10 เปอร์เซ็นต์+ tween 20 ( 2 หยดต่อ 100 มิลลิตร) นาน 1 นาที

1.3 ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที

2. นำดอกช่อนกลั่นที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาทำการผ่าตัดในสภาพปลอดเชื้อโดยตัดเอาแต่กลีบดอกวัดจากปลายกลีบดอกลงมาประมาณ 1 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตระดับต่างๆ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD มี 9 treatment combinations 5 ซ้ำๆ ละ 3 ชั้น มี 2 ปัจจัย ดังนี้

ปัจจัย A คือ ความเข้มข้น 2,4-D มี 3 ระดับ คือ

- $a_1 = 0$  มิลลิกรัมต่อลิตร  
 $a_2 = 1$  มิลลิกรัมต่อลิตร  
 $a_3 = 2$  มิลลิกรัมต่อลิตร

ปัจจัย B คือ ความเข้มข้น Kn มี 3 ระดับ คือ

- $b_1 = 0$  มิลลิกรัมต่อลิตร  
 $b_2 = 1$  มิลลิกรัมต่อลิตร  
 $b_3 = 2$  มิลลิกรัมต่อลิตร

แล้วนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 3$  องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน

## การบันทึกข้อมูล

ทุกๆ การทดลองบันทึกผลทุกสัปดาห์ดังนี้

1. บันทึกการเจริญเติบโต callus ของกลีบดอกช่อนกลิ่นไทยด้วยการให้คะแนนโดยแบ่งระดับคะแนนออกเป็น

คะแนน 1 : ชิ้นส่วนเป็นสีดำหรือสีเขียว ไม่มีการเจริญเติบโต และไม่เกิด callus (ภาพที่ 1 A)

คะแนน 2 : ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำและเกิด callus สีเหลืองเล็กน้อย (ภาพที่ 1B)

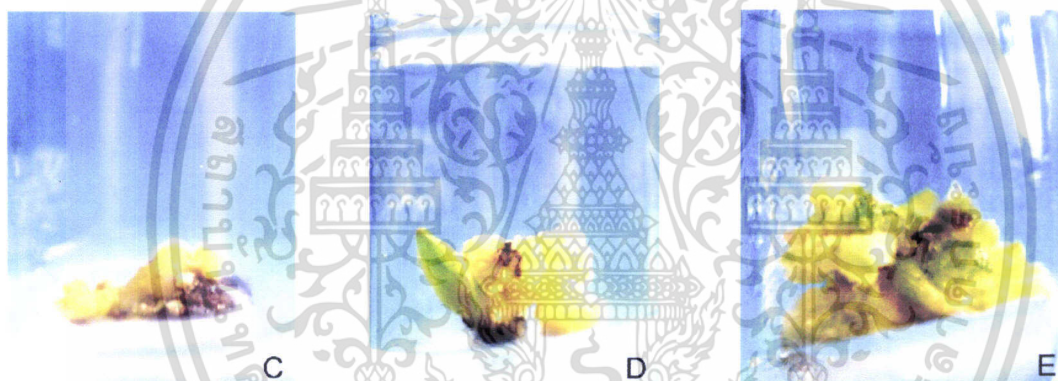
คะแนน 3 : ชิ้นส่วนเกิด hard callus สีเหลือง (ภาพที่ 1C)

คะแนน 4 : ชิ้นส่วนเกิด friable callus สีเหลือง (ภาพที่ 1D)

คะแนน 5 : ชิ้นส่วนเกิด friable callus สีเขียวมีลักษณะเป็นเม็ดๆ (ภาพที่ 1E)

2. ขนาด callus (เซนติเมตร) (วัดทุกสัปดาห์)

3. น้ำหนักสดของชิ้นส่วน (กรัม) (วัดทุก 4 สัปดาห์)



ภาพที่ 1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของ callus ที่เลี้ยงในอาหาร MS  
ที่มีระดับความเข้มข้นของ 2,4-D , BA และ kinetin ต่างๆกัน

|   |   |         |                 |
|---|---|---------|-----------------|
| A | = | คะแนน 1 | (0.58 x, 0.9 x) |
| B | = | คะแนน 2 | (1.05 x)        |
| C | = | คะแนน 3 | (1.33 x)        |
| D | = | คะแนน 4 | (1.11 x)        |
| E | = | คะแนน 5 | (1.14 x)        |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

## ระยะเวลาในการทำการทดลอง

|                 |        |      |
|-----------------|--------|------|
| เริ่มการทดลอง   | เมษายน | 2545 |
| สิ้นสุดการทดลอง | มกราคม | 2546 |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

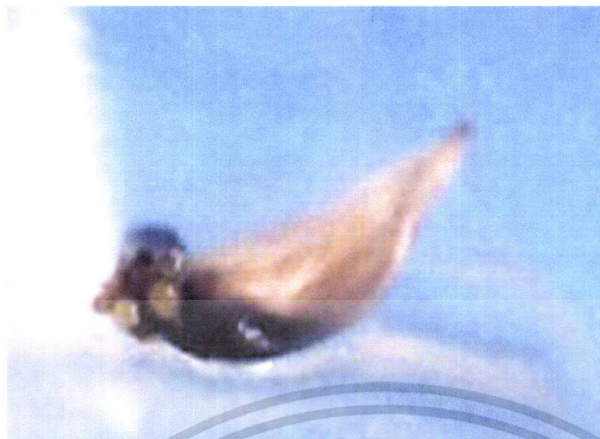
## ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ callus ของกลีบดอกช่อนกลั่นไทย

เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหาร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์(ตารางที่ 1) นำคะแนนการเจริญเติบโตมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชิ้นส่วนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ลักษณะการเกิด callus ของชิ้นส่วนจะเกิดบริเวณโคนของกลีบดอกค้ำในที่ถูกต้องก่อน และค่อยมีการเจริญพัฒนามาด้านข้างของชิ้นส่วน ส่วนมากเมื่อ callus เกิดการเจริญเติบโตเต็มที่ก็จะเจริญแตกออกมาจากค้ำในหรือเจริญตามผิวของกลีบดอกซึ่งส่วนมาก callus เหล่านี้จะมีสีเขียว เมื่อเจริญแตกออกมาจะกลายเป็นสีเหลือง โดยที่สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 2 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดคือ 3.27 callus มีลักษณะเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ และมีสีเหลือง ส่วนตัวชิ้นส่วนเริ่มแห้ง สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีคะแนนรองลงมา คือ 2.73 ลักษณะของ callus เกาะตัวกันอย่างหลวมๆ เช่นกันและตัว callus มีสีเหลือง ชิ้นส่วนแห้ง และมีระดับคะแนนเฉลี่ยต่ำสุด คือ 1 คะแนนในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0,1,2,3 mg/l และ BA ระดับความเข้มข้น 0,1,2 mg/l (ตารางที่ 1) ตัวชิ้นส่วนส่วนมากแห้งเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำ และพบว่าในบางชิ้นส่วนยังคงเป็นสีเขียวอยู่ แต่ไม่พบการพัฒนาเป็น callus

เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหาร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ นำคะแนนการเจริญเติบโตมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชิ้นส่วนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 2) โดยที่สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 2 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดคือ 4.53 callus มีลักษณะเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ และมีสีเหลืองปนเขียว ส่วนตัวชิ้นส่วนเริ่มแห้ง สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีคะแนนรองลงมา คือ 3.06 callus มีลักษณะเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ และมีสีเหลือง ส่วนตัวชิ้นส่วนแห้งมีสีน้ำตาล สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 2 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยคือ 1.86 ลักษณะ callus เป็นเม็ดกลมๆ เล็กๆ สีเหลืองเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะ callus ที่มีลักษณะเป็นเม็ดกลม เล็กๆ สีเหลืองเข้มขุ่น (3.7x)

ในบางส่วนไม่พบการพัฒนาเป็น callus สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยคือ 1.73 ลักษณะ callus ค่อนข้างเกาะตัวกันแน่นเป็นกระจุก ตัว callus เป็นสีเหลือง บางส่วนเป็นสีเหลืองปนขาวขุ่น สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 2 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยคือ 2.00 callus ที่พบบางส่วนมากเกาะตัวกันหลวมๆ มีสีเหลือง บางชิ้นส่วนยังคงสภาพสีเขียวอยู่ และบางส่วนพบว่ามี callus เป็นเม็ดขุ่น สีเหลือง และมีระดับคะแนนเฉลี่ยต่ำสุด คือ 1 คะแนนในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0,1,2,3 mg/l และ BA ระดับความเข้มข้น 0,1,2 mg/l ซึ่งไม่เกิดการพัฒนาเป็น callus

เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหาร MS เป็นเวลา 16 สัปดาห์ นำคะแนนการเจริญเติบโตมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชิ้นส่วนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ( $p \leq 0.01$ ) (ตารางที่ 3) โดยที่สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 2 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดคือ 4.53 ลักษณะ callus จะมีการเกาะตัวอย่างหลวมๆ และจะหลุดออกจากกันเมื่อมีการเปลี่ยนอาหาร ตัว callus เป็นสีเหลืองปนเขียว ส่วนตัวชิ้นส่วนเริ่มแห้ง สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีคะแนนรองลงมาคือ 3.26 ตัว callus เกาะตัวกันอย่างหลวมๆ เช่นกันและมีสีเหลือง ชิ้นส่วนแห้ง สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 2 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยคือ 2.13 ลักษณะ callus เกาะตัวกันแน่น ตัว callus เป็นสีเหลืองและพบบางส่วนเป็นเม็ดกลมๆ เล็กๆ สีเหลืองเข้มขุ่น สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น

คะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยคือ 2.20 ลักษณะ callus จะมีการเกาะตัวอย่างหลวมๆ และจะหลุดออกจากกันเมื่อมีการเปลี่ยนอาหารเช่นกัน ตัว callus มีสีเหลือง บางส่วนพบว่ามี callus เป็นเม็ดจุ่ม สีเหลือง และมีระดับคะแนนเฉลี่ยต่ำสุด คือ 1 คะแนนในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0,1,2,3 mg/l และ BA ระดับความเข้มข้น 0,1,2 mg/l

เมื่อนำน้ำหนักของชิ้นส่วนและขนาดความกว้าง-ความยาวของ callus เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ( $p \leq 0.01$ ) (ตารางที่ 5) โดยพบว่าในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 2 mg/l มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด คือ 0.41 กรัม และมีขนาดของความกว้าง ความยาวเฉลี่ยมากที่สุดคือ 0.41 และ 0.50 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมาคืออาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.22 กรัม ขนาดความกว้าง ความยาวและความสูงเฉลี่ยคือ 2.5 และ 3.2 เซนติเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 5) ซึ่งในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0,1,2 และ 3 mg/l มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.05 กรัม และในอาหาร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้น 0,1 และ 2 mg/l มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.05 กรัม (ตาราง ที่ 4) ซึ่งในอาหารที่เติม 2,4-D หรือ BA เพียงอย่างเดียวอย่างหนึ่งไม่พบการพัฒนาเป็น callus

ตารางที่ 1 แสดงผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลั่น ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

| ระดับความเข้มข้น<br>ของ 2,4-D<br>(mg/l) | คะแนนการเจริญเติบโต ( $\pm$ SE)** |                  |                  | ค่าเฉลี่ย*       |
|---|-----------------------------------|------------------|------------------|------------------|
|   | ระดับความเข้มข้นของ BA (mg/l)     |                  |                  |                  |
|   | 0                                 | 1                | 2                |                  |
| 0                                       | 1.00 $\pm$ 0.00b                  | 1.00 $\pm$ 0.00b | 1.00 $\pm$ 0.00b | 1.00 $\pm$ 0.00b |
| 1                                       | 1.00 $\pm$ 0.00b                  | 2.73 $\pm$ 1.09a | 3.27 $\pm$ 1.2a  | 2.33 $\pm$ 1.19a |
| 2                                       | 1.00 $\pm$ 0.00b                  | 1.66 $\pm$ 0.24b | 1.07 $\pm$ 0.15b | 1.24 $\pm$ 0.36b |
| 3                                       | 1.00 $\pm$ 0.00b                  | 1.20 $\pm$ 0.30b | 1.07 $\pm$ 0.15b | 1.09 $\pm$ 0.10b |
| ค่าเฉลี่ย***                            | 1.00 $\pm$ 0.00b                  | 1.65 $\pm$ 0.77a | 1.60 $\pm$ 1.11a | 1.42 $\pm$ 0.62  |

CV. = 33.72 %

\* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple test

\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple test

\*\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลั่น ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

| ระดับความเข้มข้น<br>ของ 2,4-D<br>(mg/l) | คะแนนการเจริญเติบโต ( $\pm$ SE)** |                  |                  | ค่าเฉลี่ย*       |
|---|-----------------------------------|------------------|------------------|------------------|
|   | ระดับความเข้มข้นของ BA (mg/l)     |                  |                  |                  |
|   | 0                                 | 1                | 2                |                  |
| 0                                       | 1.00 $\pm$ 0.00c                  | 1.00 $\pm$ 0.00c | 1.00 $\pm$ 0.00c | 1.00 $\pm$ 0.00b |
| 1                                       | 1.00 $\pm$ 0.00c                  | 3.06 $\pm$ 1.11b | 4.53 $\pm$ 1.05a | 2.87 $\pm$ 1.77a |
| 2                                       | 1.00 $\pm$ 0.00c                  | 1.86 $\pm$ 0.69c | 1.73 $\pm$ 0.36c | 1.53 $\pm$ 0.46b |
| 3                                       | 1.00 $\pm$ 0.00c                  | 1.73 $\pm$ 0.38c | 2.00 $\pm$ 0.49c | 1.58 $\pm$ 0.52b |
| ค่าเฉลี่ย***                            | 1.00 $\pm$ 0.00b                  | 1.92 $\pm$ 0.85a | 2.32 $\pm$ 1.54a | 1.74 $\pm$ 0.79  |

CV. = 32.50 %

\* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวดิ่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple test

\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple test

\*\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลั่น ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

| ระดับความเข้มข้น<br>ของ 2,4-D<br>(mg/l) | คะแนนการเจริญเติบโต ( $\pm$ SE)** |                    |                    | ค่าเฉลี่ย*        |
|---|-----------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
|   | ระดับความเข้มข้นของ BA (mg/l)     |                    |                    |                   |
|   | 0                                 | 1                  | 2                  |                   |
| 0                                       | 1.00 $\pm$ 0.00d                  | 1.00 $\pm$ 0.00d   | 1.00 $\pm$ 0.00d   | 1.00 $\pm$ 0.00c  |
| 1                                       | 1.00 $\pm$ 0.00d                  | 3.26 $\pm$ 1.24b   | 4.53 $\pm$ 1.05a   | 2.93 $\pm$ 1.79a  |
| 2                                       | 1.00 $\pm$ 0.00d                  | 2.13 $\pm$ 1.07bcd | 1.86 $\pm$ 0.43cd  | 1.66 $\pm$ 0.59bc |
| 3                                       | 1.00 $\pm$ 0.00d                  | 2.40 $\pm$ 1.24bc  | 2.20 $\pm$ 0.69bcd | 1.86 $\pm$ 0.76b  |
| ค่าเฉลี่ย**                             | 1.00 $\pm$ 0.00b                  | 2.20 $\pm$ 0.93a   | 2.40 $\pm$ 1.51a   | 1.87 $\pm$ 0.80   |

CV. = 37.40 %

\* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบ โดยวิธี Duncan's new multiple test

\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบ โดยวิธี Duncan's new multiple test

\*\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบ โดยวิธี Duncan's new multiple test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อน้ำหนักชิ้นส่วนของ กลีบดอกช่อนกลั่น ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

| ระดับความเข้มข้น<br>ของ 2,4-D<br>(mg/l) | น้ำหนักของชิ้นส่วน ( $\pm$ SE) (กรัม)** |                   |                  | ค่าเฉลี่ย*       |
|---|---|-------------------|------------------|------------------|
|   | ระดับความเข้มข้นของ BA (mg/l)           |                   |                  |                  |
|   | 0                                       | 1                 | 2                |                  |
| 0                                       | 0.08 $\pm$ 0.03c                        | 0.04 $\pm$ 0.03c  | 0.04 $\pm$ 0.02c | 0.05 $\pm$ 0.03b |
| 1                                       | 0.03 $\pm$ 0.00c                        | 0.22 $\pm$ 0.14b  | 0.41 $\pm$ 0.10a | 0.22 $\pm$ 0.19a |
| 2                                       | 0.02 $\pm$ 0.00c                        | 0.11 $\pm$ 0.04c  | 0.06 $\pm$ 0.03c | 0.06 $\pm$ 0.04b |
| 3                                       | 0.08 $\pm$ 0.02c                        | 0.05 $\pm$ 0.02c  | 0.10 $\pm$ 0.10b | 0.06 $\pm$ 0.05b |
| ค่าเฉลี่ย***                            | 0.05 $\pm$ 0.03b                        | 0.09 $\pm$ 0.10ab | 0.15 $\pm$ 0.17a | 0.10 $\pm$ 0.08  |

CV. = 11.85 %

\* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบ โดยวิธี Duncan's new multiple test

\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบ โดยวิธี Duncan's new multiple test

\*\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบ โดยวิธี Duncan's new multiple test

ตารางที่ 5 แสดงผลของ 2,4-D และ BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อขนาด callus (ความกว้างxความยาว) ของกลีบดอกช่อนกลั่น ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

| ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D (mg/l) | ขนาด callus (ความกว้างxความยาว) ( $\pm$ SE)(cm.)**          |  |   | ค่าเฉลี่ย*  |
|----------------------------------|---|--|---|---|
|                                  | ระดับความเข้มข้นของ BA (mg/l)                               |  |   |   |
|                                  | 0   | 1  | 2   |   |
| 0                                | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup> x 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup> | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup> x 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>    | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup> x 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>   | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup> x 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup> |
| 1                                | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup> x 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup> | 0.25 $\pm$ 0.47 <sup>ab</sup> x 0.32 $\pm$ 0.69 <sup>b</sup>   | 0.41 $\pm$ 0.79 <sup>a</sup> x 0.50 $\pm$ 0.66 <sup>a</sup>   | 0.22 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup> x 0.27 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup> |
| 2                                | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup> x 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup> | 0.19 $\pm$ 0.61 <sup>b</sup> x 0.21 $\pm$ 0.72 <sup>bc</sup>   | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup> x 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>   | 0.06 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup> x 0.07 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup> |
| 3                                | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup> x 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup> | 0.07 $\pm$ 0.21 <sup>bc</sup> x 0.15 $\pm$ 0.64 <sup>bcd</sup> | 0.09 $\pm$ 0.37 <sup>bc</sup> x 0.11 $\pm$ 0.44 <sup>cd</sup> | 0.05 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup> x 0.09 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup> |
| ค่าเฉลี่ย***                     | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup> x 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup> | 0.13 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup> x 0.17 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>    | 0.12 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup> x 0.15 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>   | 0.08 $\pm$ 0.09 x 0.1 $\pm$ 0.11                            |

CV. ของความกว้าง callus = 17.21 %

CV. ของความยาว callus = 19.88 %

\* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบ โดยวิธี Duncan's new multiple test

\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบ โดยวิธี Duncan's new multiple test

\*\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.01$ ) เมื่อทดสอบ โดยวิธี Duncan's new multiple test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ callus ของกลีบดอกช่อกล้วยไม้ไทย

#### คะแนนการเจริญเติบโต

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าใน 8 สัปดาห์แรกไม่พบความแตกต่างกันในสถิติเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0,1 และ 2 mg/l ร่วมกับ kinetin ระดับความเข้มข้น 0,1 และ 2 mg/l จากตารางที่ 8 พบว่า ในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 2 mg/l มีระดับคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดคือ 1.27 ลักษณะ callus พบว่ามีการเกาะตัวกันเป็นกลุ่มและมีสีเหลือง ส่วนตัวชิ้นส่วนแห้งเป็นสีน้ำตาล และในบางส่วนไม่เกิดการพัฒนาเป็น callus ซึ่งตัวชิ้นส่วนจะแห้งเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำ และในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l ร่วมกับ kinetin ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l มีระดับคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยรองลงมาคือ 1.26 ลักษณะของ callus ที่พบเป็นแบบเกาะตัวกันเป็นกลุ่มเช่นกันตัว callus เป็นสีเหลือง และชิ้นส่วนแห้งเป็นสีน้ำตาล ในอาหาร MS ที่เติม kinetin ระดับความเข้มข้น 0,1 และ 2 mg/l มีระดับคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 1.00 ไม่เกิด callus และตัวชิ้นส่วนแห้งเป็นสีน้ำตาล (ตารางที่ 6)

เมื่อนำข้อมูลคะแนนการเจริญเติบโตในเวลา 16 สัปดาห์มาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 0.5 อาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ kinetin ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีระดับคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดคือ 1.46 ลักษณะ callus พบว่าเป็นแบบ hard callus callus มีสีเหลือง ส่วนตัวชิ้นส่วนแห้งเป็นสีน้ำตาล อาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 2 mg/l มีระดับคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยรองลงมาคือ 1.27 และในอาหาร MS ที่เติม kinetin ระดับความเข้มข้น 0,1 และ 2 mg/l พบว่าชิ้นส่วนไม่เกิดการเจริญเติบโตเป็น callus ซึ่งตัวชิ้นส่วนแห้งและมีสีน้ำตาล ระดับคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยคือ 1.00 (ตารางที่ 9)

อาหารที่เติม 2,4-D เพียงอย่างเดียว ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ มีผลทำให้ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในอาหารที่มี 2,4-D 2 mg/l ชิ้นส่วนมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดที่ 1.27 คะแนน และในอาหารที่ไม่มี 2,4-D เป็นองค์ประกอบพบว่า ชิ้นส่วนมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อนำน้ำหนักของชิ้นส่วนมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าในเวลา 16 สัปดาห์ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.5 ในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดคือ 0.29 กรัม ในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ kinetin ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีน้ำหนักเฉลี่ยรองลงมาคือ 0.22 กรัม และในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับ

ความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ kinetin ระดับความเข้มข้น 2 mg/l มีน้ำหนักเฉลี่ยต่ำสุดคือ 0.09 กรัม (ตารางที่ 10)

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าพบว่าในเวลา 16 สัปดาห์ ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.5 ในความกว้าง และความยาวเฉลี่ยของ callus พบว่าในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ kinetin ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ยสูงสุดคือ 0.21 และ 0.17 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนความสูงเฉลี่ยสูงสุดพบในอาหาร MS ที่เติม kinetin ระดับความเข้มข้น 1 mg/l คือ 0.10 เซนติเมตร ความกว้างและความยาว callus รองลงมาอาหาร MS ที่เติม kinetin ระดับความเข้มข้น 1 mg/l มีขนาดเฉลี่ยคือ 0.17 และ 0.15 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 11, 12 และ 13)

ตารางที่ 6 แสดงผลของ 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อกลิ้น ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

| ระดับความเข้มข้น<br>ของ 2,4-D<br>(mg/l) | คะแนนการเจริญเติบโต ( $\pm$ SE)    |                 |                 | ค่าเฉลี่ย       |
|---|------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|   | ระดับความเข้มข้นของ kinetin (mg/l) |                 |                 |                 |
|   | 0                                  | 1               | 2               |                 |
| 0                                       | 1.00 $\pm$ 0.00                    | 1.00 $\pm$ 0.00 | 1.00 $\pm$ 0.00 | 1.00 $\pm$ 0.00 |
| 1                                       | 1.13 $\pm$ 0.30                    | 1.26 $\pm$ 0.15 | 1.07 $\pm$ 0.15 | 1.15 $\pm$ 0.10 |
| 2                                       | 1.27 $\pm$ 0.59                    | 1.26 $\pm$ 0.36 | 1.00 $\pm$ 0.00 | 1.18 $\pm$ 0.15 |
| ค่าเฉลี่ย                               | 1.13 $\pm$ 0.14                    | 1.18 $\pm$ 0.15 | 1.02 $\pm$ 0.04 | 1.11 $\pm$ 0.06 |

CV. =23.55%

F-test ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น  $p \leq 0.5$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงผลของ 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของกลีบดอกช่อนกลั่น ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

| ระดับความเข้มข้น<br>ของ 2,4-D<br>(mg/l) | คะแนนการเจริญเติบโต ( $\pm$ SE)**  |                   |                  | ค่าเฉลี่ย*        |
|---|------------------------------------|-------------------|------------------|-------------------|
|   | ระดับความเข้มข้นของ kinetin (mg/l) |                   |                  |                   |
|   | 0                                  | 1                 | 2                |                   |
| 0                                       | 1.00 $\pm$ 0.00b                   | 1.00 $\pm$ 0.00b  | 1.00 $\pm$ 0.00b | 1.00 $\pm$ 0.00b  |
| 1                                       | 1.13 $\pm$ 0.30ab                  | 1.46 $\pm$ 0.30a  | 1.07 $\pm$ 0.15b | 1.22 $\pm$ 0.21a  |
| 2                                       | 1.27 $\pm$ 0.59ab                  | 1.26 $\pm$ 0.36ab | 1.00 $\pm$ 0.00b | 1.18 $\pm$ 0.15ab |
| ค่าเฉลี่ย***                            | 1.13 $\pm$ 0.14ab                  | 1.24 $\pm$ 0.23a  | 1.02 $\pm$ 0.04b | 1.13 $\pm$ 0.11   |

CV. = 24.29%

\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \leq 0.5$ ) เมื่อทดสอบโดยวิธี

Duncan's new multiple test

\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \leq 0.5$ ) เมื่อทดสอบโดยวิธี

Duncan's new multiple test

\*\*\*ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \leq 0.5$ ) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 แสดงผลของ 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อน้ำหนักชิ้นส่วนของกลีบดอกช่อนกลั่น ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

| ระดับความเข้มข้น<br>ของ 2,4-D<br>(mg/l) | น้ำหนักชิ้นส่วน ( $\pm$ SE) (กรัม) |                 |                 | ค่าเฉลี่ย       |
|---|------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|   | ระดับความเข้มข้นของ kinetin (mg/l) |                 |                 |                 |
|   | 0                                  | 1               | 2               |                 |
| 0                                       | 0.19 $\pm$ 0.00                    | 0.16 $\pm$ 0.00 | 0.14 $\pm$ 0.00 | 0.16 $\pm$ 0.03 |
| 1                                       | 0.29 $\pm$ 0.30                    | 0.22 $\pm$ 0.15 | 0.09 $\pm$ 0.15 | 0.20 $\pm$ 0.10 |
| 2                                       | 0.11 $\pm$ 0.59                    | 0.20 $\pm$ 0.36 | 0.11 $\pm$ 0.00 | 0.14 $\pm$ 0.05 |
| ค่าเฉลี่ย                               | 0.20 $\pm$ 0.09                    | 0.19 $\pm$ 0.03 | 0.11 $\pm$ 0.03 | 0.17 $\pm$ 0.03 |

CV. = 14.54%

F-test ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น  $p \leq 0.5$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 9** แสดงผลของ 2,4-D และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีผลต่อขนาด callus (ความกว้างxความยาว) ของกลีบดอกช่อนกัณ ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D ร่วมกับ kinetin เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

| ระดับความ<br>เข้มข้น<br>ของ 2,4-D<br>(mg/l) | ขนาด callus (ความกว้างxความยาว) ( $\pm$ SE) (cm.) |                                  |                                  | ค่าเฉลี่ย                       |
|---|---|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
|   | ระดับความเข้มข้นของ kinetin (mg/l)                |                                  |                                  |                                 |
|   | 0   | 1                                | 2                                |                                 |
| 0   | 0.00 $\pm$ 0.00x0.00 $\pm$ 0.00                   | 0.00 $\pm$ 0.00 x0.00 $\pm$ 0.00 | 0.00 $\pm$ 0.00 x0.00 $\pm$ 0.00 | 0.00 $\pm$ 0.00x0.00 $\pm$ 0.00 |
| 1   | 0.10 $\pm$ 0.22x0.15 $\pm$ 0.22                   | 0.21 $\pm$ 0.37 x0.17 $\pm$ 0.32 | 0.07 $\pm$ 0.15 x0.00 $\pm$ 0.01 | 0.06 $\pm$ 0.08x0.09 $\pm$ 0.09 |
| 2   | 0.13 $\pm$ 0.30x0.17 $\pm$ 0.26                   | 0.19 $\pm$ 0.27 x0.04 $\pm$ 0.09 | 0.00 $\pm$ 0.00 x0.00 $\pm$ 0.00 | 0.12 $\pm$ 0.10x0.14 $\pm$ 0.07 |
| ค่าเฉลี่ย                                   | 0.10 $\pm$ 0.09x0.08 $\pm$ 0.08                   | 0.13 $\pm$ 0.12 x0.07 $\pm$ 0.09 | 0.02 $\pm$ 0.04 x0.00 $\pm$ 0.00 | 0.09 $\pm$ 0.06x0.05 $\pm$ 0.04 |

CV. ของความกว้าง callus = 11.72%

CV. ของความยาว callus = 15.36%

F-test ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น  $p \leq 0.5$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกลีบดอกช่อนกลิ่นไทย โดยนำชิ้นส่วนไปเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0,1,2 และ 3 mg/l ร่วมกับ BA 0,1 และ 2 mg/l หรืออาหารที่เติม 2,4-D 0,1,2 และ 3 mg/l ร่วมกับ kinetin 0,1 และ 2 mg/l เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม 2,4-D 1 mg/l ร่วมกับ BA 2 mg/l ชิ้นส่วนสามารถเจริญเป็น callus ดีที่สุดเนื่องจากมีคะแนนการเจริญเติบโตสูงสุด (ตารางที่ 3) ซึ่งมีลักษณะสอดคล้องกับการทดลองของ Salman (2002) ที่ทำการทดลองศึกษาเลี้ยงชิ้นส่วนใบของต้น จิปีโซฟิลล่า (*Gypsophila paniculata*) ด้วยอาหารพื้นฐาน MS สามารถพัฒนาไปเป็น callus ได้ ซึ่ง callus ที่ได้มีลักษณะเป็น friable callus และจากการทดลองพบว่า callus ที่ได้จากอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA และ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่ได้มีลักษณะแตกต่างกันซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Rout *et al.*(2000) ที่ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนใบของ *Cephaelis ipecacuanha* (ไม้พื้นเมืองของ Brazil เป็นไม้สมุนไพร) โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D, BA และ kinetin ความเข้มข้น 0.0-5.0 mg/l ร่วมกันซึ่งชิ้นส่วนมีการพัฒนาไปเป็น somatic embryogenesis และลักษณะของ callus ที่ได้มีลักษณะแตกต่างกัน ซึ่งจากผลการทดลองการเจริญเติบโตของ callus ที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA จะมีน้ำหนัก และขนาดของ callus มากกว่าน้ำหนัก และขนาดของ callus ที่เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin (ตารางที่ 4,5,8 และ 9)

## สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกลีบดอกชอนกลั่นไทย โดยนำชิ้นส่วนไปเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0,1,2 และ 3 mg/l ร่วมกับ BA 0,1 และ 2 mg/l หรือเติม 2,4-D 0,1, และ 2 mg/l ร่วมกับ kinetin 0,1 และ 2 mg/l เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 1 mg/l ร่วมกับ BA 1 mg/l และอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 1 mg/l ร่วมกับ BA 2 mg/l เหมาะสมที่สุดในการเลี้ยง กลีบดอกชอนกลั่นไทย เกิด callus ที่มีสีเขียวหรือสีเหลืองและมีลักษณะเป็น friable callus และพบว่าอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 2 mg/l ร่วมกับ BA 1 mg/l และ และอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ 3 mg/l ร่วมกับ BA 1 mg/l และอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ลักษณะ callus ที่ได้มีสีเหลืองและเป็น hard callus ทั้งหมด และในอาหารที่เติม 2,4-D , BA และ kinetin เพียงอย่างเดียว พบว่าชิ้นส่วนไม่เกิดการพัฒนาไปเป็น callus และชิ้นส่วนทั้งหมดมีลักษณะแห้ง เป็นสีน้ำตาล



## เอกสารอ้างอิง

- คำคุณ กาญจนภูมิ.2542.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,กรุงเทพฯ. 657หน้า
- ชวลิต ดาบแก้ว,สุดาวดี เหมทานนท์. 2540.พรรณไม้ในวรรณคดีไทย.หจก.โรงพิมพ์ ดี แอล เอส , กรุงเทพฯ.
- ณรงค์ โคมเจลา.2534. เทคโนโลยีการผลิตช่อนกลิ้ง. สมาคมไม้ประดับแห่งประเทศไทย,กรุงเทพฯ.
- เบญจมาศ วงศ์แก่นจันทร์.2537.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคาหลา.ปัญหาพิเศษปริญญาตรี.ภาควิชาพืชสวน.คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.กรุงเทพฯ.35หน้า
- ประศาสตร์ เกื้อมณี.2536.เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช,กรุงเทพฯ. โอ.เอส.พรินติ้งเฮาส์.158หน้า
- รังสฤษฎ์ กาวิตะ.2540.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช:หลักการและเทคนิค.พิมพ์ครั้งที่ 2.กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- วัชรารักษ์ ดิมิ,2545. ไม้ดอกเศรษฐกิจ.เมืองไม้ดอกไม้ประดับ ปีที่ 1 น 7/2545.เมืองเกษตร.76
- วิจิต สุวรรณปรีชา.2540. การปลูกไม้ตัดดอก.
- สมภพ ประธานธรรารักษ์.2542.อนุกรมวิธานพืชสมุนไพร.ภาควิชาเภสัชศาสตร์.คณะเภสัชศาสตร์.มหาลัยมหิดล,กรุงเทพฯ.150หน้า
- สุพจน์ รมณ์ตรเงิน.2534. การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่อนกลิ้งไทย.ปัญหาพิเศษปริญญาตรี.ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 16 หน้า
- Bapat, V.A. and S. Narayanaswamy.1976. Growth and organogenesis in explanted tissue of *Amayllis* in culture.Bull.Torrey Bot.club.103:53-56.
- Bose,T.K. and B.K. Jana.1977.Regeneration of plantlets in *Hippeastrum in vitro*.Indian J.Hort.34: 446-447.
- Bose,T.K.,B.K.Jana, and S. Moulik.1987.A note of the micro-propagation of *Tuberosa* from scale stem selection. Indian J. Hor. 44:100-101.
- Dinkelman,K.,Finnie J.F.,and Drennan P.M..1989.*In vitro* multiplication of *Paramongaia weberbaueri*. HortScience.24:860-861.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Gi.H.S. and H.S.Tray.1989.Anther culture and somaclonal variation of tuberosa (*Polianthes tuberosa* L.) Journal.Agric.R.China.38:346-352.
- Honda.Y.,Inaoka.H.,Takei.A.,Sugimura.Y.,and Otsuji.K.1996.Extracellular polysaccharides produced by tuberosa callus.Phytochemistry.41:1517-1521.
- Mujib.A., B.K. Jana. , P.D.Ghosh. 1991.Plantlet regeneration from flower bud callus in *Hippeastrum hybridum* cv. Belladonna.Ari.Hort.Soc.India.9:429-431.
- Murashige,T. and F.Skoog.1962.A revise medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture.Physiol.Plant.15:473-497
- Narayanaswamy,S. and Prabhudesai,V.R.1979.Somatic pseudoembryogeny in tissue culture of tuberosa *Polianthes tuberosa*.Indian J.Ex.Bio.17:873-875.
- Rout G.R.,S.Samantaray,P.Das.2000.*In vitro* somatic embryogenesis from callus cultures of *Cephaelis ipecacuanha* A.Richard.Sci.Hort.86:71-79.
- Salman.M.N.2002.Establishment of callus and cell suspension culture from *Gypsophila paniculata* leaf segment and study of the attachment of host cells by *Erwinia herbicola* pv. *gypsophilae*.Plant cell,tissue and organ culture.69:189-196
- Seabrook J.E.A. and B.G. Cumming.1977.The *in vitro* propagation of amaryllis.*In vitro*.13:381-836.

## ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ปริมาณสารเคมีในสูตรอาหารพื้นฐานของ Murashige and Skoog ( 1962 )

| สารเคมี   | ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อลิตร) |
|---|---------------------------|
| $\text{NH}_4\text{NO}_3$                            | 1650.00                   |
| $\text{KNO}_3$                                      | 1900.00                   |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$           | 440.00                    |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 370.00                    |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$                            | 170.00                    |
| $\text{H}_3\text{BO}_3$                             | 6.20                      |
| $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$           | 22.30                     |
| $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 8.60                      |
| KI  | 0.83                      |
| $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$          | 0.25                      |
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$           | 0.025                     |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 0.025                     |
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 27.8                      |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 37.3                      |
| Myo - inositol                                      | 100.00                    |
| Nicotinic   | 0.50                      |
| Pyridoxine HCl                                      | 0.50                      |
| Thiamine HCl  | 0.40                      |
| Glycine   | 2.00                      |
| Sucrose   | 3000.00                   |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลิ้งไทย เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

| SOURCE    | df | SS     | MS    | F-value  | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|--------|-------|----------|-------|-------|
| Treatment | 11 | 32.729 | 2.975 | 13.056** | 2.08  | 2.80  |
| A         | 3  | 17.264 | 5.755 | 25.252** | 2.84  | 4.31  |
| B         | 2  | 5.211  | 2.606 | 11.433** | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 6  | 10.253 | 1.709 | 7.499**  | 2.33  | 3.29  |
| ERROR     | 48 | 10.939 | 0.228 |          |       |       |
| TOTAL     | 59 | 43.667 | 0.740 |          |       |       |

Grand Mean = 1.42

CV. = 33.72%

\*\* Significant at  $p \leq 0.01$

ตารางภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลิ้งไทย เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

| SOURCE    | df | SS     | MS    | F-value  | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|--------|-------|----------|-------|-------|
| Treatment | 11 | 64.579 | 5.871 | 18.288** | 2.08  | 2.80  |
| A         | 3  | 28.262 | 9.421 | 29.347** | 2.84  | 4.31  |
| B         | 2  | 18.176 | 9.088 | 28.311** | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 6  | 18.140 | 3.023 | 9.418**  | 2.33  | 3.29  |
| ERROR     | 48 | 15.409 | 0.321 |          |       |       |
| TOTAL     | 59 | 79.988 | 1.356 |          |       |       |

Grand Mean = 1.74

CV. = 32.50%

\*\* Significant at  $p \leq 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลี้นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

| SOURCE    | df | SS     | MS     | F-value  | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|--------|--------|----------|-------|-------|
| Treatment | 11 | 70.106 | 6.373  | 13.097** | 2.08  | 2.80  |
| A         | 3  | 28.903 | 9.634  | 19.799** | 2.84  | 4.31  |
| B         | 2  | 22.857 | 11.429 | 23.486** | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 6  | 18.346 | 3.058  | 6.284**  | 2.33  | 3.29  |
| ERROR     | 48 | 23.357 | 0.487  |          |       |       |
| TOTAL     | 59 | 93.463 | 1.584  |          |       |       |

Grand Mean = 1.86

CV. = 37.40%

\*\* Significant at  $p \leq 0.01$

ตารางภาคผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อน้ำหนักชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลี้นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ โดยแปลงข้อมูลแบบ  $\sqrt{x+0.5}$

| SOURCE    | df | SS    | MS    | F-value  | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|-------|-------|----------|-------|-------|
| Treatment | 11 | 2.292 | 0.208 | 18.184** | 2.08  | 2.80  |
| A         | 3  | 0.835 | 0.278 | 24.302** | 2.84  | 4.31  |
| B         | 2  | 0.498 | 0.249 | 21.750** | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 6  | 0.958 | 0.160 | 13.937** | 2.33  | 3.29  |
| ERROR     | 48 | 0.550 | 0.011 |          |       |       |
| TOTAL     | 59 | 2.842 | 0.048 |          |       |       |

Grand Mean = 0.10

CV. = 11.85%

\*\* Significant at  $p \leq 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อความกว้าง callus กิ่งปักตอนกิ่งต้นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ โดยแปลงข้อมูลแบบ  $\sqrt{x+0.5}$

| SOURCE    | df | SS    | MS    | F-value  | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|-------|-------|----------|-------|-------|
| Treatment | 11 | 3.034 | 0.276 | 12.720** | 2.08  | 2.80  |
| A         | 3  | 1.269 | 0.423 | 19.503** | 2.84  | 4.31  |
| B         | 2  | 0.633 | 0.316 | 14.592** | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 6  | 1.132 | 0.189 | 8.705**  | 2.33  | 3.29  |
| ERROR     | 48 | 1.041 | 0.022 |          |       |       |
| TOTAL     | 59 | 4.074 | 0.069 |          |       |       |

Grand Mean = 0.85

CV. = 17.21%

\*\* Significant at  $p \leq 0.01$

ตารางภาคผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่มีผลต่อความยาว callus กิ่งปักตอนกิ่งต้นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ โดยแปลงข้อมูลแบบ  $\sqrt{x+0.5}$

| SOURCE    | df | SS    | MS    | F-value  | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|-------|-------|----------|-------|-------|
| Treatment | 11 | 4.811 | 0.437 | 13.458** | 2.08  | 2.80  |
| A         | 3  | 2.005 | 0.668 | 20.564** | 2.84  | 4.31  |
| B         | 2  | 1.163 | 0.581 | 17.888** | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 6  | 1.644 | 0.274 | 8.428**  | 2.33  | 3.29  |
| ERROR     | 48 | 1.560 | 0.033 |          |       |       |
| TOTAL     | 59 | 6.371 | 0.108 |          |       |       |

Grand Mean = 0.90

CV. = 19.88%

\*\* Significant at  $p \leq 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลี้นไทย เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

| SOURCE    | df | SS    | MS    | F-value             | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|-------|-------|---------------------|-------|-------|
| Treatment | 8  | 0.613 | 0.077 | 1.121 <sup>ns</sup> | 2.18  | 2.99  |
| A         | 2  | 0.277 | 0.139 | 2.028 <sup>ns</sup> | 3.23  | 5.18  |
| B         | 2  | 0.189 | 0.095 | 1.384 <sup>ns</sup> | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 4  | 0.147 | 0.037 | 0.536 <sup>ns</sup> | 2.61  | 3.83  |
| ERROR     | 36 | 2.461 | 0.068 |                     |       |       |
| TOTAL     | 44 | 3.073 | 0.070 |                     |       |       |

Grand Mean = 1.11

CV. = 23.55%

<sup>ns</sup> ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลี้นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

| SOURCE    | df | SS    | MS    | F-value             | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|-------|-------|---------------------|-------|-------|
| Treatment | 8  | 1.092 | 0.136 | 1.805 <sup>ns</sup> | 2.18  | 2.99  |
| A         | 2  | 0.407 | 0.204 | 2.694 <sup>ns</sup> | 3.23  | 5.18  |
| B         | 2  | 0.363 | 0.182 | 2.401 <sup>ns</sup> | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 4  | 0.321 | 0.080 | 1.062 <sup>ns</sup> | 2.61  | 3.83  |
| ERROR     | 36 | 2.722 | 0.076 |                     |       |       |
| TOTAL     | 44 | 3.814 | 0.087 |                     |       |       |

Grand Mean = 1.13

CV. = 24.29%

<sup>ns</sup> ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่มีผลต่อน้ำหนักของชิ้นส่วนกลีบดอกช่อนกลิ้นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ โดยแปลงข้อมูลแบบ  $\sqrt{x+0.5}$

| SOURCE    | df | SS    | MS    | F-value             | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|-------|-------|---------------------|-------|-------|
| Treatment | 8  | 0.155 | 0.019 | 1.308 <sup>ns</sup> | 2.18  | 2.99  |
| A         | 2  | 0.028 | 0.014 | 0.961 <sup>ns</sup> | 3.23  | 5.18  |
| B         | 2  | 0.035 | 0.017 | 1.172 <sup>ns</sup> | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 4  | 0.092 | 0.023 | 1.549 <sup>ns</sup> | 2.61  | 3.83  |
| ERROR     | 36 | 0.533 | 0.015 |                     |       |       |
| TOTAL     | 44 | 0.688 | 0.016 |                     |       |       |

Grand Mean = 0.84

CV. = 14.54%

<sup>ns</sup> ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่มีผลต่อความกว้าง callus ของกลีบดอกช่อนกลิ้นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ โดยแปลงข้อมูลแบบ  $\sqrt{x+0.5}$

| SOURCE    | df | SS    | MS    | F-value             | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|-------|-------|---------------------|-------|-------|
| Treatment | 8  | 0.063 | 0.008 | 1.048 <sup>ns</sup> | 2.18  | 2.99  |
| A         | 2  | 0.021 | 0.011 | 1.409 <sup>ns</sup> | 3.23  | 5.18  |
| B         | 2  | 0.020 | 0.010 | 1.330 <sup>ns</sup> | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 4  | 0.022 | 0.005 | 0.726 <sup>ns</sup> | 2.61  | 3.83  |
| ERROR     | 36 | 0.271 | 0.008 |                     |       |       |
| TOTAL     | 44 | 0.334 | 0.008 |                     |       |       |

Grand Mean = 0.74

CV. = 11.72%

<sup>ns</sup> ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่มีผลต่อความยาว callus ของกลีบดอกช่อนกลี้นไทย เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ โดยแปลงข้อมูลแบบ  $\sqrt{x+0.5}$

| SOURCE    | df | SS    | MS    | F-value             | F0.05 | F0.01 |
|-----------|----|-------|-------|---------------------|-------|-------|
| Treatment | 8  | 0.103 | 0.013 | 0.949 <sup>ns</sup> | 2.18  | 2.99  |
| A         | 2  | 0.053 | 0.027 | 1.957 <sup>ns</sup> | 3.23  | 5.18  |
| B         | 2  | 0.030 | 0.015 | 1.092 <sup>ns</sup> | 3.23  | 5.18  |
| AB        | 4  | 0.020 | 0.005 | 0.373 <sup>ns</sup> | 2.61  | 3.83  |
| ERROR     | 36 | 0.489 | 0.014 |                     |       |       |
| TOTAL     | 44 | 0.592 | 0.013 |                     |       |       |

Grand Mean = 0.75

CV. = 15.36%

<sup>ns</sup> ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้