ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การศึกษาการเพิ่มปริมาณของสับปะรดสี(*Cryptanthus bivittatus* " Pink Starlight ")

ในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Multiplication of *Cryptanthus bivittatus* " Pink Starlight "

โดย

นาย สิทธิศักดิ์ ไทยจรรยา

ได้พิจารณาเห็นชอบจาก

(อาจารย์ ดร. สุเม อรัญนารถ)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

(อาจารย์ ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 31 เดือน พฤษภาคม พ.ศ.2537

14556
8 ส.ค. 2541
ปพ.
ส723ท
2537

14556

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร ห้องสมุด สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาการเพิ่มปริมาณของสับปะรดสี(*Cryptanthus bivittatus* " Pink Starlight ") ในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Multiplication of *Cryptanthus bivittatus* " Pink Starlight "

T100517

โดย

นาย สิทธิศักดิ์ ไทยจรรยา

อาจารย์ที่ปรึกษา

ปพ.
สจ23ก
2536

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....100512
วัน,เดือน,ปี.....19 JUN 2009...

อาจารย์ ดร. สุเม อรัญนารถ

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2536

ชื่อเรื่อง การศึกษาการเพิ่มปริมาณของสับปะรดสี (*Cryptanthus bivittatus* " Pink Starlight ") ในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Multiplication of *Cryptanthus bivittatus* " Pink Starlight "

โดย นาย สิทธิศักดิ์ ไทยจรรยา

สาขา พืชสวน ภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะ เทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. สุเม อรัญนารถ

บทคัดย่อ

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของสับปะรดสี (*Cryptanthus bivittatus*) ในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้ชิ้นส่วน ตาข้างที่เกิดจากต้นมาทำการฟอกด้วย ethanol 70 % นาน 1 นาที ตามด้วย mercuric chloride 0.1 % + tween 20 2 หยด นาน 10 นาที และ clorox 30 % + tween 20 2 หยด นาน 20 นาที หลังจากนั้นฟอกต่อด้วย clorox 10 % + tween 20 2 หยด นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที ทำการทดลองชักนำชิ้นส่วนให้เกิดแคลลัสและยอด โดยนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตรพื้นฐานชนิดต่างๆ ที่เติม BA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ BA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักของ Murashige and Skoog (1962),ธาตุอาหารรองของ Ringe and Nitsch (1968) และ วิตามินของ Murashige and Skoog (1962) เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 25 % ให้ผลดีที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอด

Abstract

Tissue culture of *Cryptanthus bivittatus* was undertaken for shoot multiplication. Lateral buds were steriled with 70 % ethanol for 1 min, shaken in 0.1 % mercuric chloride and 2-3 drop tween20 for 10 min and followed by 30 % clorox containing 2-3 drop tween20 for 20 min, afterthat argitated with 10 % clorox + 2-3 drop tween20 for 10 min , then rinsed three times with sterile distilled water. Callus induction and shoot multiplication were obtained from basal medium [Murashige & Skoog (1962) majorelements, Ringe and Nitsch (1968) minorelements and MS organic addenda] supplemented with 1.0 mg/l BA and 25 % coconut water.

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. สุเม อรัญนารถ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยแก้ไขปัญหาอุปสรรคต่างๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขปัญหาพิเศษเล่มนี้จนสำเร็จได้สมบูรณ์ รวมทั้งข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชทุกๆท่านที่ได้ให้คำแนะนำและช่วยเหลือ ที่ขาดเสียมิได้ คือ คุณพ่อคุณแม่ ที่เป็นกำลังใจและให้ทุนทรัพย์ในการศึกษาครั้งนี้

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบคุณ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกท่านที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจ และขอขอบคุณ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ซึ่งเป็นสถานศึกษาและมีส่วนช่วยให้ปัญหาพิเศษของข้าพเจ้าสำเร็จเรียบร้อยไปได้ด้วยดี

นาย สิทธิศักดิ์ ไทยจรรยา

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	(ก)
สารบัญภาพ	(ข)
คำย่อที่ใช้ในรายงาน	1
คำนำ	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	
- อุปกรณ์	7
- วิธีการ	8
ผลการทดลอง	14
วิจารณ์ผลการทดลอง	20
สรุปผลการทดลอง	21
เอกสารอ้างอิง	22
ภาคผนวก	25

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ผลของสารฟอกที่มีผลต่อชิ้นส่วนของ *C.bivittatus* เมื่ออายุ 1 เดือน	14
ตารางที่ 2	ผลของสูตรอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน *C.bivittatus* เมื่ออายุ 1-4 เดือน	17
ตารางที่ 3	ผลของสูตรอาหารที่มีผลต่อการเกิดยอด *C.bivittatus* เมื่ออายุ 2-4 เดือน	18

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพแสดงหลักเกณฑ์การให้คะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเมื่ออายุ 1-4 เดือน	13

คำย่อที่ใช้ในรายงานฉบับนี้

IAA	Indole -3- acetic acid
IBA	Indole -3- butyric acid
NAA	α- Naphthaleneacetic acid
BA or 6BA	6- Benzylaminopurine
MS	Murashige and Skoog (1962)
NaOCl	Sodium hypochlorite
Clorox	เป็นชื่อทางการค้าประกอบด้วย NaOCl 5.25 w/w

การศึกษาการเพิ่มปริมาณของสับปะรดสี (*Cryptanthus bivittatus*)"Pink Starlight" ในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Multiplication of *Cryptanthus bivittatus* " Pink Starlight"

คำนำ

ในปัจจุบันไม้ดอก-ไม้ประดับที่กำลังเป็นที่นิยมมากในขณะนี้ก็คือ สับปะรดสี ซึ่งเป็นพืชที่น่าสนใจมาก เนื่องจากมีลักษะเด่นเป็นพิเศษหลายประการ โดยลักษณะใบที่มีสีหลากหลาย บางชนิดใบสีเขียวชลิบเหลือง ริ้วเหลือง บางชนิดใบสีเทาแซมด้วยเส้นริ้วขาวเป็นต้น นอกจากสับปะรดสีจะมีความงามที่ใบแล้ว ยังมีหนามที่งามเด่น หรือบางพันธุ์ก็ไม่มีหนาม ซึ่งงามไปอีกลักษณะหนึ่ง ส่วนดอกและผลยังมีสีสันที่สวยงามสะดุดตาแก่ผู้ได้พบเห็น และลักษณะพิเศษของสับปะรดสีอีกประการหนึ่งคือ สามารถที่จะปลูกลงดิน หรือในกระถาง หรือปลูกเลี้ยงโดยแขวนให้ห้อยย้อยสวยงามและแปลกตา ด้วยลักษณะพิเศษดังกล่าวจึงเป็นไม้ประดับที่เป็นที่นิยมอย่างสูงอีกชนิดหนึ่ง

สำหรับสับปะรดสีพันธุ์ *Cryptanthus bivittatus* (ศิริพร,2534) เป็นสับปะรดสีที่เป็นที่นิยมของผู้ที่ชื่นชอบไม้ประดับ เนื่องจากมีลักษณะเด่น ที่ใบมีแถบสีเขียวและสีชมพูลิกตามยาวของใบสลับกัน ที่ขอบใบมีหนามที่สวยงาม เป็นพืชขนาดเล็ก สามารถใช้เป็นไม้ประดับไว้ประดับอาคารและสถานที่ต่างๆ โดยสามารถที่จะปลูกลงดินหรือในกระถาง การขยายพันธุ์ของสับปะรดสีพันธุ์นี้นิยมใช้หน่อหรือจุกซึ่งการขยายพันธุ์โดยวิธีนี้จะได้ต้น 1-2 ต้นต่อปี นับว่าเป็นการขยายพันธุ์โดยวิธีทางธรรมชาติที่ช้ามาก ถ้าต้องการขยายพันธุ์จำนวนมากต้องใช้เวลานาน หรือต่างใช้ต้นเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์เป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นการลงทุนที่ค่อนข้างสูง ดังนั้นการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงเป็นแนวทางสำหรับการขยายพันธุ์สับปะรดสี (*Cryptanthus bivittatus*) ให้ได้ปริมาณมาก ในเวลาที่รวดเร็วทันกับความต้องการในระยะเวลาอันสั้น และยังได้ต้นพันธุ์ที่ปราศจากโรคและแมลงอีกด้วย

งานทดลองนี้เป็นงานทดลองเบื้องต้นสำหรับการขยายพันธุ์สับปะรดสีพันธุ์ *Cryptanthus bivittatus* โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการทดลองในครั้งนี้ ได้ศึกษาถึงวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเริ่มต้น และสูตรอาหารที่เหมาะสมตามต้องการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนของสับปะรดสี ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อใช้เป็นแนวทางในการขยายพันธุ์สับปะรดสี โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

การตรวจเอกสาร

สับปะรดสีเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Bromeliaceae มีประมาณ 60 สกุล และมากกว่า 2,000 ชนิด เป็นพืชล้มลุกเนื้ออ่อน จัดอยู่ในประเภทพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ดอกประกอบด้วยดอกที่มีส่วนประกอบเป็นสาม หรือผลคูณของสาม มีเกล็ดสำหรับดูดน้ำอยู่ที่ใบอันเป็นเอกลักษณ์ของพืชพวกนี้ (ศิริพร,2534)

สับปะรดสี (ศิริพร,2534) มีขนาดตั้งแต่ 2 นิ้วไปจนถึง 9 เมตร โดยทั่วไปแล้วพืชในกลุ่มนี้จะมีช่อดอกสูงประมาณ 1-5 ฟุต และส่วนใหญ่เป็นพืชที่ไม่มีลำต้นเหนือดินมากนัก จะมีบางชนิดเท่านั้นที่มีลำต้นยาวกว่าใบ ขนาดของลำต้นมีตั้งแต่เป็นเส้นฝอยเล็กๆ ห้อยย้อย จนถึงลำต้นใหญ่เท่าเสาขนาดใหญ่ ส่วนใบมีลักษณะแคบ เรียวยาว ขอบเรียบหรือมีหนามมากแล้วแต่พันธุ์ตรงกลางมักเป็นร่อง เพื่อเป็นทางน้ำไปเก็บที่กาบใบ ใต้ใบมักจะมีเกล็ด (trichome) เห็นเป็นสีขาวเงินเหลือบ มีหน้าที่ดูดน้ำในใบมีเนื้อเยื่อสำหรับเก็บน้ำไว้ใช้ในเวลาแล้ง มีจำนวน 50-100 ใบต่อต้น ดอกของสับปะรดสีประกอบด้วย กาบรองดอก กลีบดอก 3 กลีบ กลีบรองดอก 3 กลีบ เกสรตัวผู้ 6 อัน แบ่งเป็น 2 วง ยอดเกสรตัวเมีย 3 แฉก รังไข่มี 3 ช่อง เป็นแบบอยู่ใต้ส่วนดอกแต่ละช่องเชื่อมกันโดยมีช่องกั้นหนาเป็นรูปตัววาย (Y) หัวกลับ ก้านเกสรตัวเมียยาวกว่าเกสรตัวผู้เล็กน้อย แต่จะสั้นกว่ากลีบดอก ฐานกลีบดอกมีสีขาวและปลายมีสีม่วงอมสีน้ำเงินยาว 1.6 เซนติเมตร กว้าง 5 มิลลิเมตรกลีบดอกมีช่องเปิดเล็กน้อยซึ่งแมลงเล็กๆ ลอดเข้าไปได้

Cryptanthus bivittatus มีชื่อเรียกทั่วๆ ไปว่า " Pink Starlite " มีลักษณะใบกว้าง ขอบใบเป็นคลื่นและคม ใบมีแถบสีเขียวและสีชมพูลิกตามยาวของใบสลับกัน เป็นพันธุ์ที่ชอบน้ำแต่ไม่ถึงกับแฉะ เป็นพืชขนาดเล็กควรขยายพันธุ์หลังจากออกดอกแล้วสามารถขยายพันธุ์โดยวิธีทางธรรมชาติได้ 1-2 ต้นต่อปี

ชิ้นส่วนเริ่มต้นที่ใช้ในการเลี้ยง (Explants)

ชิ้นส่วนเริ่มต้น ในการขยายพันธุ์สับปะรดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ สุวรรณา (2521) ได้ทดลองใช้ชิ้นส่วนต่างๆ ของสับปะรดในการเพาะเนื้อเยื่อ คือ จุก หน่อ pith ใบ และ stem section จาก pure culture พบว่าที่ให้ผลดีคือ จุกและหน่อที่มีส่วนของ apex และ stem

section จาก pure culture ส่วน pith และใบไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆ เลยส่วน สอาด (2525) ได้ใช้ส่วนตาข้างที่ได้จากจุกสับปะรดแคระ *(Ananas nanus)* มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ พบว่าประสบความสำเร็จ คือ ได้ต้นพืชเพิ่มจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น Jeanne และ Murashige (1974) ได้รายงานถึงการเลี้ยงเนื้อเยื่อบรอมมีเลียดชนิดหนึ่ง คือ *Aechmea fasciata* Baker และสับปะรดอื่นๆ โดยเริ่มต้นจากการตัดเอาตาข้างที่โคนลำต้นแม่มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ พบว่าประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี Aghion และ Beauchesne (1960) ได้ใช้ตาข้างที่ได้จากจุกสับปะรดมาเพาะเลี้ยงพบว่าเกิด plantlets จำนวนเล็กน้อยและ Teo (1975) ได้ใช้ meristem tissue หรือเนื้อเยื่อเจริญจากตายอดหรือตาข้างของสับปะรดมาเลี้ยงในอาหารแข็ง หรืออาหารเหลว ทำให้ได้กลุ่มเซลและต้นอ่อนที่มีรากสามารถนำออกปลูกได้

การทำความสะอาดชิ้นส่วน

การทำความสะอาดชิ้นส่วน สุวรรณา (2521) การทำความสะอาดชิ้นส่วนโดยการใช้ clorox 10% และ 5% ครั้งละ 10 นาที ให้ได้ผลดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ การใช้ clorox 10% และ 2% ครั้งละ 10 นาที Teo (1975) ได้ใช้ sodium hypochlorite ความเข้มข้น 0.1% และ 5% ครั้งละ 10 นาที พบว่าให้ผลดีที่สุด Mathews and Rao (1982) ได้ใช้ mercuric chloride ความเข้มข้น 0.1% ทำการฟอกตาข้างของ *Cryptanthus bromelioides var.* นาน 3 นาที ให้ผลดีมาก และ Mathews and Rangan (1979) ได้ทำการฟอกสับปะรดพันธุ์ *Ananas comosus* L.Merr.โดยใช้ mercuric chloride นาน 3 นาที ให้ผลดีที่สุด เช่นกัน

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในวงศ์ Bromeliaceae

Zimmer and Pieper (1976) ได้รายงานว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างที่ได้จากหน่อของไม้สกุล Aechmeas ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์เดียวกับสับปะรดในอาหารเหลวสูตร Knudson - c เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเนื้อเยื่อส่วนตาข้างจะมีการสร้างแคลลัสและต้นแขนงขึ้นเช่นเดียวกันต้นแขนงเมื่อย้ายลงในอาหารที่ไม่มี BA จะมีการสร้างรากขึ้น

Hosoki and Asahira (1980) ได้รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดสีพันธุ์ *Quesnelia quesneliana, Viriesea poelmannii* และ *Aechmea fasciata* ในอาหารเหลว โดยใช้ตาข้าง ได้ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย Soduim hypochlorite 1 % นาน 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง แล้วจึงนำมาเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก MS , ธาตุอาหารรอง Nitsch และวิตามิน MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ BA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเพิ่ม NAA เข้มข้น 0.0 , 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ BA ที่ความเข้มข้น 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเพิ่ม NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส แสงประมาณ 4000 lux พบว่า สูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด

Zepeda and Sagawa (1981) ได้รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้าง ที่ได้จากจุกของสับปะรดพันธุ์ *Ananas comosus* โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox 10 % พร้อมกับหยด tween 20 2 หยด นาน 60 นาที และฟอกต่อด้วย Clorox 1 % นาน 20 นาที แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 25 % เป็นเวลา 2 เดือนหลังจากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติม BA 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการชักนำให้เกิดยอดขึ้น

Branka and Vinterhalter (1994) ได้ทำการเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดพันธุ์ *Aechmea fasciata* ในอาหารสูตร MS พบว่า อาหารที่เติม BA 1.0 mg/l และ NAA 1.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด

สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ในวงศ์ Bromeliaceae ในประเทศไทย สุวรรณา (2521) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรด (*Ananas comosus*) โดยใช้ส่วนของ Shoot apices และ Stem section เลี้ยงในอาหารแข็งที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก MS , ธาตุอาหารรอง Nitsch (1969) และวิตามิน Nitsch (1969) โดยเติม NAA 0-0.1 หรือเติม IAA 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำมะพร้าว ส่งเสริมให้เกิดต้นแขนงและแคลลัส เมื่อย้ายแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรข้างต้นจะเจริญไปเป็นต้นแขนงได้

วารุณี (2522) ได้ทำการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดแคระ (*Ananus ananassoides* Var. nanas) โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนตาข้างของสับปะรดแคระมาเลี้ยงในอาหารสูตรพื้นฐานที่ประกอบด้วย

ธาตุอาหารหลัก MS , ธาตุอาหารรอง Nitsch (1969) และวิตามิน Nitsch (1969) ซึ่งเติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม IAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นแขนงได้ดีที่สุด

สอาด (2525) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดแคระ (*Ananas nanus*) ในอาหารที่ประกอบด้วย ธาตอาหารหลัก MS และธาตอาหารรอง MS ส่วนวิตามิน Nitsch and Nitsch พบว่าอาหารที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เนื้อเยื่อส่วนตาข้างมีการสร้างแคลลัสและต้นแขนงจำนวนมาก เมื่อย้ายแคลลัสที่เกิดขึ้นมาเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันเติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นแขนงได้มากที่สุด

สกาวเดือนและสุดารัตน์ (2533)ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดในสูตรอาหาร 1/2 MS และ MS พบว่าสูตรอาหารที่ชักนำให้ชิ้นส่วนของสับปะรดเกิดการพัฒนา และเพิ่มจำนวนแคลลัสได้ดีคือ สูตรอาหาร1/2 MS

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์

เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 5 หมวด

1.1 เครื่องมือที่ใช้ในตู้ Laminar Flow : ปากคีบ , มีดผ่าตัดเล็กพร้อมด้าม , ตะเกียงแอลกอฮอล์ , กระดาษตะกั่ว ,กระบอกตวง ขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร , แอลกอฮอล์จุ่มฆ่าเชื้อ , ผ้าขาวบาง , plate , ไฟแช็คและบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร : บีกเกอร์ขนาด 50 , 100 , 500 และ 1,000 มิลลิลิตร , หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ , เครื่องชั่งไฟฟ้า , เครื่องชั่งธรรมดาขนาดเล็ก , ช้อนตักสาร , ช้อนคนสาร , ขวดขนาดเล็กพร้อมฝา , เครื่องวัด pH , กระดาษไข , ตะกร้า , กระบอกตวงขนาด 50 , 100 , 500 และ 1,000 มิลลิลิตร , กรวยกรอกอาหาร , หนังยาง , ถุงพลาสติก , เทปวัดการนึ่งฆ่าเชื้อ และนาฬิกาจับเวลา

1.3 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

- สารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหารพื้นฐาน (basic medium) ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962) , ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และ วิตามิน Murashige and Skoog (ดูภาคผนวก)
- สารเคมีในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 Murashige and Skoog (ดูภาคผนวก)
- น้ำมะพร้าว
- สารควบคุมการเจริญเติบโต

  BA (6 - Benzylaminopurine)

  NAA (α - Naphthaleneacetic)

1.4 สารเคมีที่ใช้ในการฟอก

- ethanol 70 เปอร์เซนต์
- Clorox (NaOCl 5.25 w/w)
- Mercuric chloride
- Calcium hypochlorite
- Tween 20

1.5 ลำต้นของสับปะรดสี ที่ใช้ในการทดลองที่ 1

1.5.1 การทดลองที่ 1 ใช้พันธุ์ *Cryptanthus bivittatus*

1.5.2 การทดลองที่ 2 ใช้ชิ้นส่วนสับปะรดสีพันธุ์ *Cryptanthus bivittatus* ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาแล้ว 7 เดือน โดยเลี้ยงในอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก MS , ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน MS ที่เติม BA 1.0 mg/l และ NAA 1.0 mg/l

2. วิธีการ

2.1 การเตรียมอาหาร

2.1.1 การเตรียมอาหารสูตรพื้นฐานประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962) ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และ วิตามิน Murashige and Skoog (1962)โดยเตรียม Stock solution เตรียม Major elements และOrganiccompound จะเตรียม stock ให้มีความเข้มข้นของ 100 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการใช้สำหรับ Final solution ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร Stock ของ Major elements ซึ่งมีความเข้มข้น 10 เท่า จะใช้ 100 มิลลิลิตร ส่วน Minor elements และ Organiccompound ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 100 จะใช้ 10 มิลลิลิตร จาก Stock หลังจากนั้นแล้วปรับ pH ของอาหารให้เท่ากับ 5.8 $\pm$ 1 ด้วย NaOH 1 N หรือ HCl 1 N จากนั้นกรอกใส่ขวดอาหารขนาดเล็ก แล้วนำไปนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15-20 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

2.1.2 การเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง 1/2 Murashige and Skoog โดยเตรียม Stock solution โดยเตรียม Macroelements ให้มีความเข้มข้นของ Stock 10 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการใช้ ส่วน Microelements และ Organiccompound จะเตรียม Stock ให้มีความเข้มข้นเป็น 100 เท่า ของความเข้มข้นที่ต้องการใช้ สำหรับ Final solution ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร Stock ของ Macro elements ซึ่งมีความเข้มข้น 10 เท่า จะใช้ 50 มิลลิลิตร ส่วน Micro elements และ Organiccompound ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 100 จะใช้ 5 มิลลิลิตร จาก Stock หลังจากนั้นแล้วปรับ pH ของอาหารให้เท่ากับ 5.6 $\pm$ 1 ด้วย NaOH 1 N หรือ HCl 1 N จากนั้นกรอกใส่ขวดอาหารขนาดเล็กแล้วนำไปนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 - 20 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

2.2 การเตรียมตาข้าง

1. นำต้นมาทำการตัดใบออก แล้วทำการผ่านน้ำไหล นานประมาณ 30 นาที

2. นำชิ้นส่วนไปฟอกฆ่าเชื้อ ตามขั้นตอนดังแสดงในการทดลองที่ 1

3. ใช้มีดตัด โดยทำการลอกกาบใบออก จะเห็นตาข้างอยู่ติดกับลำต้น ซึ่งมีสีเขียวอ่อน ยาวประมาณ 1-2 มิลลิเมตร ตัดส่วนตาข้างออกมาเพื่อทำการเพาะเลี้ยง

2.3 สภาพห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของแสง 2500 lux โดยมีช่องแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน

ทำการเปลี่ยนอาหารทุกๆ 1 เดือน และบันทึกผลการทดลองทุกสัปดาห์

2.4 วิธีการทดลอง

2.4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีต่อการทำความสะอาดชิ้นส่วน วิธีการ

ใช้สับปะรดสีพันธุ์ *Cryptanthus bivittatus* ทำการทดลองดังวิธีการต่อไปนี้

วิธีการที่ 1 มีขั้นตอนในการฟอกเชื้อดังนี้

1. ethanol 70 % นาน 30 วินาที
2. Clorox 20 % + Tween20 2 หยด นาน 10 นาที
3. Clorox 1 % + Tween20 2 หยด นาน 20 นาที
4. ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

วิธีการที่ 2 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ethanol 70 % นาน 1 นาที
2. Clorox 20 % + Tween20 2 หยด นาน 20 นาที
3. Clorox 1 % + Tween20 2 หยด นาน 10 นาที
4. ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

วิธีการที่ 3 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ethanol 70 % นาน 1 นาที
2. Mercuric chloride 0.1 % + Tween20 2 หยด นาน 10 นาที
3. Calcium hypochlorite 5 % + Tween20 2 หยด นาน 20 นาที
4. Calcium hypochlorite 1 % + Tween20 2 หยด นาน 10 นาที
5. ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

วิธีการที่ 4 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ethanol 70 % นาน 1 นาที
2. Mercuric chloride 0.1 % + Tween20 2 หยด นาน 10 นาที
3. Clorox 30 % + Tween20 2 หยด นาน 20 นาที
4. Clorox 10 % + Tween20 2 หยด นาน 15 นาที
5. ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

วิธีการที่ 5 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ethanol 70 % นาน 1 นาที
2. Clorox 10 % + Tween20 2 หยด นาน 60 นาที
3. Clorox 1 % + Tween20 2 หยด นาน 20 นาที
4. ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการต่างๆ ไปเลี้ยงบนสูตรอาหารพื้นฐาน (ดังแสดงในข้อ 2.1.1) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตคือ BA 1.0 mg/l และ NAA 1.0 mg/l บันทึกการปนเปื้อน และการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนทุกสัปดาห์

2.4.2 การทดลองที่ 2 : การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้น

ในการทดลองนี้ใช้ชิ้นส่วนจากต้นที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาแล้ว 7 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 1 ชิ้นส่วนโดยให้สูตรอาหารเป็นวิธีการทดลองดังนี้

วิธีการที่ 1 ธาตุอาหารหลัก MS + ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch + วิตามิน MS + น้ำมะพร้าว 25 %

วิธีการที่ 2 ธาตุอาหารหลัก MS + ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch + วิตามิน MS + BA 1.0 mg/l + น้ำมะพร้าว 25 %

วิธีการที่ 3 ธาตุอาหารหลัก MS + ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch + วิตามิน MS + BA 1.0 mg/l + NAA 1.0 mg/l + น้ำมะพร้าว 25 %

วิธีการที่ 4 1/2 MS + น้ำมะพร้าว 25 %

วิธีการที่ 5 1/2 MS + BA 1.0 mg/l + น้ำมะพร้าว 25 %

วิธีการที่ 6 1/2 MS + BA 1.0 mg/l + NAA 1.0 mg/l + น้ำมะพร้าว 25 %

2.4.2.1 การเตรียมอาหาร

เตรียมอาหารสูตรพื้นฐานดังที่กล่าวมาแล้วในข้อ 2.1 แล้วเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในสูตรอาหาร ดังที่กล่าวมาในแผนการทดลอง(2.4.2)

2.4.2.2 การบันทึกผลการทดลอง

2.4.2.2.1 การเจริญเติบโต บันทึกการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน โดยการให้คะแนน ดังนี้

หลักเกณฑ์การให้คะแนนในเดือนที่ 1 ดังนี้

คะแนน 0 : ชิ้นส่วนไม่มีการเจริญเติบโต

คะแนน 1 : ชิ้นส่วนเกิดยอดเดี่ยวขนาด 1-5 มิลลิเมตร

คะแนน 2 : ชิ้นส่วนเกิดยอดเดี่ยวขนาดมากกว่า 5 มิลลิเมตร

คะแนน 3 : ชิ้นส่วนขยายตัวและเกิด Callus

คะแนน 4 : ชิ้นส่วนเกิดยอดจำนวนมาก

2.4.2.2.2 จำนวนยอดที่เกิดจากชิ้นส่วน

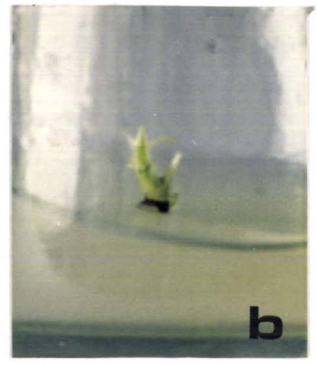
3. เวลาและสถานที่

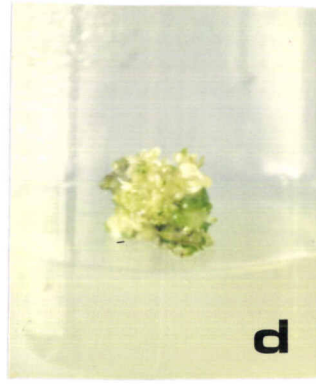
3.1 เวลา

เริ่มการทดลอง มกราคม 2536

สิ้นสุดการทดลอง ธันวาคม 2536

3.2 สถานที่ ห้องปฏิบัติการเพาะเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง





รูปภาพแสดงหลักเกณฑ์การให้คะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเมื่ออายุ 1-4 เดือน

a แสดงการให้คะแนน 0 (กำลังขยาย 1.5x)

b แสดงการให้คะแนน 1 (กำลังขยาย 1.5x)

c แสดงการให้คะแนน 2 (กำลังขยาย 1.5x)

d แสดงการให้คะแนน 3 (กำลังขยาย 1.5x)

e แสดงการให้คะแนน 4 (กำลังขยาย 1.25x)

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 : การศึกษาผลของสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีต่อการทำความสะอาดชิ้นส่วน

<u>การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเมื่ออายุ 1 เดือน</u>

การเจริญเติบโตในระยะสัปดาห์แรก ชิ้นส่วนยังไม่มีการเจริญเติบโต ชิ้นส่วนมีความสูง 1-3 มิลลิเมตรสีเขียวอ่อน มีใบ 2 ใบ แต่ชิ้นส่วนเกิดการปนเปื้อนค่อนข้างมากของทุกวิธีการ โดยการปนเปื้อนเกิดจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ในระยะสัปดาห์ที่ 2 จนถึงสัปดาห์ที่ 4 ชิ้นส่วนในทุกวิธีการเกิดการปนเปื้อนเพียงเล็กน้อยในสัปดาห์ที่ 2 และในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 ไม่เกิดการปนเปื้อนของชิ้นส่วน และการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนจะเหมือนกันทุกวิธีการคือ ชิ้นส่วนมีลักษณะสูงประมาณ 5 มิลลิเมตร มีใบ 2-4 ใบ สีของใบมีสีเขียวเข้มกว่าในระยะสัปดาห์แรก ยกเว้น วิธีการที่ 3 จะสังเกตุเห็นลักษณะใบมีรอยสีน้ำตาลและมีสีเขียวอ่อนกว่าในระยะสัปดาห์แรก

จากตารางที่ 1 จะเห็นว่าวิธีการที่ 4 จะให้ผลการทดลองดีที่สุด เนื่องจากมีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนที่ต่ำที่สุด และมีเปอร์เซนต์ชิ้นส่วนการเจริญเติบโตมากที่สุดคือ 80% และมีเปอร์เซนต์ชิ้นส่วนตายต่ำที่สุดคือ 0% ฉะนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจึงใช้วิธีการที่ 4 ในการฟอกฆ่าเชื้อทำความสะอาดชิ้นส่วน

ตารางที่ 1 : ผลของสารฟอกที่มีต่อการทำความสะอาดชิ้นส่วนของ *C.bivittatus* เมื่ออายุ 1 เดือน

วิธีการที่	จำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้น	%ชิ้นส่วนมีการปนเปื้อน	%ชิ้นส่วนเจริญเติบโต	%ชิ้นส่วนตาย
1	17	47.06	52.94	0
2	24	79.17	20.83	0
3	12	66.67	25	8.33
4	20	20	80	0
5	10	90	10	0

การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเมื่ออายุ 1-4 เดือน

จากตารางที่ 2 การเลี้ยงชิ้นส่วนของ *Cryptanthus bivittatus* ในอาหารวิธีการต่างๆ พบว่าในระยะเวลา 1-2 สัปดาห์ การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนต่างๆ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ในระยะสัปดาห์ที่ 3-4 จะเห็นได้ว่า ชิ้นส่วนต่างๆ มีการเจริญเติบโตอย่างเห็นได้ชัดคือ มีแคลลัสเกิดขึ้น แต่ไม่ทุกชิ้นส่วนโดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารสูตรพื้นฐาน ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962) , ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog (1962) ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 25 % สามารถชักนำชิ้นส่วนให้เกิดแคลลัสได้ครบทุกชิ้นส่วน ในสัปดาห์ที่ 3 และแคลลัสสามารถเจริญเติบโตขยายขนาดได้ใหญ่กว่าวิธีการอื่นๆ ทุกวิธีการ และพบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS เติมน้ำมะพร้าว 25 % มีการเกิดแคลลัสไม่ครบทุกชิ้นส่วน เมื่ออายุ 1 เดือน ส่วนวิธีการอื่นๆ ชิ้นส่วนสามารเกิดแคลลัสได้ครบทุกชิ้นส่วน ซึ่งสังเกตุแล้วพบว่า ชิ้นส่วนส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog(1962) , ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog(1962) จะเกิดแคลลัสได้เร็วกว่าสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS สำหรับการเจริญเติบโตเมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 2 และ 3 เดือน พบว่าชิ้นส่วนในสูตรอาหารวิธีการต่างๆ ที่เกิดแคลลัส มีการเพิ่มขยายของแคลลัสได้อย่างรวดเร็ว โดยชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962) , ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog (1962) พบว่าแคลลัสขยายขนาดได้ดีกว่าสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS โดยเฉพาะในอาหารที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 25 % สามารถชักนำชิ้นส่วนให้แคลลัสเกิดยอดได้ครบทุกชิ้นส่วนเมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 2 เดือน จะสังเกตุเห็นว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS สามารถชักนำชิ้นส่วนให้เกิดแคลลัสได้ครบทุกชิ้นส่วน เมื่ออายุครบ 3 เดือนยกเว้นสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 25 % เพียงอย่างเดียว (จากตารางที่ 2)

พบว่าเมื่อชิ้นส่วนอายุครบ 3 เดือนชิ้นส่วนในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog(1962) , ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968)และ วิตามิน Murashige and Skoog(1962) สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ แต่ไม่ครบทุกชิ้นส่วน และชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 25 % ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้เลยเมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 เดือน พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige

and Skoog (1962), ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog (1962) ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 25 % มีการขยายขนาดของแคลลัส และเกิดจำนวนยอดได้มากที่สุดครบทุกชิ้นส่วน และพบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานต่างๆ มีการเจริญเติบโตน้อยลงและชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโตต่ำที่สุดคือ ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 25 % เพียงอย่างเดียว

สำหรับคะแนนการเจริญเติบโตเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติแล้วพบว่าในเดือนที่ 1 ทุกวิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จะเห็นว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962) , ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog (1962) ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 25 % มีคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุด และชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 25% มีคะแนนการเจริญเติบโตต่ำที่สุดในเดือนที่ 2 และ 3 เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าทุกวิธีการมีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเป็นไปได้ .01 และจะเห็นได้ว่าคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962) , ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog(1962) มีการเจริญเติบโตดีกว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS และในทุกวิธีการมีคะแนนการเจริญเติบโตลดลงยกเว้นวิธีการที่ 6 มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่าเดิม

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 เดือน จากการมาวิเคราะห์ทางสถิติจะพบว่าทุกวิธีการมีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเป็นไปได้ .01 และพบว่าชิ้นส่วนในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962),ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968)และวิตามิน Murashige and Skoog(1962) ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ น้ำมะพร้าว 25 % มีคะแนนการเจริญเติบโตทั้ง 4 เดือนสูงที่สุดคือ มีคะแนนการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.813 รองลงมาได้แก่ ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962), ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968)และวิตามิน Murashige and Skoog(1962) ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร,NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ น้ำมะพร้าว 25 % มีคะแนนการเจริญเติบโตทั้ง 4 เดือนเท่ากับ 3.438 และสูตรอาหารที่มีคะแนนการเจริญเติบโตต่ำที่สุดคือ 1/2 MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 25 % เพียงอย่างเดียว

การทดลองที่ 2 : การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้น

ตารางที่ 2 : ผลของสูตรอาหารที่มีต่อการการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน *C.bivittatus* เมื่ออายุ 1-4 เดือน

สูตรอาหารพื้นฐาน	สารควบคุมการเจริญเติบโต	คะแนนการเจริญเติบโต*			
		1	2	3	4
ธาตุอาหารหลัก MS + ธาตุอาหารรอง Ringe & Nitsch + วิตามิน MS	น้ำมะพร้าว 25%	2.063 a	2.250 b	2.750 bc	2.688 b
	น้ำมะพร้าว 25% + BA 1.0 mg/l	2.625 a	3.750 a	3.813 a	3.813 a
	น้ำมะพร้าว 25% + BA 1.0 mg/l + NAA 1.0 mg/l	2.375 ab	3.563 a	3.375 ab	3.438 ab
1/2 MS	น้ำมะพร้าว 25%	1.438 b	2.250 b	2.188 c	1.75 c
	น้ำมะพร้าว 25% + BA 1.0 mg/l	2.500 a	3.250 a	3.375 ab	3.250 ab
	น้ำมะพร้าว 25% + BA 1.0 mg/l + NAA 1.0 mg/l	2.563 a	3.250 a	3.250 ab	3.250 ab

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี DUNCAN'S NEW MULTIPLE RANGE TEST

100517

ตารางที่ 3 : ผลของสูตรอาหารที่มีผลต่อการเกิดยอดของชิ้นส่วน *C.bivittatus* เมื่ออายุ 2-4 เดือน

สูตรอาหารพื้นฐาน	สารควบคุมการเจริญเติบโต	% ชิ้นส่วนเกิดยอด			จำนวนยอด/ชิ้นส่วน		
		อายุชิ้นส่วน (เดือน)			อายุชิ้นส่วน (เดือน)		
		2	3	4	2	3	4
ธาตุอาหารหลัก MS + ธาตุอาหารรอง Ringe & Nitsch + วิตามิน MS	น้ำมะพร้าว 25%	25	50	50	1.10 bc	1.20 bc	1.29 b
	น้ำมะพร้าว 25% + BA 1.0 mg/l	100	100	100	1.72 a	1.98 a	2.63 a
	น้ำมะพร้าว 25% + BA 1.0 mg/l NAA 1.0mg/l	75	100	100	1.47 ab	1.66 ab	2.03 a
1/2 MS	น้ำมะพร้าว 25%	25	25	25	1.00 c	1.00 c	1.00 b
	น้ำมะพร้าว 25% + BA 1.0 mg/l	75	100	100	1.62 a	1.79 ab	2.36 a
	น้ำมะพร้าว 25% + BA 1.0 mg/l NAA 1.0mg/l	75	100	100	1.47 ab	1.85 ab	2.25 a

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี DUNCAN'S NEW MULTIPLE RANGE TEST

จากตารางที่ 3 เมื่อชิ้นส่วนอายุ 2 เดือน พบว่าชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสเกิดยอดขึ้นโดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962), ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968)และวิตามิน Murashige and Skoog(1962) ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและน้ำมะพร้าว 25 % สามารถมีเปอร์เซนต์ชิ้นส่วนเกิดยอด 100 % โดยยอดที่เกิดมีลักษณะ สีเขียว สูงประมาณ 1-3 มิลลิเมตร ในระยะเดือนที่ 3 และ 4 ทุกชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสจะเกิดยอดครบทุกชิ้นส่วนคือ มีเปอร์เซนต์การเกิดยอดเท่ากับ 100 ยกเว้นชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 25 % เพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซนต์การเกิดยอดเพียง 25 % และชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962),ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog (1962) ที่เติมน้ำมะพร้าว 25 % เพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซนต์ชิ้นส่วนเกิดยอดเพียง 50 % จากการสังเกตุพบว่ายอดที่เกิดจากชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962), ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog (1962) มีการเจริญเติบโตได้ดีคือ มีการเพิ่มจำนวนใบ และมีสีเขียวเข้มรวมทั้งมีการขยายขนาดได้ดีกว่ายอดที่เกิดจากชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS

เมื่อนำจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า เมื่อชิ้นส่วนอายุ 2 และ 3 เดือน ทุกทุกวิธีการมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05 พบว่าในชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962) , ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968)และวิตามิน Murashige and Skoog(1962) ที่เติมBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 25 % มีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนสูงที่สุด คือ 1.98 ยอดต่อชิ้นส่วนในเดือนที่ 3 และเมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 เดือน นำจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01 โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962), ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog (1962) ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 25 % มีเปอร์เซนต์ จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนสูงที่สุดคือ 2.63 และชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 25 % เพียงอย่างเดียวมีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนต่ำที่สุดคือ 1.00 ต่อชิ้นส่วน

วิจารณ์ผลการทดลอง

วิจารณ์ผลการทดลองที่ 1

จากผลการทดลองพบว่า วิธีการที่ 4 สามารถฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนได้ดีกว่าวิธีการอื่นๆ และมีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนน้อยที่สุดซึ่งในวิธีการที่ 4 มีการใช้สาร Mercuric chloride ช่วยในการฟอก จะเห็นได้ว่า Mercuric chloride เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการฟอกสับปะรดดังที่ Mathew and Rangan (1979)ได้พบว่า Mercuric chloride เป็นสารฟอกเนื้อเยื่อสับปะรดที่ดีและไม่ทำอันตรายต่อชิ้นส่วน และจะเห็นว่า ในวิธีการที่ 3 มีการใช้ Mercuric chloride เช่นเดียวกันกับวิธีการที่ 4 แต่ในวิธีการที่ 3 ใช้สาร Calcium hypochlorite ซึ่งต่างกับวิธีการที่ 4 ที่ใช้ clorox ที่ประกอบด้วยสาร Sodium hypochlorite และสารทั้งสองชนิดมีคุณสมบัติช่วยในการทำความสะอาดเนื้อเยื่อพืช แต่ Calcium hypochlorite มีความรุนแรงมากกว่า Sodium hypochlorite(Budavari,1989) ดังนั้นในวิธีการที่ 3 จึงมีเปอร์เซนต์ชิ้นส่วนตายสูงที่สุด

วิจารณ์ผลการทดลองที่ 2

จากผลการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962) , ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog(1962) ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 25 % สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อส่วนตาข้างของสับปะรดสีเจริญเป็นแคลลัสและยอดได้ดีที่สุด และยังพบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962), ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog (1962) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดได้ดีกว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS เนื่องจากธาตุอาหารในสูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962), ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog (1962) มีมากกว่าในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS ดังที่สกาวเดือนและสุดารัตน์ (2533) ได้รายงานว่า การชักนำให้สับปะรดเกิดยอดในสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS สามารถชักนำให้สับปะรดเกิดยอดได้ดีกว่าสูตรอาหารพื้นฐาน 1/2 MS และจากผลการทดลองยังพบอีกว่า น้ำมะพร้าวและ BA มีส่วนชักนำให้สับปะรดเกิดยอดและแคลลัส ดังรายงานของ Zepeda และ Sagawa (1981) ได้ทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดพันธุ์

*Ananas comosus*ในอาหารเหลว MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 25 % เป็นเวลา 2 เดือน หลังจากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติม BA 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการชักนำให้เกิดต้นแขนงขึ้น และจากรายงานการทดลองของวารุณี (2522) ได้ทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดพันธุ์แคระ (*Ananas ananassoides* Var.nanus) ในอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก MS, ธาตุอาหารรอง Nitsch (1969) และวิตามิน Nitsch (1969) ซึ่งเติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดยอดได้ดีที่สุดและ Teo (1975) ได้ทำการเลี้ยงชิ้นส่วนของสับปะรด ในอาหารเหลวสูตร Murashige and Skoog ซึ่งเติมน้ำมะพร้าว 10 % ซึ่งจะทำให้เกิดกลุ่มเซล และต้นอ่อนจำนวนมาก

สรุปผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของสับปะรดสี (*Cryptanthus bivittatus*) ในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้ชิ้นส่วนตาข้างที่เกิดจากต้น มาทำการฟอกฆ่าเชื้อ ซึ่งวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ดีที่สุด คือ ใช้ ethanol 70 % แช่เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วย mercuric chloride 0.1 % + tween 20 2 หยด นาน 10 นาที และ clorox 30 % + tween 20 2 หยด นาน 20 นาที หลังจากนั้นฟอกด้วย clorox 10 % + tween 20 2 หยด นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที เมื่อนำชิ้นส่วนไปเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดโดยนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ พบว่าอาหารที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลักของ Murashige and Skoog (1962), ธาตุอาหารรองของ Ringe and Nitsch (1968) และวิตามินของ Murashige and Skoog (1962) ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 25 % ให้ผลดีที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอด

[illegible]

เอกสารอ้างอิง

วารุณี ศรีลาบัง . 2522. การศึกษาขั้นต้นของการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อสับปะรดแคระโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

สกาวเดือน มั่งมี และ สุดารัตน์ นิติวัฒนะ.2533.การขยายพันธุ์สับปะรดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.ปัญหาพิเศษปริญญาตรี.สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

สอาด ร่มรื่นสุขารมย์. 2525. การขยายพันธุ์สับปะรดแคระ *(Ananas nanus)* ในสภาพปลอดเชื้อ.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ.

สุวรรณา สังสิทธิยากร. 2521. การขยายพันธุ์สับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

ศิริพร เบญจศรีอักษร. 2534. สับปะรด(สี). โรงพิมพ์มิตรสยาม. กรุงเทพฯ.94 น.

Aghion ,D. and G. Beauchesne. 1960. Utilisation de la technique de culture sterile d' organs pour obtenir des clones d' Ananas.อ้างโดย สกาวเดือน มั่งมี และ สุดารัตน์ นิติวัฒนะ.2533. การขยายพันธุ์สับปะรดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง,กรุงเทพฯ.

Branka, V.and D. Vinterhalter.1994.True-to-the *in vitro* propagation of *Aechmea fasciata* Baker. Sci. Hort. 57: 253-263.

Budavari ,S. 1989. The Merck Index . MERCK & CO INC. Rahwway, New Jersey. U.S.A. 1606 p.

Hosoki, T. and T. Asahira.1980. *In vitro* propagation of Bromeliads in liquid culture. Hort Sci. 15 (5): 603-604.

Jeanne, B.J. and T. Murashige. 1974. Tissue culture propagation of *Aechmea fasciata* beaker.and other Bromeliads.อ้างโดย สกาวเดือน มั่งมี และ สุดารัตน์ นิติวัฒนะ.2533.การขยายพันธุ์สับปะรดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

Mathews, V.H. and P.S.Pao. 1982. *In vitro* plant regeneration in lateral bud explants of *Cryptanthus bromeliodes* Var. Tricolor M.B. Foster. Plant Cell Rep. 1 : 108-110.

Mathews, V.H. and T.S. Rangan. 1979. Multiple plantlets in lateral bud and leaf explant *in vitro* cultures of Pineapple. Sci. Hort. 11 : 319-328.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant.15 : 473-497.

Ringe, F. and J.P. Nitsch. 1968. Contributions leading to flower formation on excised Begonia fragments cultured *in vitro*.Plant & Cell Physiol. 9: 639-652.

TeO, c.K.H. 1975. The significance of tissue culture to malasian pineapple industry. อ้างโดย สกาวเดือน มั่งมี และ สุดารัตน์ นิติวัฒนะ.2533. การขยายพันธุ์สับปะรดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง,กรุงเทพฯ.

Zepeda, c. and Y. Sagawa. 1981. *In vitro* propagation of Pineapple. Hort. Sci. 16(4) : 495.

Zimmer, K. and W. Pieper. 1976. *In vitro* culture of Aechmeas.อ้างโดย สอาด ร่มรื่นสุขารมย์. 2525. การขยายพันธุ์สับปะรดแคระ *(Ananas nanus)*ในสภาพปลอดเชื้อ.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ.

ภาคผนวก

สูตรอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962), ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968) และวิตามิน Murashige and Skoog(1962)

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณ มิลลิกรัมต่อลิตร
ธาตุอาหารหลัก Murashige and Skoog (1962)	
$(NH_4)NO_3$	1650
KNO_3	1900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
ธาตุอาหารรอง Ringe and Nitsch (1968)	
$FeSO_4.7H_2O$	27.8
Na_2EDTA	37.3
$MnSO_4.7H_2O$	25
$ZnSO_4.7H_2O$	10
KI	1
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณ มิลลิกรัมต่อลิตร
วิตามิน Murashige and Skoog(1962)	100
Myo-inositol	0.5
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Glycine	2.0
Sucrose	20 g/l
น้ำมะพร้าว	25 %

สูตรอาหารพื้นฐาน Murashige and Skoog (1962)

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณ มิลลิกรัมต่อลิตร
$(NH_4)NO_3$	1650
KNO_3	1900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
$FeSO_4.7H_2O$	27.8
Na_2EDTA	37.3
$MnSO_4.7H_2O$	22.3
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
H_3BO_3	6.2
KI	0.83
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Myo-inositol	0.5
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Glycine	2.0
Sucrose	30 g/l
น้ำมะพร้าว	25 %

ตารางผลทางสถิติที่ 1 การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนการเจริญเติบโตของสับปะรดพันธุ์ *Cryptanthus bivittatus* เมื่ออายุ 1 เดือน

Source	df	SS	MS	F	$F_{.05}$	$F_{.01}$
Block	3	2.320	0.773	2.346 ns	3.29	5.42
Treatment	5	4.044	0.809	2.453 ns	2.90	4.56
Ex.Error	15	4.945	0.330			
Total	23	11.310	0.492			

Grand Mean = 2.230 cv = 52.40 % S.E. = 0.287

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผลทางสถิติที่ 2 การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนการเจริญเติบโตของสับปะรดพันธุ์ *Cryptanthus bivittatus* เมื่ออายุ 2 เดือน

Source	df	SS	MS	F	$F_{.05}$	$F_{.01}$
Block	3	3.945	1.315	4.810 *	3.29	5.42
Treatment	5	8.3451	1.690	6.181 **	2.90	4.56
Ex.Error	15	4.102	0.273			
Total	23	16.497	0.717			

Grand Mean = 3.052 cv = 17.13 % S.E. = 0.261

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผลทางสถิติที่ 3 การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนการเจริญเติบโตของสับปะรดพันธุ์ *Cryptanthus bivittatus* เมื่ออายุ 3 เดือน

Source	df	SS	MS	F	$F_{.05}$	$F_{.01}$
Block	3	6.396	2.132	7.852 **	3.29	5.42
Treatment	5	6.531	1.306	4.811 **	2.90	4.56
Ex.Error	15	4.073	0.272			
Total	23	17.000	0.739			

Grand Mean = 3.125 cv = 16.67 % S.E. = 0.260

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผลทางสถิติที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนการเจริญเติบโตของสับปะรดพันธุ์ *Cryptanthus bivittatus* เมื่ออายุ 4 เดือน

Source	df	SS	MS	F	$F_{.05}$	$F_{.01}$
Block	3	3.737	1.246	3.305 *	3.29	5.42
Treatment	5	10.523	2.105	5.584 **	2.90	4.56
Ex.Error	15	5.654	0.377			
Total	23	19.914	0.866			

Grand Mean = 3.031 cv = 20.25 % S.E. = 0.306

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผลทางสถิติที่ 5 การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนของสับปะรด *Cryptanthus bivittatus* เมื่ออายุ 2 เดือน โดยใช้วิเคราะห์แบบ Transformation แบบ $\sqrt{X + 1}$

Source	df	SS	MS	F	$F_{.05}$	$F_{.01}$
Block	3	0.420	0.140	1.819 ns	3.29	5.42
Treatment	5	1.618	0.324	4.208 *	2.90	4.56
Ex.Error	15	1.153	0.077			
Total	23	3.191	0.139			

Grand Mean = 1.395 cv = 19.88 % S.E. = 0.138

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผลทางสถิติที่ 6 การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนของสับปะรด *Cryptanthus bivittatus* เมื่ออายุ 3 เดือน โดยใช้วิเคราะห์แบบ Transformation แบบ $\sqrt{X + 1}$

Source	df	SS	MS	F	$F_{.05}$	$F_{.01}$
Block	3	0.594	0.198	1.258 ns	3.29	5.42
Treatment	5	3.033	0.607	3.855 *	2.90	4.56
Ex.Error	15	2.361	0.157			
Total	23	5.987	0.260			

Grand Mean = 1.581 cv = 25.09 % S.E. = 0.198

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผลทางสถิติที่ 7 การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนของสับปะรด *Cryptanthus bivittatus* เมื่ออายุ 4 เดือน โดยใช้วิเคราะห์แบบ Transformation แบบ $\sqrt{X + 1}$

Source	df	SS	MS	F	$F_{.05}$	$F_{.01}$
Block	3	1.579	0.526	2.352 ns	3.29	5.42
Treatment	5	8.234	1.647	7.359 **	2.90	4.56
Ex.Error	15	3.357	0.224			
Total	23	13.169	0.573			

Grand Mean = 1.925 cv = 24.58 % S.E. = 0.985

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ