

594.24048

๗ 432 ๐

๑.3

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวแกลดิโอลัสเพื่อการขยายพันธุ์

ปริญญานิพนธ์

ของ

กานดา ชาสวัสดิ์

12 พ.ย. 2533]

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกชีววิทยา

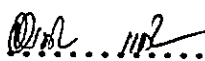
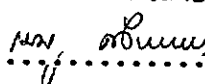
กุมภาพันธ์ 2533

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

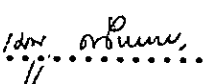
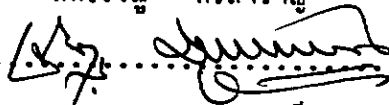
170992

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตและคณะกรรมการสอบได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิตวิชาเอกชีววิทยาของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 1๕

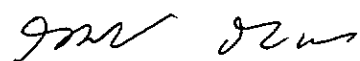
คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....  ประธาน
(อ.อรพันธ์ แก้วลาย)
.....  กรรมการ
(ผศ.เรณู ทรสำราญ)

กรรมการสอบ

.....  ประธาน
(อ.อรพันธ์ แก้วลาย)
.....  กรรมการ
(ผศ.เรณู ทรสำราญ)
.....  กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(รศ.ดร.เสนาะ บุญมี)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....  คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศ.ดร.สมพร บัวทอง)

วันที่ ..15.. เดือน ..มิถุนายน... พ.ศ. 2533

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาในการให้คำปรึกษาคำแนะนำ ความช่วยเหลือ ตลอดจนการปรับปรุง ตรวจแก้ไข ข้อบกพร่องต่าง ๆ จากท่านอาจารย์อรพินท์ แก้วลาย ประธานเพียรรักษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เรณู ศรีสำราญ และรศ.ดร.เสนาะ บุญมี กรรมการที่ปรึกษา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในพระคุณของท่านอาจารย์ดังกล่าวที่ให้ความกรุณาเมตตา ต่อผู้วิจัยด้วยดีตลอดมา จึงขอกราบขอบพระคุณท่านไว้เป็นอย่างสูง ณ. ที่นี้

ขอขอบคุณ คุณอภารัตน์ โยทองยศ คุณแก้วก้าง สาคร คุณสุวรรณี พรหมศิริ คุณจุฑารัตน์ ธาณี คุณรัตนา ถวิลวงษ์ คุณพนธ ทิพย์วิมลรัตน์ คุณกรรณิกา อินทรโยธินและเพื่อน ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการดำเนินการวิจัยลุล่วงด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์ของปริญญานิพนธ์ ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณของบิดา มารดา ตลอดจนผู้มีพระคุณที่ได้กล่าวนามไว้ ณ ที่นี้ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือสนับสนุน ทั้งกำลังใจ และกำลังใจทรัพย์ และขออ้อมรำลึกถึงพระคุณของคุณครูอาจารย์ทุกท่านที่ให้การศึกษาศึกษาและความรู้แก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด

กานดา ชาสวัสดิ์

สารบัญ

บทที่

หน้า

1	บทนำ	1
	ภูมิหลัง	1
	ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	2
	ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	3
	ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	3
	นิยามศัพท์เฉพาะ	4
2	เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
3	วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า	9
	อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า	9
	วิธีการทดลอง	10
	การเก็บรวบรวมข้อมูล	16
4	ผลการศึกษาค้นคว้า	17
	การทดลองที่ 1	17
	การเจริญของเนื้อเยื่อหัวส่วนบน	17
	การเจริญของเนื้อเยื่อหัวส่วนล่าง	20
	การเจริญของเนื้อเยื่อส่วนล่างของหัว	23
	เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัว	26
	การทดลองที่ 2	44
	การเจริญของเนื้อเยื่อตาข้างที่ติดกับหัว	44

การทดลองที่ 3	50
การเจริญของต้นแขนง	50
การทดลองที่ 4	54
การชักนำให้ต้นแขนงสร้างราก	54
การทดลองที่ 5	61
การนำต้นพืชออกปลูก	61
5 สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ	64
ความมุ่งหมายการศึกษาทั้งเก้า	64
วิธีการศึกษาทั้งเก้า	64
สรุปผลการทดลองที่ 1 และอภิปรายผลการทดลอง	65
สรุปผลการทดลองที่ 2 และอภิปรายผลการทดลอง	65
สรุปผลการทดลองที่ 3 และอภิปรายผลการทดลอง	69
สรุปผลการทดลองที่ 4 และอภิปรายผลการทดลอง	69
สรุปผลการทดลองที่ 5 และอภิปรายผลการทดลอง	70
ข้อเสนอแนะ	72
บรรณานุกรม	74
ภาคผนวก	77
ประวัติย่อของผู้วิจัย	80

บัญชีตาราง

ตาราง

หน้า

1	อาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ NAA	13
2	อาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ NAA และ K ร่วมกับ NAA	14
3	อาหาร MS คัดแปลงและ MS/2 คัดแปลงที่เติมไคทาลกับ NAA ระดับต่าง ๆ กัน	15
4	การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัวส่วนบน หัวส่วนล่างและส่วนกลางของหัวใน สูตรอาหาร MS คัดแปลงที่เติม BA และ NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เวลา 6 สัปดาห์ และ 10 สัปดาห์	27
5	น้ำหนักสดของเนื้อเยื่อหัวหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน	35
6	เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัวส่วนบน	36
7	เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัวส่วนล่าง	38
8	เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัว	42
9	การเจริญของตาข้างเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลงสูตรต่าง ๆ	43
10	น้ำหนักสดเฉลี่ยของตาข้างและจำนวนหน่อที่แตกใหม่เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลงสูตรต่าง ๆ	47
11	จำนวนและความสูงของต้นแขนงที่เกิดจากเนื้อเยื่อหัวและตาข้างที่ติดกับหัว	51
12	อาหาร MS คัดแปลงและ MS/2 คัดแปลงที่เติมไคทาลกับ NAA ระดับต่าง ๆ กัน	56
13	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของต้นกล้าในวัสดุปลูกต่าง ๆ	62

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ

หน้า

1	เนื้อเยื่อหัวส่วนบนที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS คัดแปลงที่เติม BA และ NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นเวลา 2 เดือน	19
2	เนื้อเยื่อหัวส่วนล่างที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS คัดแปลงที่เติม BA และ NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน	22
3	เนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS คัดแปลง ที่เติม BA และ NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน	25
4	น้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อหัวที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS คัดแปลง เป็นเวลา 2 เดือน	37
5	น้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อหัวที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลง เป็นเวลา 2 เดือน	37
6	การเจริญของเนื้อเยื่อตาข้างหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 2 สัปดาห์	49
7	การแตกต้นแขนงจากหน่อที่ตัดแยกจากเนื้อเยื่อตาข้างที่ติดกับหัว เมื่อเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	52
8	ต้นแขนงที่เกิดจากเนื้อเยื่อหัวที่ตัดแบ่งจากการทดลองที่ 1	53
9	ก. ความสัมพันธ์ของ NAA กับจำนวนวันที่เกิดรากในอาหาร MS	58
	ข. ความสัมพันธ์ของ NAA กับจำนวนวันที่เกิดรากในอาหาร MS/2	59
10	ต้นกลไกโอลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาล 3%	60
11	ต้นกลไกโอลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างที่ติดกับหัวเมื่อย้ายออกปลูก ในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ	63

บทนำ

ภูมิหลัง

กลadiโอลัสเป็นไม้ตัดดอกที่รู้จัก และนิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายมานานแล้วในต่างประเทศ โดยเฉพาะในสหรัฐอเมริกาและเนเธอร์แลนด์ โดยที่ชาวกรีกและโรมันใช้ดอกกลadiโอลัสประดับงานสำคัญต่าง ๆ ไม้มีสีสกลีสมานานกว่า 2,000 ปีแล้ว (นันทิยา สมานนท์. 2530 : 1) ในประเทศไทยในปัจจุบันนี้ก็เป็นที่ยอมรับกัน ไม่ว่าจะเป็นใช้เป็นไม้ตัดดอกหรือไม้ดอกประดับแปลงและตกแต่งสถานที่ ทั้งนี้เนื่องมาจากความสวยงามของดอก ดอกยาว แข็งแรง และมีหลายสี ตลอดจนมีอายุการบานของดอกนานหลายวัน จึงมีแนวโน้มว่าไม้ตัดดอกชนิดนี้จะเป็นที่ต้องการมากขึ้น (สมเพียร เกษมทรัพย์. 2522 : 63)

กลadiโอลัสพันธุ์ป่าเป็นพันธุ์ในตระกูล อิริดาซีอี (Iridaceae) พบมากในอัฟริกากลางและอัฟริกาใต้ ในประเทศแถบฝั่งทะเลเมดิเตอร์เรเนียน มีหลายชนิดที่ลักษณะไม่เหมือนกลadiโอลัสที่ใช้เป็นไม้ตัดดอก ในปัจจุบันมีการผสมและการคัดเลือกพันธุ์ใหม่ ๆ มากมายพันธุ์ใหม่เหล่านี้ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ ในแง่รูปร่างของดอก สี เวลาในการออกดอก และความต้านทานโรค (นันทิยา สมานนท์. 2530 : 7) พันธุ์ที่นิยมปลูกกันทั่วไปในปัจจุบันให้สีต่าง ๆ ได้แก่ (Wilfret, G.J. 1980 : 27 - 28)

สีขาว	ได้แก่พันธุ์	June Bell, White Excelsior
สีเหลือง	"	Hopman's Glory, Vink's Glory
สีชมพู	"	Friendship, Spic and Span
สีแดง	"	Valeria, Wildegard
สีม่วง	"	Elizabeth the Queen, Companile

การปลูกแกลดิโอลัสเป็นการค้า มักมีปัญหาเกี่ยวกับหัวหรือหัวย่อย พันธุ์ลูกผสมใหม่ ๆ ต้องสั่งจากต่างประเทศแต่พันธุ์ที่สั่งจากต่างประเทศส่วนใหญ่มีราคาแพง คือหัวละประมาณ 200 บาท และเมื่อนำมาปลูกในประเทศไทย ต้นทุนในการผลิตค่อนข้างสูง การปรับตัวให้เข้ากับภูมิอากาศในประเทศไทยค่อนข้างยาก และความต้านทานต่อโรคและแมลงมีน้อย (แสงธรรม คมกฤส. 2516 : 63) สำหรับหัวพันธุ์ที่ผลิตขึ้นในประเทศไทยราคาหัวละ 3.50 บาท ก็นับว่ายังแพงอยู่เมื่อคิดถึงผลผลิตต่อหัวต่อพื้นที่ผลิตได้ หัวพันธุ์ส่วนใหญ่ที่ผลิตขึ้นในประเทศไทยเป็นหัวพันธุ์ลูกผสมจากต่างประเทศที่มีการคัดเลือกพันธุ์แล้ว ในด้านที่จะทนทานต่อสภาพภูมิอากาศของประเทศ ตลอดจนความต้านทานต่อโรคและแมลง นอกจากนั้นการผลิตหัวตามธรรมชาติจะให้เวลานาน คือประมาณ 3 เดือน และได้ปริมาณที่จำกัด ~~ยัง~~ ขึ้นอยู่กับชนิดของหัวพันธุ์และสภาพแวดล้อม แต่เฉลี่ยแล้วในหัวพันธุ์ 1 หัว จะได้ประมาณ 30-50 หัว ในเวลา 3 เดือน (สมเพียร เกษมทรัพย์. 2522 : 62) ซึ่งก็ถือว่าเป็นการขยายพันธุ์ช้า ถ้าได้มีการนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ก็จะช่วยให้สามารถขยายพันธุ์ได้ปริมาณมากกว่าในเวลาเท่ากัน และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนี้ นอกจากจะได้ต้นพืชในปริมาณที่มากแล้ว ยังสามารถผลิตขนาดของต้นที่สม่ำเสมอขึ้น ทั้งยังเป็นการลดต้นทุนในการผลิตวิธีหนึ่ง เหมาะในการนำไปปลูกเพื่อผลิตดอกเป็นการค้าต่อไป

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. ศึกษาและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนหัว
2. ศึกษาหาระดับความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของตา ใบแก่ที่สามารถชักนำให้เกิดต้นจำนวนมาก และรากที่สมบูรณ์
3. เพื่อผลิตต้นกล้าแกลดิโอลัสในปริมาณมาก ที่มีขนาดของต้นสม่ำเสมอสำหรับการนำไปปลูกในวัสดุปลูกต่อไป
4. เพื่อศึกษาความอดุ่ยรอของต้นกล้าที่นำออกไปปลูกในวัสดุปลูกต่างชนิดกัน ภายใต้สภาวะแวดล้อมเดียวกัน

ความสำคัญของการศึกษากันคว่ำ

1. ทำให้ทราบว่าเนื้อเยื่อส่วนใดของหัวมีการเจริญดีที่สุด
2. ทำให้ทราบถึงระดับความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมสามารถชักนำให้เกิดต้น และรากที่สมบูรณ์
3. ทำให้ทราบถึงวัสดุปลูกที่เหมาะสมในการรองรับต้นกล้า
4. ช่วยลดต้นทุนในการผลิต รวมทั้งลดการนำเข้าสินค้าชนิดนี้จากต่างประเทศ ซึ่งเป็นการลดดุลการค้าระหว่างประเทศได้

ขอบเขตของการศึกษากันคว่ำ

1. อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงคือ อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog. 1962 : 473 - 497) MS ดัดแปลงที่เติมสารเร่งการเจริญเติบโต คือ BA (Benzyladenine) NAA (Naphthaleneaceticacid) และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน และ MS/2 ที่เติมไคตาในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน
2. พืชทดลอง คือ แกลดิโอลัส โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนหัว และตาข้างที่ติดอยู่กับหัว
3. วัสดุปลูกที่ใช้ในการรองรับต้นกล้าภายหลัง จากการย้ายออกจากขวด คือทราย : พีท = 2:1, (Ziv. 1987 : 257 - 260, ทราย : ขี้เถ้าแกลบ = 1:1, ทราย : ขี้เถ้าแกลบ : ขุยมะพร้าว = 1:1:1

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. เนื้อเยื่อส่วนกลางของหัว หมายถึง เนื้อเยื่อที่ยังอ่อนบริเวณยอดของหัว
2. เนื้อเยื่อหัวส่วนบน หมายถึง เนื้อเยื่อทางด้านบน ที่ได้จากการผ่าหัวแบบแบ่งครึ่งตามขวางของหัว ยกเว้นเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัว
3. เนื้อเยื่อหัวส่วนล่าง หมายถึง เนื้อเยื่อส่วนล่างของหัวที่ได้จากการผ่าหัวแบบแบ่งครึ่งตามขวางของหัว
4. ต้นแขนง หมายถึง ต้นที่เจริญจากหน่อเล็ก ๆ โดยยังไม่มีราก
5. แกลลัส หมายถึง กลุ่มเซลล์พาเร็นไคมา (parenchyma) ที่เกาะรวมกันอยู่โดยยังมิได้มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะเจาะจง (ไพบูลย์ กวีลเลิศวัฒนา. 2524 : 10) .

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แกลดิโอลัส มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Gladiolus hybridus เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์อิริดาซีอี (Iridaceae) ชื่อสามัญคือ Sword lilly เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ลำต้นของแกลดิโอลัสมีลักษณะเป็นหัว (corm) อยู่ใต้ดินมีตา 2-6 ตา ทรงบริเวณข้อ โดยที่ตาใหญ่ 1-2 ตา จะเจริญไปเป็นใบเรียวยาว มีประมาณ 7-10 ใบ เส้นใบขนานไปตามความยาวใบ ตาคอกเกิดจากตาออก เปลี่ยนแปลงไปให้ช่อดอกแบบ spike (สมเพียร เกษมทรัพย์. 2522 : 64) รากประกอบด้วยรากที่งอกครั้งแรก (primary root) ลักษณะคล้ายเส้นค้าย และรากที่เกิดจากหัวใหม่ที่กำลังขึ้น ทำหน้าที่แทนรากเก่าเรียก contractile root มีลักษณะอ้วนใหญ่ทำหน้าที่ยึดลำต้น คุบน้ำและแร่ธาตุขึ้นไปเลี้ยงลำต้นให้มีการเจริญเติบโต แกลดิโอลัสเป็นพืชที่ชอบดินร่วนปนทราย pH ของดินอยู่ระหว่าง 5.5-6.5 ดินปลูกต้องมีการระบายน้ำดี ชอบแสงแดดพอควร อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 10-25 องศาเซลเซียส จัดเป็นไม้หัวกิ่งเมืองร้อน ขยายพันธุ์โดยใช้หัว หัวย่อย และเมล็ด (นันทิยา สมานนท์. 2530 : 22)

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแกลดิโอลัสเริ่มครั้งแรกโดย ซิฟ ฮาลวี และชิโล (Ziv, Haleivy and Shilo. 1969 : 671 - 676) ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแกลดิโอลัส 2 พันธุ์ คือ Sans Souci และ Jo Wagenaar โดยใช้ส่วนของก้านช่อดอกอ่อนมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงที่เติมสารเร่งการเจริญเติบโตคือ NAA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื้อเยื่อมีการสร้างแคลลัส และปมราก (root primordia) หลังจากนั้นจะเกิดการสร้างตา และหัวย่อยภายใน 6-7 สัปดาห์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแกลดิโอลัส ไม่ว่าจะใช้ส่วนหัว ตาข้างที่ติดกับหัวหรือปลายยอด มาเพาะเลี้ยง สูตรอาหารพื้นฐาน และสารเร่งการเจริญเติบโตมีความสำคัญต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวในสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.1-6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตสร้างโปรโตคอร์ม (protocorm) ตรงรอยตัด ซึ่งต่อไปจะเจริญเป็นยอดเล็ก ๆ จำนวนมาก ยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะเขียวแข็งแรง และจะมีการสร้างรากเจริญไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้นต่ำคือ 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (วิไลลักษณ์ ทัศนะจิตร. 2524 : 76)

เอลเลน (Ellen. 1987 : 181 - 189) ได้ใช้เนื้อเยื่อหัวของแกลดิโอลัสพันธุ์ลูกผสมระหว่าง Ixia viridifolia กับ Gladiolus X Homoglossum เพาะเลี้ยงในอาหาร LS (Linsmaier and Skoog. 1965) โดยเติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ NAA ความเข้มข้น 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตเป็นต้น จากนั้นสองเดือนจึงย้ายลงในอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 0.02-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อให้พืชมีการตั้งตัว จึงย้ายลงในอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 0.0-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อให้พืชมีการสร้างรากและต้นที่สมบูรณ์ต่อไป

การทดลองใช้ตาข้างติดกับหัว เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.08-8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื้อเยื่อจะมีการสร้างยอดจำนวนมาก และพบว่าใน BAP ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.12-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีการเจริญเติบโตของยอดมากภายใน 2 - 3 สัปดาห์ การเจริญเติบโตที่ดีที่สุดที่ความเข้มข้นของ BAP 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และถ้าใช้ BAP ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อจะมีน้อยหรือแทบไม่มีเลย ถ้าเติม BAP ที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชที่ได้จะมีลักษณะผิดปกติคือ ลักษณะเป็นก้อนคล้ายแคลลัส และมีสีขาวขี้ดและถ้าเติม NAA ลงไปจะทำให้การเจริญของยอดลดลงแต่มีแคลลัสเกิดขึ้น (Hussey. 1977 : 287 - 296)

ซีฟ (Ziv. 1979 : 257 - 260) ได้ใช้ตาข้างที่ติดกับหัวของแกลดิโอลัสพันธุ์ Eurovision เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตาข้างมีการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้

การใช้ปลายยอดของแกลดิโอลัสพันธุ์ Firmanent และ Hit Parade เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin และ NAA ความเข้มข้น 2.0 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบว่า มีการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ทั้งที่ใบ และรากที่สมบูรณ์ (Fossard, 1983 : 221 - 227)

วาง และ ชวง (Wang and Huang, 1978 : 137 - 144) ได้เพาะเลี้ยงส่วนตาข้างของก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์ Spic and Span, White Friendship และ Traveler พบว่าเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารของ Knudson หรือ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.4 - 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื้อเยื่อจะมีการเจริญเติบโตคล้ายกับหัวอ่อน และเมื่อย้ายลงในอาหาร MS ที่ไม่เติม BA เนื้อเยื่อจะมีการเจริญเติบโตสร้างใบ ราก และหัว

การเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อนพบว่า เนื้อเยื่อสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 - 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือใช้ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร การเพิ่มปริมาณน้ำตาลในสูตรอาหารที่เหมาะสมเป็น 4.5 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตได้เร็วขึ้นสร้างตาออกและต้นแขนงจำนวนมาก เนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยตาออกและต้นแขนงขนาดเล็ก เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันที่ไม่เติม BA หรือเติม BA ความเข้มข้นต่ำ ตาออกและต้นแขนงจะเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมาก เมื่อย้ายต้นแขนงเหล่านี้ไปเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีรากเกิดขึ้นจำนวนมาก สามารถย้ายปลูกได้ภายใน 6 สัปดาห์ (สะอาค รุ่งวันสุพรรณย์, 2526 : 96)

ในการทดลองนอกจากจะเพาะเลี้ยงต้นให้สมบูรณ์คือที่มีทั้งต้น และรากแล้วการย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้พืชสามารถอยู่ตัวในสภาพแข็งแรง ดังนั้นก่อนย้ายออกปลูกควรย้ายต้นกล้างลงในอาหาร MS ซึ่งลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง (MS/2) และเติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นแกลดิโอลัสที่ได้จะมีความแข็งแรงมากขึ้น แล้วจึงย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกที่มีทรายผสมพีทอัตราส่วน 1 : 1 เลี้ยงใน growth chamber ซึ่งให้แสง 14 ชั่วโมง อุณหภูมิตอนกลางวัน 24 องศาเซลเซียส ตอนกลางคืน 20 องศาเซลเซียส ต้นแกลดิโอลัส จะมี

การเติมโตติ (Ziv. 1979 : 257 - 260) หรือจะย้ายลงปลูกในสแฟกนัม 9 ส่วน ผสมทราย 1 ส่วนที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว รดด้วยสารละลายของโฮกแลนด์ (Hoagland's Solution) ตักกล้าที่ได้จะตั้งตัวได้ภายใน 2 - 4 สัปดาห์ (Fossard. 1983 : 221 - 227).

จากการทดลองย้ายต้นที่เกิดรากสมบูรณ์ภายในสภาพปลอดเชื้อ โดยล้างรากออกให้หมดนำไปชุบยาเกินรา จึงนำลงปลูกในทรายผสมถ่านแกลบอัตราส่วน 1 : 1 รดน้ำให้พอเหมาะ นำไปวางใน growth chamber ขนาดเล็กที่อุณหภูมิ 22 - 26 องศาเซลเซียส ให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังจากปลูกลง 1 เดือน พบว่ามีต้นรอดตาย 45 เปอร์เซ็นต์ (สะอาด ร่มรื่นสุชาวัฒน์. 2526 : 76)

วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า

1. พืชทดลอง คือ แกลดดิโอลัส โดยใช้ส่วนหัวของพันธุ์ Friendship
2. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ประกอบด้วย บีกเกอร์ ขนาดต่าง ๆ เปิบัตต์ ขวดแก้ว กระบอกตวง แท่งแก้วคนสาร เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter) เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด (analytical balance) และเครื่องนึ่งอັก (autoclave)
3. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วน ได้แก่ ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (transfer carbinet) มีดผ่าตัด ปากคีบ จานแก้ว ตะเกียงอัลกอฮอล์ ขวดอาหารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (1962)
5. สารเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่ BA, NAA และ Kinetin
6. สารเคมีสำหรับการฆ่าเชื้อ ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรด์ เอทานอล (ethanol) 70 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์ กลีนาไซด์ (kleenacide) และทวิน-20 (tween-20)
7. ภูินและน้ำตาลซูโครส
8. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส มีชั้นวางขวด ที่มีแสงฟลูออเรสเซนต์ 40 วัตต์ ช่วงแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน

วิธีทดลอง

1. การเตรียมอาหาร

1.1 เตรียมสารละลายเข้มข้น (stock solution) สูตรอาหารของ MS จำนวน 6 สารละลายเข้มข้น (stock, ภาคนวณ)

1.2 เตรียมสารเร่งการเจริญเติบโต คือ NAA, BA และ K ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยการชั่ง NAA 0.01 กรัม แล้วละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 - 3 หยดแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร และชั่ง BA 0.01 กรัม ละลายใน NaOH 2 - 3 หยดแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร สำหรับ K เติมน้ำเดียวกับ BA

1.3 เตรียมอาหารสูตร MS มีขั้นตอนดังนี้

1.3.1 นำสารละลายเข้มข้นชนิดที่ 1 - 5 อย่างละ 10 มิลลิลิตร รวมกับ สารละลายเข้มข้นชนิดที่ 6 จำนวน 5 มิลลิลิตร

1.3.2 เติมน้ำตาล 30 กรัม

1.3.3 ทนสารละลายให้เข้ากัน (ถ้าใช้สารเร่งการเจริญเติบโตในสูตร MS คัดแปลงให้ใส่ตอนนี้) เติมน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปปรับ pH ให้ได้ 5.6-5.8 ด้วย 1 N. HCl หรือ 1 N. NaOH แล้วกลั่นให้ละลาย

1.3.4 ชั่งวุ้น 8 กรัม ใส่รวมกับน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำไปหลอมให้ละลาย แล้วผสมกับสารละลายที่ได้จากข้อ 1.3.3 คนให้เข้ากันในภาชนะขนาดปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร

1.3.5 นำไปบรรจุลงในขวดอาหารปริมาตร 15 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาขวด

1.3.6 ตั้งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งอັก ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้วนาน 15 นาที ปิดฝาขวดให้แน่นหลังนึ่งเสร็จแล้ว

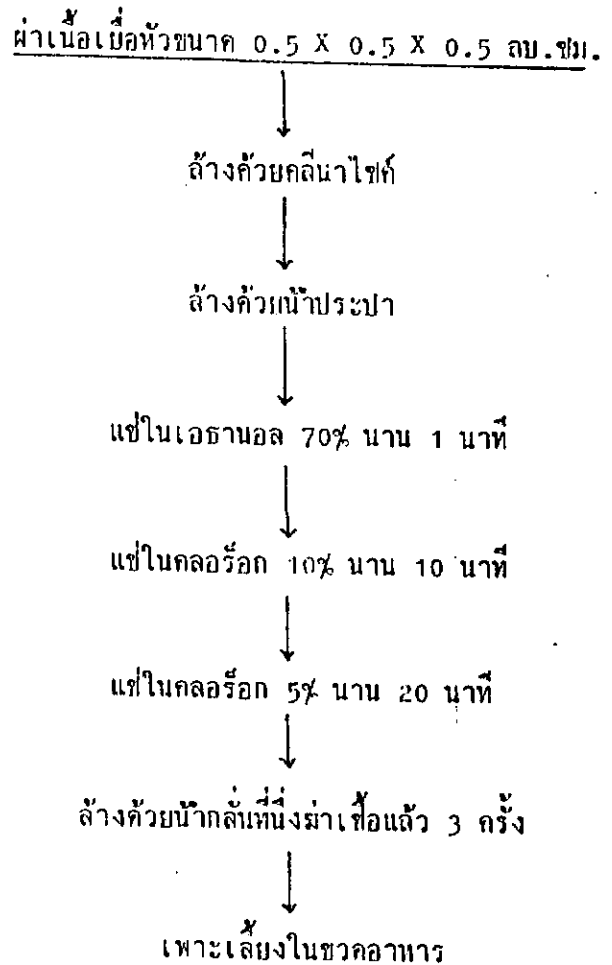
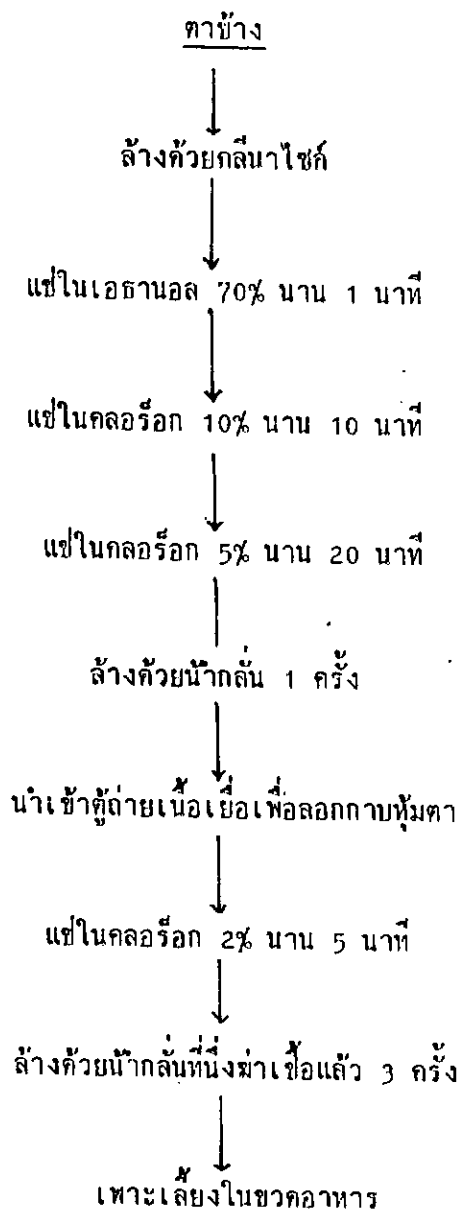
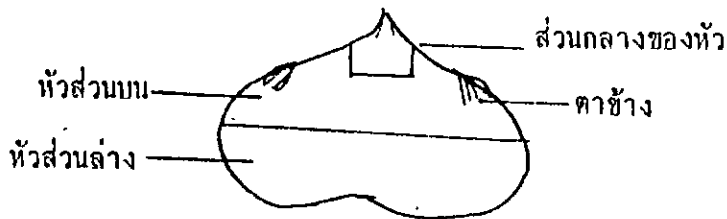
1.3.7 ปลอ่ยให้อาหารเย็น แล้วนำไปเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต่อไป

2. การทำความสะอาดเนื้อเยื่อส่วนหัวเกล็ดไอลัส

นำหัวเกล็ดไอลัสมาลอกเอาแกนหุ้มภายนอกออก นำไปล้างให้สะอาดด้วยคลีนไชน์แล้วล้างด้วยน้ำประปา หลาย ๆ ครั้ง ซับให้แห้ง ใช้มีดคมที่สะอาดลอกเปลือกที่หัวออก ผ่านหัวเกล็ดไอลัสตามแนวขวางแบ่งครึ่งแล้วจึงผ่าแบ่งตามยาวออกเป็นสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ $0.5 \times 0.5 \times 0.5$ ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยแยกตาที่ติดหัวออกไป จากนั้นจึงฟอกทำความสะอาดอีกครั้งด้วยคลีนไชน์ แล้วล้างด้วยน้ำประปาหลาย ๆ ครั้ง ซับให้แห้งนำไปแช่ในเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์นาน 1 นาทีแล้ว ทำซ้ำดังต่อไปนี้

ภาพแผนผังแสดงส่วนต่าง ๆ ของหัวและขั้นตอนการทำความสะอาด

นำหัวเกล็ดโอลด์สมาปอกเปลือกด้วยมีดสะอาด แล้วล้างด้วยกลีนาไซค์หลาย ๆ ครั้ง



การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของ BA และ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัว

นำเนื้อเยื่อส่วนบนของหัว, เนื้อเยื่อหัวส่วนล่างและเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวตัดเป็นรูปลูกบาศก์ ขนาด $0.5 \times 0.5 \times 0.5$ ลูกบาศก์เซนติเมตร เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติมสารเร่งการเจริญเติบโต คือ BA และ NAA ในระดับความเข้มข้นที่ 0, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 และ 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลานาน 2 เดือน

ตาราง 1 อาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)

BA NAA		0	0.05	0.1	0.5	1.0	2.0
0	สูตร	1	6	11	16	21	26
0.1		2	7	12	17	22	27
0.5		3	8	13	18	23	28
1.0		4	9	14	19	24	29
2.0		5	10	15	20	25	30

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความเข้มข้นของ BA ร่วมกับ NAA และ K ร่วมกับ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ของตาข้าง ในอาหาร MS คัดแปลง

นำเนื้อเยื่อตาข้างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม BA 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.05, 0.1, 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม K ร่วมกับ NAA ในระดับความเข้มข้นเช่นเดียวกับ BA ร่วมกับ NAA เป็นเวลานาน 1 เดือน

ตาราง 2 อาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ NAA และ K ร่วมกับ NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)

BA \ NAA	0.5	1.0	1.5	2.0	K	0.5	1.0	1.5	2.0
0.05	31	34	37	40	43	46	49	52	
0.1	32	35	38	41	44	47	50	53	
0.2	33	36	39	42	45	48	51	54	

การทดลองที่ 3 การเร่งให้ตาบอดและหน่อขนาดเล็กเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมาก

นำเนื้อเยื่อที่การเจริญเติบโตสร้างตาบอด และหน่อจำนวนมาก จากการทดลองที่ 1 และ 2 หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 1 เดือนมาเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม K ความเข้มข้นตั้งแต่ 0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 1 เดือน

การทดลองที่ 4 การชักนำให้ต้นแขนงสร้างรากจำนวนมาก เจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์
เพื่อสามารถนำออกปลูก ในสภาพธรรมชาติได้

แยกเอาต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอ จากการทดลองที่ 3 หลังจากเพาะเลี้ยง 1 เดือน
มาเลี้ยงในอาหาร MS และ MS/2 ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 2%, 3% และ 4% ตามลำดับ
และเติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 0.8, 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน
1 เดือน

ตาราง 3 อาหาร MS และ MS/2 ที่เติมน้ำตาลกับ NAA ระดับต่าง ๆ กัน

NAA	MS + น้ำตาล			MS/2 + น้ำตาล		
	2%	3%	4%	2%	3%	4%
0	สูตร 55	60	65	70	75	80
0.1	56	61	66	71	76	81
0.5	57	62	67	72	77	82
0.8	58	63	68	73	78	83
1.0	59	64	69	74	79	84

การทดลองที่ 5 การนำต้นพืชออกปลูกในวัสดุปลูกภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน คือ ห้องปรับอากาศควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ช่วงแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลานาน 1 เดือน

วัสดุปลูกที่ใช้

5.1 ปลูกในทราย : พีท = 2 : 1

5.2 ปลูกในทราย : ขี้เถ้าแกลบ = 1 : 1

5.3 ปลูกในทราย : ขี้เถ้าแกลบ : ขุยมะพร้าว = 1 : 1 : 1

การเก็บข้อมูล

1. ชั่งน้ำหนักสด และถ่ายภาพลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนหัว ในการทดลองที่ 1 และ 2 หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน
2. เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อแต่ละส่วน โดยถักเป็นเปอร์เซ็นต์ จากจำนวนที่เพาะเลี้ยงทั้งหมดหลังจากที่เพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน
3. นับจำนวนต้นแขนงเฉลี่ยที่เกิดขึ้นจากการทดลองแต่ละการทดลองหลังจากย้ายลงเลี้ยง ในอาหารที่มี K นาน 1 เดือน
4. นับห้กจำนวนรากของต้นแขนง หลังจากนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี NAA นาน 1 เดือน
5. ถักเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของต้นกล้าจากจำนวนที่นำลงปลูกในวัสดุปลูกแต่ละชนิด

ผลการศึกษาค้นคว้า

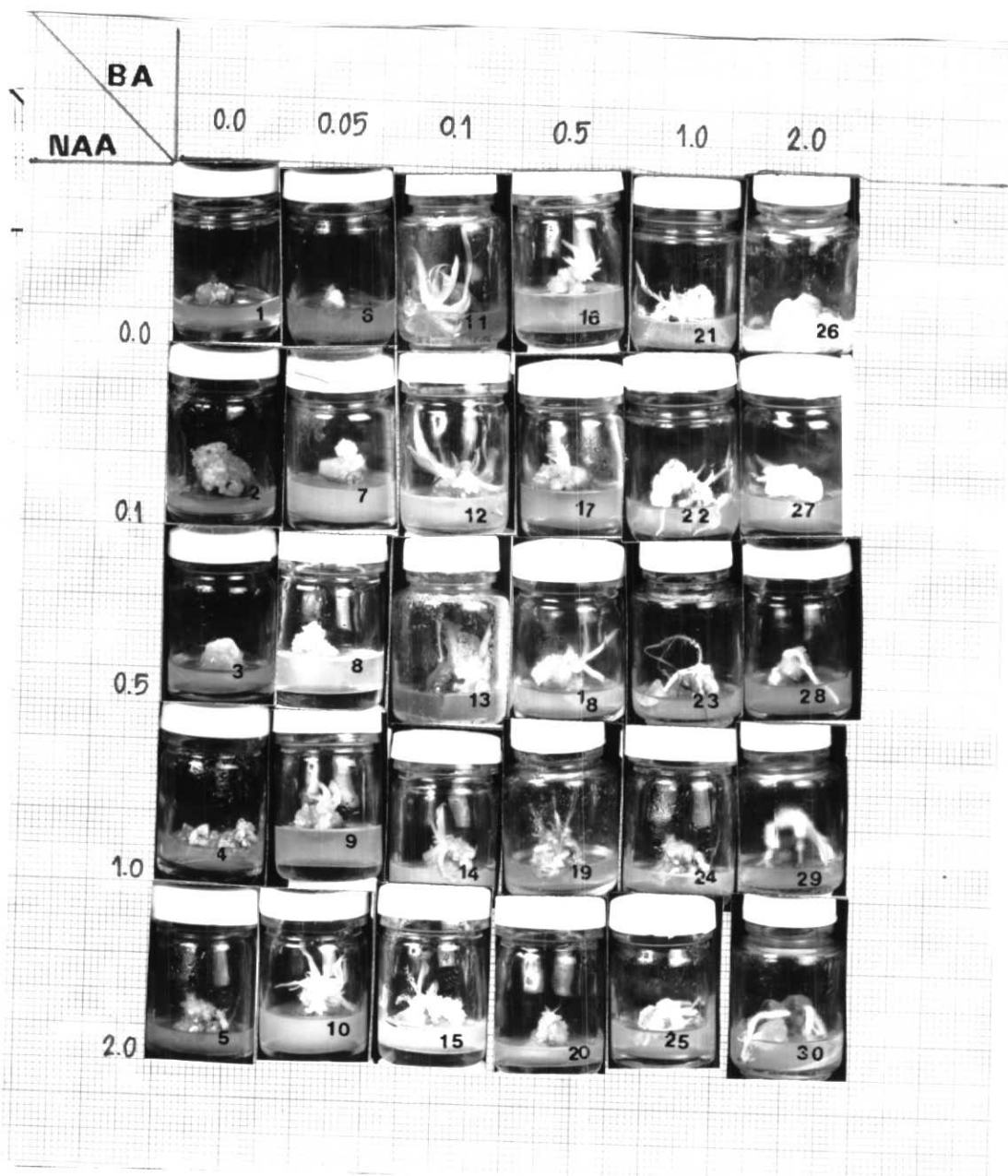
การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของ BA ร่วมกับ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัว

การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัวส่วนบน

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวส่วนบนในอาหาร MS และ MS ดัดแปลง ที่เติม BA 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 2 เดือน (ภาพประกอบ 1) พบว่าเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ส่วนในอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่เติม BA (สูตร 2 - 5) เนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงเป็นแคลลัส และมีลักษณะคล้ายราก ในอาหาร MS ที่เติม BA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 6 - 8) เนื้อเยื่อสร้างแคลลัสสีเขียวอ่อน ในอาหารที่เติม BA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 9 - 10) มียอดเล็ก ๆ บนแคลลัส ส่วนในสูตรที่ 11 - 15 ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่าในสูตรที่ 11 ซึ่งเติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโต เกิดยอดเขียวแข็งแรง 8 - 10 ยอดสูงประมาณ 1 - 3 ซม. ในสูตรที่ 12 เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตเช่นกัน แต่จำนวนยอดน้อยกว่า คือมี 5 - 8 ยอด สูงประมาณ 1 - 3 ซม. และในสูตรที่ 13 - 19 เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตเป็นยอดได้ แต่ความสมบูรณ์ของยอดที่เกิดขึ้นจะลดลงตามลำดับและมีสีเขียวอ่อน ส่วนในสูตรที่ 20 - 24 แนวโน้มการเกิดยอดน้อยลงเห็นชัดเจน ยอดที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กมากสีเขียวจาง และมีรากเกิดขึ้นจำนวนมากกว่ายอด ในสูตรที่ 25 - 30 เนื้อเยื่อจะเกิดรากเพียงอย่างเดียว ลักษณะรากอวบขาวเห็นขนรากชัดเจน

น้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อหัวส่วนบน

หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS เท่ากับ 0.08 กรัม และน้ำหนักสดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่ดัดแปลงที่เติม BA 0.05, 0.01, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรที่ 2 - 30) น้ำหนักสดเฉลี่ยจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นได้น้ำหนักสูงสุด 0.96 กรัมในสูตรอาหารที่เติมเฉพาะ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรที่ 11) จากนั้นน้ำหนักสดจะค่อย ๆ ลดลง (ตาราง 5 และภาพประกอบ 4)



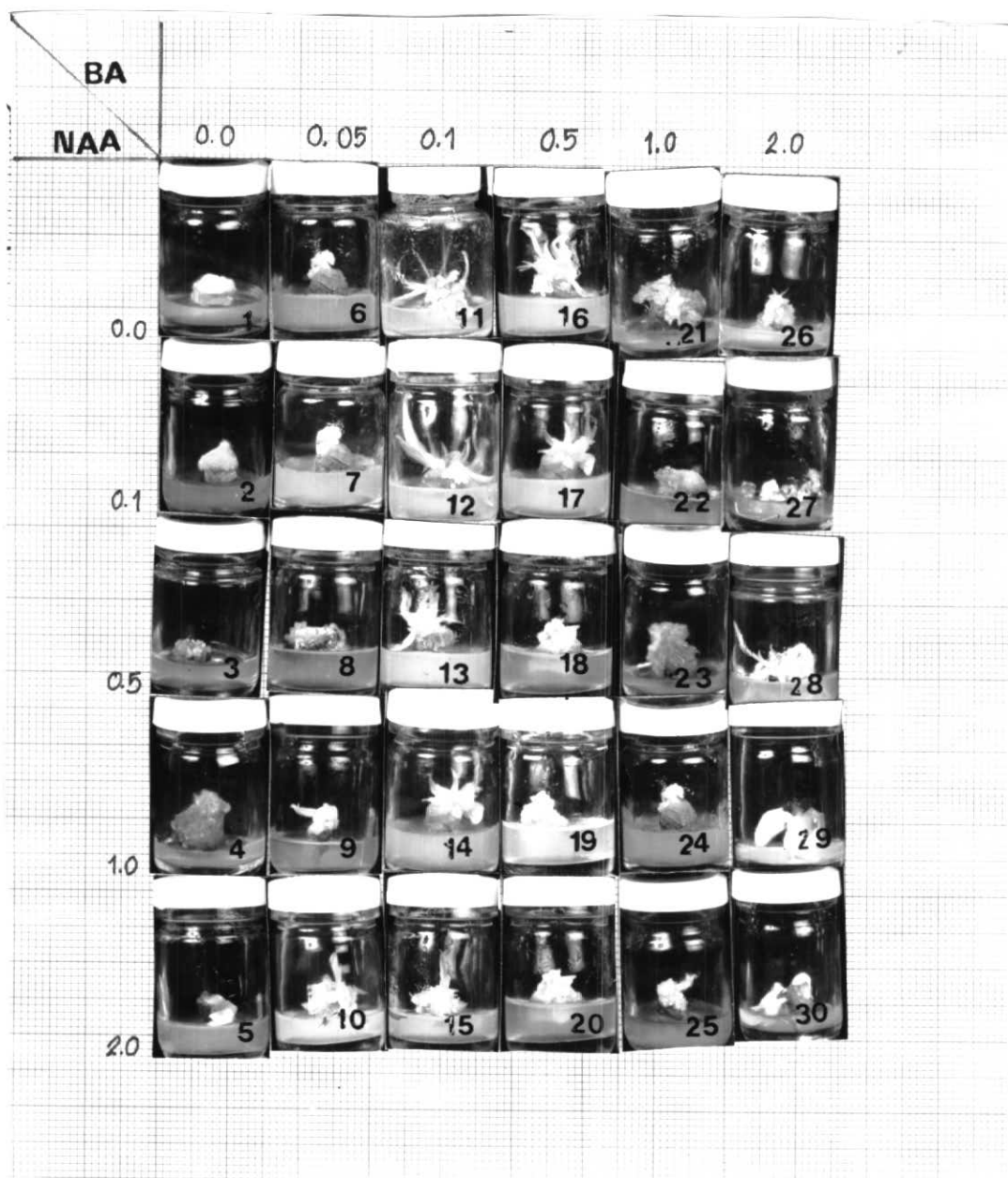
ภาพประกอบ 1 เนื้อเยื่อหัวส่วนบนที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS ดัดแปลงที่เติม BA และ NAA ในระดับ ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน

การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัวส่วนล่าง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวส่วนล่างในอาหาร MS และ MS คัดแปลงที่เติม BA 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 2 เดือน (ภาพประกอบ 2) เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยส่วนในอาหารที่เติม NAA 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 2 - 5) เนื้อเยื่อจะมีการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกันก็จะเกิดแคลลัสสีเขียวอ่อนบนสื่อน้ำตาลเล็กน้อย และมีโครงสร้างคล้ายรากเกิดขึ้นบนก้อนแคลลัส ในสูตรที่เติม BA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 6 - 8) จะมีแคลลัสสีเขียวอ่อน ส่วนในอาหารที่เติม BA 0.05, มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 1.0, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 9 - 10) แคลลัสบางส่วนจะเจริญเป็นยอดเล็ก มีสีเขียวอ่อน และในอาหารที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 11 - 15) เนื้อเยื่อจะเจริญเป็นแคลลัสและยอดแค่มียอดที่ได้ไม่แข็งแรง ไม่สามารถให้ขยายพันธุ์ต่อไปได้ ยกเว้นยอดที่เกิดขึ้นในอาหารที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 12) ซึ่งให้ยอดสีเขียวสด ลักษณะอวบ 5 - 7 ยอด สูงประมาณ 1 - 3 ซม. ในอาหารที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.5, 1.0, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 13 - 15) จำนวนยอดและคลอโรฟิลล์จะลดลงตามลำดับ ในสูตรที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 16 - 20) มีแนวโน้มการเกิดยอดและคลอโรฟิลล์จะค่อย ๆ ลดลง ส่วนในสูตรที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 21 - 25) เนื้อเยื่อจะเกิดเป็นแคลลัสสีเขียวบนน้ำตาล มียอดเล็ก ๆ เกิดขึ้นเล็กน้อย ส่วนในสูตรที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 26 - 30) เนื้อเยื่อจะเกิดรากมากขึ้น มียอดเล็กในสูตรที่ 26 - 28 ส่วนสูตรที่ 29 - 30 จะเกิดรากเพียงอย่างเดียวลักษณะราก ขาวอวบ เห็นขนรากชัดเจน

น้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อหัวส่วนล่าง

หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือนพบว่าน้ำหนักสดเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS เท่ากับ 0.01 กรัม และน้ำหนักสดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่ดัดแปลงที่เติม BA 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารที่เติม BA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรที่ 9) เนื้อเยื่อจะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุดคือ 0.91 กรัม ต่อจากนั้นน้ำหนักสดเฉลี่ยจะค่อย ๆ ลดลงตามลำดับ (ตาราง 5 และภาพประกอบ 4)



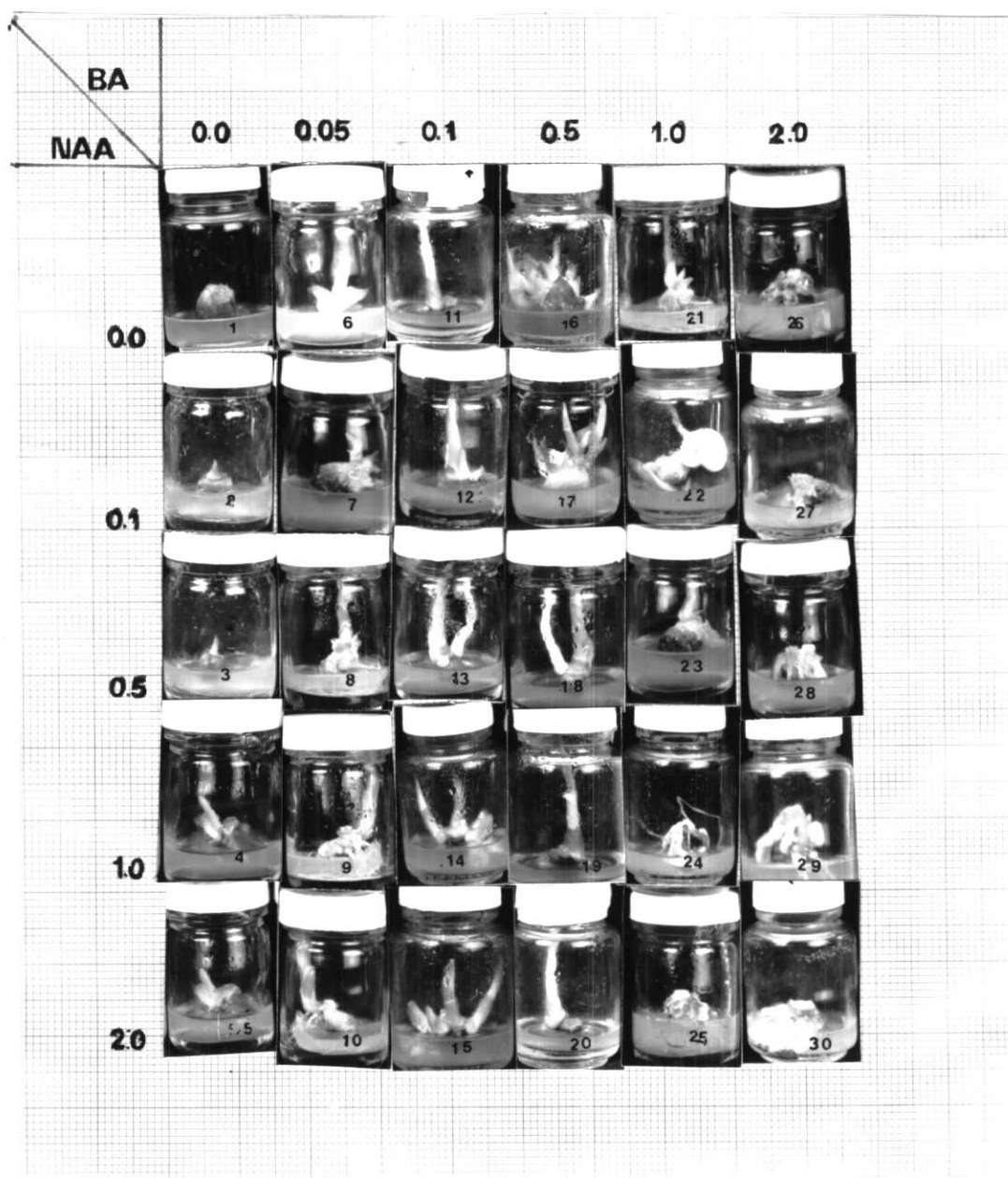
ภาพประกอบ 2 เนื้อเยื่อหัวส่วนล่างที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS คัดแปลงที่เติม BA และ NAA ในระดับ ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน

การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัว

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวในอาหาร MS และ MS คัดแปลง ที่เติม BA 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 2 เดือน (ภาพประกอบ 3) พบว่าเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS มีการเจริญเป็นยอดเล็ก ๆ สีเขียวอ่อน จำนวน 1 ยอด ในอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 2 - 5) มีการเกิดยอดสีเขียวสูตร ละ 1 ยอด สูตรที่ 4 - 5 จะได้ยอดที่มีใบกว้างมีจำนวนใบและความสูงมากกว่ายอดที่เกิดขึ้นในอาหารสูตรที่ 2 - 3 ในอาหารที่เติม BA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 6 - 10) มีการเกิดยอดเพียงสูตรละ 1 ยอด ลักษณะยอดที่เกิดขึ้น จะมีใบอวบเขียว แข็งแรง และพบว่าสูตรที่ 9 - 10 มีรากเกิดขึ้นด้วย ในอาหารที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 11 - 15) พบว่าสูตรที่ 11 - 12 จะเกิดยอดเขียวแข็งแรงสูตรละ 1 ยอดสูงประมาณ 3.5 ซม. และสูตรที่ 13 - 15 จะเกิดยอดเขียวแข็งแรง เพิ่มขึ้นมากขึ้น คือ 2, 3, 5 ยอดตามลำดับ ในสูตรที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 16 - 20) พบว่าสูตรที่ 16 มีการเจริญเติบโตที่ช้า มี ยอดเขียวแข็งแรงจำนวน 6 - 8 ยอด สูตรที่ 17 มีการเจริญเติบโตเป็นลำดับรองลงมา ลักษณะ ยอดมีสีเขียวแข็งแรง จำนวน 3 - 5 ยอด และในสูตรที่ 18 - 20 มีการเจริญของยอดน้อยลง ตามลำดับ ในอาหารที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 21 - 25) มีการเจริญของยอดเพียงเล็กน้อย ในสูตรที่ 21 - 23 เกิดยอดเล็ก ๆ 2 - 3 ยอดมีสีเขียวอ่อน ในสูตรที่ 24 - 25 เกิดยอดเล็ก 1 ยอด มีรากขนาดเล็กจำนวนมากเกิดขึ้น และในอาหาร MS ที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 26 - 30) ไม่มีการเกิดยอด แต่เกิดรากจำนวนมาก เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อหัวส่วนบนและเนื้อเยื่อหัวส่วนล่าง

น้ำหนักสเกลียของเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัว

หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยในสูตรอาหาร ,% หนักเพียง 0.93 กรัม ในอาหาร MS ตัดแปลงที่เติม BA 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในสูตรอาหารที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด คือ 1.41 กรัม จากนั้นน้ำหนักเฉลี่ยจะค่อย ๆ ลดลงตามลำดับ (ตาราง 5 ภาพประกอบ 4)



ภาพประกอบ 3 เนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS ดัดแปลง
ที่เติม BA และ NAA ในระดับ ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน

เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเนื้อเปื้อนที่เพาะเลี้ยง

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวส่วนบน หัวส่วนล่าง และส่วนกลางของหัวเป็นเวลานาน 2 เดือน การเจริญของเนื้อเยื่อหัวส่วนบนมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตเฉลี่ย 72.66% หัวส่วนล่างมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตเฉลี่ย 63.33% และ ส่วนกลางของหัวมีเปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโต 100% (ตาราง 6, 7 และ 8)

ตาราง 4 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัวส่วนบน หัวส่วนล่าง และส่วนกลางของหัว ในสูตรอาหาร MS และ MS คัดแปลงที่เติม BA และ NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันเวลา 6 สัปดาห์ และ 10 สัปดาห์

สูตรที่	ระยะเวลา (สัปดาห์)	เนื้อเยื่อหัว		
		ส่วนบน	ส่วนล่าง	ส่วนกลาง
1	6	มีแคลลัสเล็ก ๆ 2-3 จุด	เกิดแคลลัสบริเวณรอยตัด เล็กน้อย	มีจุดเขียวคล้ำยอก 1 จุด
	10	แคลลัสมีขนาดโตขึ้น และเกิดแคลลัสลักษณะ หลวมสีเขียวจาง	แคลลัสมีขนาดโตขึ้นและขับ สารสีน้ำตาลอ่อนเล็กน้อย	จุดยอกเกิดเป็นใบขนาดเล็ก 2 ใบ สูงประมาณ 0.5 ซม. สีเขียวจาง
2	6	มีแคลลัสรอบ ๆ บริเวณ รอยตัดเนื้อเยื่อสีเขียวจาง	มีแคลลัสรอบ ๆ บริเวณ รอยตัดสีเหลือง	มียอกเขียวจาง สูง 0.3 ซม. มีใบ 1 ใบ
	10	แคลลัสเพิ่มปริมาณมากขึ้น ลักษณะหลวมสีเขียวจาง เริ่มเกิดยอกเล็ก ๆ 2 ยอก	แคลลัสเพิ่มปริมาณมากขึ้น มีสีเขียวจาง บริเวณบนสุด ของแคลลัสที่ลักษณะคล้ายยอก	มียอกสูง 5 ซม. ใบเขียวจาง มี 3 ใบ, 2 ใบแรกเป็นแผ่น กว้างและหนา มียอกสูง 0.5 ซม.
3	6	แคลลัสเกิดรอบ ๆ รอยตัด มีสีเขียวเข้มเป็นก้อน เกาะกันอย่างหลวม	แคลลัสเกิดรอบ ๆ บริเวณ รอยตัดมีสีเขียวเข้ม แคลลัส เป็นก้อนเกาะกันอย่างหลวม	สีเขียวเข้ม ใบกว้าง ยอกสูง 4.5 ซม. สีเขียวเข้ม
	10	มียอกเล็ก ๆ เกิดขึ้นบนก้อน แคลลัสจำนวน 4 ยอก สูง 0.3 ซม.	มียอกเล็ก ๆ เกิดขึ้นบนก้อน แคลลัสจำนวน 6 ยอก สูง 0.2 ซม.	มีใบ 3 ใบ, 2 ใบแรก เป็น แผ่นกว้าง และหนา

ตาราง 4 (ต่อ)

สูตรที่	ระยะเวลา (สัปดาห์)	เนื้อเยื่อหัวใจ		
		ส่วนบน	ส่วนล่าง	ส่วนกลาง
4	6	แคลลัสเกิดขึ้นจำนวนมาก	มีแคลลัสเกิดด้านบน	มีเยื่อเยื่อ มีใบกว้าง
	10	รอบ ๆ รอยตัด สีเขียวเข้ม มีเยื่อเล็ก ๆ เกิดทั่วไป บนก้อนแคลลัสแต่ต่างกัน	3 จุดเล็ก ๆ มีเยื่อเล็ก ๆ เกิดขึ้น	สูง 0.5 ซม. มีเยื่อสูง 4.5 ซม. 2 ใบแรก แผ่กว้างหนา สีเขียวเข้ม
5	6	เกิดแคลลัสจับกันอย่างหลวม	เกิดแคลลัสบริเวณรอยตัด	มีเยื่อสีเขียวเข้มสูง 0.4 ซม.
	10	มีสีเขียวจาง	2-3 จุด มีสีเขียวจาง	จำนวน 2 เยื่อ
6	6	เกิดเยื่อบนแคลลัส 4 เยื่อ	เกิดเยื่อบนแคลลัสแต่มีใบ	มีเยื่อสูง 4.3 ซม. ฐานใบ
	10	ลักษณะเขียวแข็งแรง	บางและยาว	แผ่กว้าง 2 ใบ
7	6	เกิดแคลลัสสีเขียวเข้ม	เกิดแคลลัสมีสีเขียวจาง	มีเยื่อสูง 0.6 ซม.
	10	จำนวนมาก	4-5 จุด รอบรอยตัด	
7	6	ปริมาณแคลลัสเพิ่มขึ้น	ปริมาณแคลลัสเพิ่มขึ้น	มีเยื่อสูง 4.5 ซม.
	10	เล็กน้อยและเริ่มมีเยื่อ	สีเขียวเข้มกว่าเดิม และ	มีเยื่อสีเขียวเข้ม อวบน้ำ
7	6	เล็ก ๆ จำนวนมาก	มีเยื่อเล็ก ๆ 6-7 เยื่อ	
	10	ลักษณะเยื่อเขียวแข็งแรง	ลักษณะเยื่อเขียวแข็งแรง	
7	6	มีแคลลัสเกิดประปราย	มีแคลลัสเล็ก ๆ 2 จุด	มีเยื่อสีเขียวเข้มอวบน้ำ
	10	รอบ ๆ บริเวณรอยตัด	บนขอบเนื้อเยื่อ	สูง 0.5 ซม.
7	6	แคลลัสมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น	แคลลัสมีปริมาณ	มีเยื่อสูง 4.5 ซม.
	10	สีเขียวจาง	เพิ่มมากขึ้นสีเขียวจาง	มีรากคล้ายเส้นค้ำยาว
7	6			0.3 ซม. 1 เส้น
	10			

ตาราง 4 (ต่อ)

สูตรที่	ระยะเวลา (สัปดาห์)	เนื้อเยื่อหัวใจ		
		ส่วนบน	ส่วนล่าง	ส่วนกลาง
8	6	มีแคลลัสเกิดขึ้นจำนวน 5 จุด บริเวณรอบรอยตัด	มีแคลลัสเกิดขึ้นเล็กน้อย เป็นจุดเล็ก ๆ 3-4 จุด รอบรอยตัด	มีเยื่อหัวใจแข็งแรงสูง 0.4 ซม. มีรากเกิดขึ้น 2 ราก แต่ ห่างกัน รากยาว 0.3 และ 0.5 ซม. ตามลำดับ
	10	แคลลัสเกิดขึ้นมากกว่าเดิม สีเขียวเข้มมีเยื่อ และเยื่อ สีเขียวเข้ม	แคลลัสมีปริมาณมากขึ้น เกาะกันอย่างหลวม มีเยื่อ 7 เยื่อ บนก้อนแคลลัสสีเขียวเข้ม	มีเยื่อสูง 4.6 ซม. มีราก อวบขาว 2 ราก ยาว 0.4 - 1.1 ซม.
9	6	เกิดแคลลัสรอบ ๆ รอยตัด จำนวนมาก สีเขียวจาง	เกิดแคลลัสเล็กน้อยรอบ รอยตัด	มีเยื่อสูง 0.4 ซม. ใบอวบ เขียวเข้ม
	10	แคลลัสมีขนาดโตขึ้นเกาะกัน อย่างหลวม และอัดแน่นปนกัน สีเขียวเข้ม และเริ่มมีเยื่อ เล็ก ๆ จำนวนมากที่บริเวณ แคลลัสที่อัดกันแน่น	แคลลัสมีขนาดโตขึ้นสีเขียวเข้ม บริเวณส่วนบนของแคลลัสมีเยื่อ 3-4 เยื่อ สีเขียว แข็งแรง	มีเยื่อสูง 4.8 ซม. มีราก 4 ราก ยาวตั้งแต่ 0.1- 1.2 ซม. ลักษณะราก ขาว อวบ มีขนรากเห็นชัดเจน
10	6	เกิดแคลลัสรอบ ๆ รอยตัด จำนวนมาก สีเขียวเข้ม อัดแน่นเป็นก้อน	เกิดแคลลัสจำนวนมากทั่ว ทั้งก้อน มีสีเขียวเข้มโดย แคลลัสอัดกันแน่น	มีเยื่อสูง 0.5 ซม. ใบอวบ เขียว
	10	มีเยื่อหัวใจแข็งแรงเกิดขึ้น จำนวนมากบนก้อนแคลลัส	เกิดเยื่อสีเขียวจำนวนมาก บนก้อนแคลลัส	มีเยื่อสูง 4.5 ซม. สีขาว อวบ เกิดขึ้น 3 ราก ยาว ตั้งแต่ 0.3 - 1.0 ซม.

ตาราง 4 (ต่อ)

สูตรที่	ระยะเวลา (สัปดาห์)	เนื้อเยื่อหัวใจ		
		ส่วนบน	ส่วนล่าง	ส่วนกลาง
11	6	มีเนื้อแคลลัสสีเขียวเข้ม จำนวนมากอัดกันแน่นและ หลวมปนกัน	มีเนื้อแคลลัสสีเขียวเข้มจำนวนมาก เกาะอยู่อย่างหลวม ๆ	มียอดสูง 0.6 ซม. มีใบเขียวเข้ม
	10	มียอด 9-10 ยอด เกิดขึ้นบนก้อนแคลลัส	มียอด 7-8 ยอดเกิดขึ้น บนก้อนแคลลัส	ยอดสูง 4.8 ซม. มีราก 4 ราก ยาวตั้งแต่ 0.2-0.8 ซม.
12	6	มีเนื้อแคลลัสเกิดขึ้นจำนวนมาก	มีเนื้อแคลลัสเกิดขึ้นจำนวนมาก	มียอดสูง 0.5 ซม. ใบเขียวเข้มยาว
	10	มียอดเกิดขึ้น 10-12 ยอด	มียอดเกิดขึ้น 9-10 ยอด	มีใบเขียวยาว, ต้นสูง 0.8 ซม. มีราก 3 ราก ยาวตั้งแต่ 0.2- 1.2 ซม. รากขนาดเล็กยาวคล้าย เส้นค้าย
13	6	มีเนื้อแคลลัสเกิดขึ้นเล็กน้อย รอบ ๆ รอยตัด	มีเนื้อแคลลัสเป็นจุดเล็ก ๆ 2 จุด บนก้อนเนื้อเยื่อ	มียอดขนาดเล็กมีใบสีเขียวจาง ยอดสูง 0.3 ซม.
	10	แคลลัสมีขนาดโตขึ้น สีเขียวจาง	แคลลัสโตขึ้นเล็กน้อย และมี ปริมาณเพิ่มมากขึ้นอีก 2 จุด	มียอดสูงขึ้น 1.2 ซม. ใบสีเขียวจาง มีรากขาว อวบ 7 ราก ยาว ตั้งแต่ 0.3-2.4 ซม.
14	6	มีเนื้อแคลลัสเกิดขึ้น 4 - 5 จุด บนก้อนเนื้อเยื่อ	มีเนื้อแคลลัสเกิดขึ้นประปราย รอบรอยตัด	มียอดเขียวสูง 0.5 ซม.
	10	แคลลัสมีขนาดโตขึ้น สีเขียวจางมียอดเล็ก ๆ 2 ยอด	แคลลัสโตขึ้น มีสีเขียวจาง สลับกับเขียวเข้มบางส่วน จะอัดกันแน่น	มียอดสูง 1.8 ซม. ใบเขียวยาว สีเขียวจาง มีรากขาวอวบ 5 ราก ยาวตั้งแต่ 0.2-1.2 ซม.

ตาราง 4 (ต่อ)

สูตรที่	ระยะเวลา (สัปดาห์)	เนื้อเยื่อหัวใจ		
		ส่วนบน	ส่วนล่าง	ส่วนกลาง
15	6	มีแคลลัสเกิดขึ้นมากมาย สีเขียวจาง	มีแคลลัสเกิดขึ้นมากมาย สีเขียวจาง	มีเยื่อสูง 0.3 ซม. ใบสีเขียวจาง
	10	มีเยื่อเกิดขึ้น 7 - 8 ยอด สีเขียวย่น	มีเยื่ออ่อนสีเขียว 4 - 5 ยอด	มีเยื่อสูง 1.7 ซม. ยอดยาวเรียว มีรากอวบและยาวสีขาว 3 ราก ยาวตั้งแต่ 1.2-1.9 ซม.
16	6	มีแคลลัสเกิดขึ้นมาก และ อัดกันแน่น มีสีเขียวเข้ม	มีแคลลัสเกิดขึ้นมากลักษณะ เกาะกันอย่างหลวมและแน่น ปนกัน มีสีเขียวเข้ม	มีเยื่อสูง 0.5 ซม. ใบเรียว เขียวเข้มมีราก 1 รากยาว 6 ซม.
	10	มีเยื่อเกิดขึ้นประมาณ 10 ยอด สีเขียวเข้ม	มีเยื่อเกิดขึ้นทั่วไปบนก้อน แคลลัส แต่มีสีเขียวจาง	มีเยื่อสูง 4.5 ซม. ใบเรียว เขียวเข้ม มีรากยาว 2 ราก คล้ายเส้นด้วยขดอยู่
17	6	มีแคลลัสเกิดขึ้นมากมาย สีเขียวเข้ม	มีแคลลัสเกิดขึ้นมากมาย สีเขียวเข้ม	มีเยื่อสูง 1.2 ซม. ใบเขียวเข้ม
	10	มีเยื่อเขียวเกิดขึ้นมากมาย มีต้นแขนงเกิดขึ้น จำนวน 8 ต้น	สังเกตเห็นต้นแขนงชัดเจน 4 ต้น นอกนั้นเป็นยอดเล็ก ๆ	มีเยื่อสูง 5.0 ซม. มีราก ขาวเรียวยาวคล้ายเส้นด้าย 3 ราก ยาวตั้งแต่ 0.2-2.1 ซม.
18	6	มีแคลลัสเกิดขึ้นมากมาย สีเขียวจาง	มีแคลลัสเกิดขึ้นมากมาย สีเขียวจาง ปนเหลือง	มีเยื่อสูง 1.0 ซม. ใบเขียว อวบหนา
	10	เกิดยอดบนแคลลัส จำนวนมากสังเกตเห็น ต้นแขนงชัดเจน	เกิดยอดบนแคลลัสจำนวนมาก สังเกตเห็นต้นแขนงจำนวนมาก ชัดเจน	มีเยื่อสูง 4.9 ซม. ราก 3 ราก ยาวตั้งแต่ 0.2-3.2 ซม. ลักษณะรากเรียวยาว

ตาราง 4 (ต่อ)

สูตรที่	ระยะเวลา (สัปดาห์)	เนื้อเยื่อหัวใจ		
		ส่วนบน	ส่วนล่าง	ส่วนกลาง
19	6	มีแคลลัสสีขาวใส ๑ 4-5 จุด	มีแคลลัสสีเหลืองอ่อน 3 จุด	มียอดสูง 0.2 ซม. ใบบาง เล็ก สีเขียวจาง
	10	แคลลัสโตขึ้นเล็กน้อยและ มีรากงอกออกมา 1 ราก	แคลลัสมีสีเหลืองปนเขียว มีรากงอกออกมา 3 ราก	มียอดสูง 0.5 ซม. มีราก ขาว อวบน้ำงอกออกมา 6 ราก ยาวตั้งแต่ 0.2 - 2.4 ซม.
20	6	มีแคลลัสสีขาวปนเหลือง	แคลลัสมีสีขาวใส	มียอดสูง 0.2 ซม. ใบเหลืองปนเขียว
	10	แคลลัสมีขนาดโตขึ้นมีราก 3 ราก ลักษณะอวบขาวและ มีส่วนคล้ายใบยาว 2 ใบ แต่ต่างกัน	มีรากขาวใสงอกออกมา 2 ราก ไม่มีส่วนใด คล้ายใบเกิดขึ้น	มียอดเล็กเรียว สูง 1.4 ซม. มีรากลักษณะคล้าย เส้นด้ายยาวตั้งแต่ 0.8- 3.2 ซม.
21	6	มีแคลลัสสีเขียวจางเกิด ประปรายทั่วไป	แคลลัสมีสีเขียวจางเกิด รอบ ๆ รอยตัด 3-4 จุด	มียอดเขียวสูง 0.5 ซม.
	10	มีราก 2 ราก และยอด เล็ก ๆ 2 ยอด	มีรากจำนวนมากบนก้อน แคลลัส มีใบเล็กเรียว 3-4 ใบอยู่ห่างกัน	มียอดสูง 1.6 ซม. ใบเล็ก เรียว มีรากเกิดขึ้น 4 ราก ยาวตั้งแต่ 0.5-1.2 ซม.
22	6	มีแคลลัสเล็ก ๆ เกิดขึ้น 3-4 จุด	มีแคลลัสสีเขียวจางเกิดขึ้น ทั่ว ๆ ไป	มียอดเขียวสูง 0.7 ซม.
	10	มียอดเกิดขึ้น 3 ยอด ลักษณะ เล็กเรียว และมีรากขาว อวบจำนวนมาก	มียอดเล็กเรียวเกิดขึ้น 1 ยอด ตรงข้ามกับยอด มีรากมากมาย	มียอดสูง 4.8 ซม. มีรากยาว ลักษณะคล้าย เส้นด้าย

ตาราง 4 (ต่อ)

สูตร	ระยะเวลา (สัปดาห์)	เนื้อเยื่อหัว		
		ส่วนบน	ส่วนล่าง	ส่วนกลาง
23	6	มีแคลลัส สีขาว-เขียวจาง ปะปนกัน	แคลลัสมีสีเขียวจาง	มียอดสีเขียวจาง 1 ยอด 0.3 ซม.
	10	แคลลัสสีขาวมีรากงอก ออกมาส่วนสีเขียว มีลักษณะ คล้ายใบเกิดขึ้น	มีรากจำนวนมาก	มียอดสูง 1.2 ซม. มีรากจำนวนมาก
24	6	แคลลัส สีเขียวจาง	แคลลัสสีเขียวจาง	มียอดเล็กเรียวสีเขียวจาง 1 ยอด สูง 0.5 ซม.
	10	มียอดเล็กเรียว 2 ยอด มีรากจำนวนมาก	มีเล็กเรียว 1 ยอด นอกนั้นเป็นรากจำนวนมาก	มียอดสูง 1.4 ซม. ใบเรียวเล็ก มีรากจำนวนมาก
25	6	มีรากงอกออกมาจำนวนมาก ยาวตั้งแต่ 0.1-1.2 ซม.	รากงอกจำนวนมาก ยาวตั้งแต่ 0.5-1.3 ซม.	ยอดเล็กเรียวสูง 1.2 ซม. มีรากจำนวนมาก
	10	รากงอกมากมายเต็มขวด	รากงอกเต็มขวด	มียอดเล็กเรียวสูง 1.2 ซม. มีรากมากมายจำนวนมาก
26	6	รากงอกจำนวนมาก ยาวตั้งแต่ 0.3-1.0 ซม.	รากงอกจำนวนมาก ยาวตั้งแต่ 0.5-1.3 ซม.	มียอดสูง 0.8 ซม. มีรากจำนวนมาก ยาวตั้งแต่ 0.3- 1.8 ซม.
	10	รากยาวกว่าเดิมจำนวนมาก	รากยาวกว่าเดิม จำนวนมาก	มียอดสูง 1.3 ซม. มีรากยาวตั้งแต่ 0.3- 1.3 ซม. จำนวนมาก

ตาราง 4 (ต่อ)

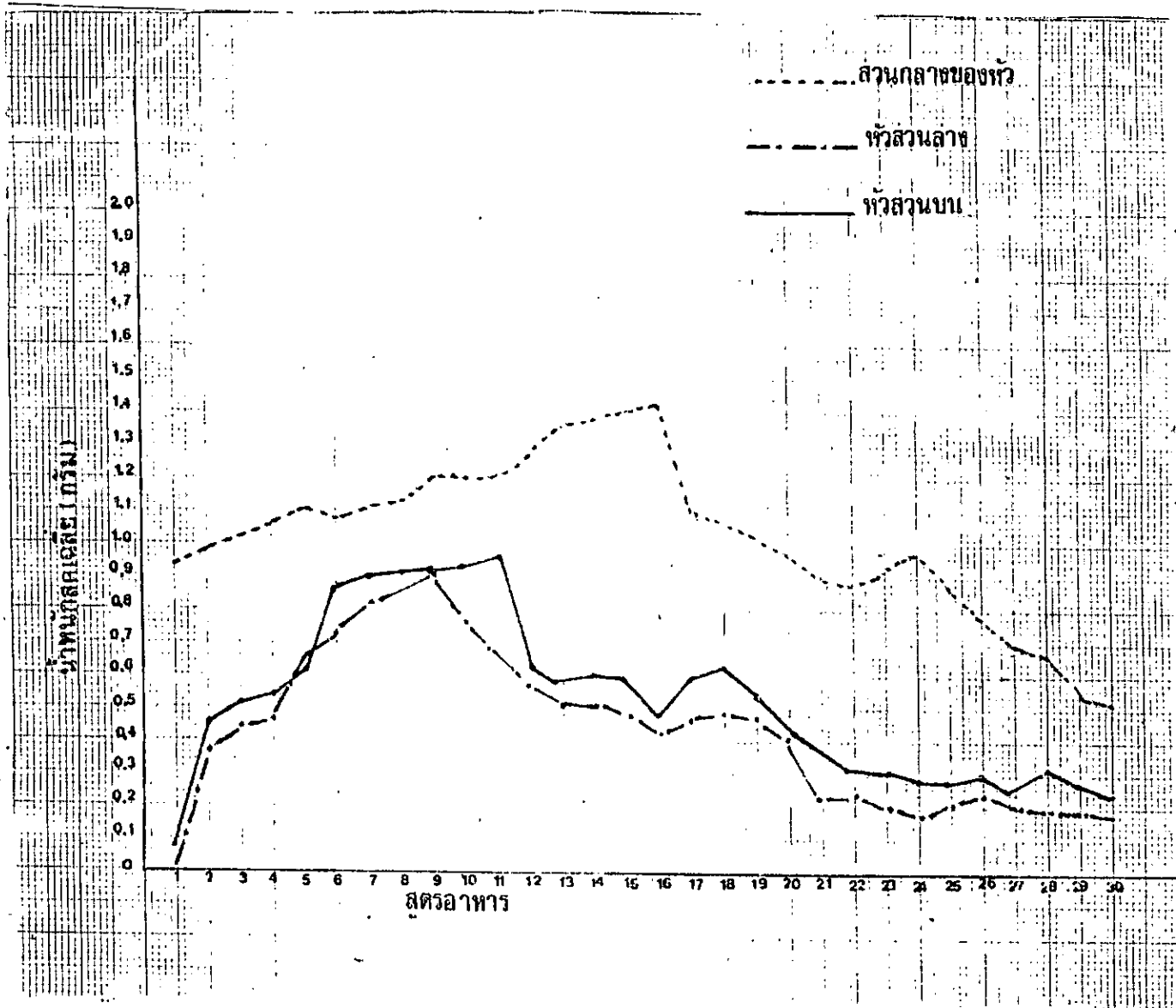
สูตรที่	ระยะเวลา (สัปดาห์)	เนื้อเยื่อหัวใจ		
		ส่วนบน	ส่วนล่าง	ส่วนกลาง
27	6	มีรากยาวตั้งแต่ 0.4- 1.3 ซม.	มีรากยาวตั้งแต่ 0.2- 1.4 ซม.	มียอดเล็กเรียวสีซีด สูง 0.2 ซม.
	10	รากยาวเต็มซวดจำนวนมาก	รากยาวเต็มซวด จำนวนมาก	มียอดสูง 1.1 ซม. ลักษณะเล็กแกร็น, มีรากจำนวนมาก ยาวตั้งแต่ 0.4-1.4 ซม.
28	6	มีรากงอกยาวตั้งแต่ 0.2- 1.4 ซม.	มีรากงอกจำนวนมาก ยาวตั้งแต่ 0.3-1.2 ซม.	ไม่มียอดเจริญเติบโตแต่มีราก งอกออกมา
	10	รากยาวเต็มซวดจำนวนมาก	รากยาวเต็มซวดจำนวนมาก	รากคั่นเนื้อเยื่อสูงขึ้น ความยาวรากเพิ่มขึ้น
29	6	แคลลัสขาวใส	แคลลัสขาวใส	มีรากเกิดขึ้นมากมาย
	10	มีรากงอกออกมาเต็มซวด	มีรากงอกออกมาเต็มซวด คั่นเนื้อเยื่อให้สูงพ้นอาหาร	รากฉนวนแข็งแรง คั่นเนื้อเยื่อให้สูงขึ้น
30	6	มีแคลลัสเป็นก้อนแข็ง ๆ สีเขียวอ่อน	มีแคลลัสเป็นก้อนแข็ง สีเขียวปนม่วงเล็กน้อย	มีก้อนแคลลัสสีเขียวอัดกัน แน่นคล้ายจะเกิดใบ
	10	มีรากยาวเต็มซวด	มีรากยาวเต็มซวด	มีรากยาวเต็มซวด

ตาราง 5 น้ำหนักสกลของเนื้อเยื่อหัวหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน

สูตรที่	สูตรอาหาร	น้ำหนักสกลเฉลี่ยของเนื้อเยื่อ (กรัม)		
		หัวส่วนบน	หัวส่วนล่าง	ส่วนกลางของหัว
1	$MSB_0^N_0$	0.08	0.01	0.93
2	$MSB_0^N_{0.1}$	0.46	0.39	0.99
3	$MSB_0^N_{0.5}$	0.53	0.44	1.02
4	$MSB_0^N_{1.0}$	0.54	0.46	1.07
5	$MSB_0^N_{2.0}$	0.62	0.63	1.11
6	$MSB_{0.05}^N_0$	0.88	0.72	1.09
7	$MSB_{0.05}^N_{0.1}$	0.90	0.81	1.10
8	$MSB_{0.05}^N_{0.5}$	0.91	0.85	1.11
9	$MSB_{0.05}^N_{1.0}$	0.92	0.91*	1.13
10	$MSB_{0.05}^N_{2.0}$	0.93	0.77	1.21
11	$MSB_{0.1}^N_0$	* 0.96	0.74	1.21
12	$MSB_{0.1}^N_{0.1}$	0.63	0.59	1.29
13	$MSB_{0.1}^N_{0.5}$	0.59	0.51	1.35
14	$MSB_{0.1}^N_{1.0}$	0.60	0.51	1.39
15	$MSB_{0.1}^N_{2.0}$	0.61	0.49	1.40
16	$MSB_{0.5}^N_0$	0.49	0.42	1.41*
17	$MSB_{0.5}^N_{0.1}$	0.60	0.46	1.11
18	$MSB_{0.5}^N_{0.5}$	0.63	0.49	1.08
19	$MSB_{0.5}^N_{1.0}$	0.55	0.48	1.01
20	$MSB_{0.5}^N_{2.0}$	0.44	0.41	0.98

ตาราง 5 (ต่อ)

สูตรที่	สูตรอาหาร	น้ำหนักสเกลของแคลลัส (กรัม)		
		หัวส่วนบน	หัวส่วนล่าง	ส่วนกลางของหัว
21	MSB _{1.0} N ₀	0.39	0.21	0.90
22	MSB _{1.0} N _{0.1}	0.32	0.23	0.89
23	MSB _{1.0} N _{0.5}	0.31	0.20	0.91
24	MSB _{1.0} N _{1.0}	0.29	0.19	0.97
25	MSB _{1.0} N _{2.0}	0.29	0.20	0.86
26	MSB _{2.0} N ₀	0.30	0.24	0.79
27	MSB _{2.0} N _{0.1}	0.24	0.21	0.70
28	MSB _{2.0} N _{0.5}	0.31	0.20	0.69
29	MSB _{2.0} N _{1.0}	0.27	0.20	0.54
30	MSB _{2.0} N _{2.0}	0.24	0.19	0.53



ภาพประกอบ 4 น้ำหนักของแข็งของเนื้อเยื่อหัวที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS คัดแปลง
ที่เติม BA และ NAA ในระดับ ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน

ตาราง 6 เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัวส่วนบนที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด

สูตรที่	จำนวนขวด.	เนื้อเยื่อที่เกิด แคลลัส	เนื้อเยื่อที่ เปลี่ยนแปลง	เนื้อเยื่อที่ ไม่เปลี่ยนแปลง	เนื้อเยื่อที่ตาย	เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโต
1	10	4	3	-	3	70
2	10	5	2	1	2	70
3	10	2	3	2	3	50
4	10	5	4	-	1	90
5	10	3	4	3	-	70
6	10	4	5	-	1	90
7	10	3	5	1	1	80
8	10	5	4	1	-	90
9	10	2	3	2	3	50
10	10	4	2	2	2	60
11	10	6	2	-	2	80
12	10	4	5	-	1	90
13	10	3	4	2	1	70
14	10	2	4	2	2	60
15	10	2	6	1	1	80
16	10	3	5	1	1	80
17	10	4	4	-	2	80
18	10	4	2	1	3	60
19	10	5	4	1	-	90
20	10	6	2	-	2	80

ตาราง 6 (ต่อ)

สูตรที่	จำนวนขวด	เนื้อเยื่อที่เกิด แคลลัส	เนื้อเยื่อที่ เปลี่ยนแปลง	เนื้อเยื่อที่ ไม่เปลี่ยนแปลง	เนื้อเยื่อที่ตาย	เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโต
21	10	7	1	2	-	80
22	10	3	3	3	1	60
23	10	4	4	1	1	80
24	10	4	4	2	-	80
25	10	3	2	4	1	50
26	10	3	1	4	2	40
27	10	5	3	2	-	80
28	10	6	3	1	1	80
29	10	4	2	4	-	60
30	10	3	5	-	2	80

เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยคือ 72.66

ตาราง 7 เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัวส่วนล่าง ที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด

สูตรที่	จำนวนขวด	เนื้อเยื่อที่เกิด แคลลัส	เนื้อเยื่อที่ เปลี่ยนแปลง	เนื้อเยื่อที่ ไม่เปลี่ยนแปลง	เนื้อเยื่อที่ตาย	เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโต
1	10	4	3	2	1	70
2	10	5	2	2	1	70
3	10	3	4	3	-	70
4	10	2	4	3	-	60
5	10	3	5	1	-	80
6	10	5	3	2	-	80
7	10	3	2	3	2	50
8	10	4	3	2	1	70
9	10	5	2	1	2	70
10	10	4	2	2	2	60
11	10	5	2	3	-	70
12	10	3	2	4	1	50
13	10	3	3	3	1	60
14	10	4	2	2	2	60
15	10	4	4	2	-	80
16	10	6	1	3	-	70
17	10	2	3	4	1	50
18	10	3	4	2	1	70
19	10	4	2	4	-	60
20	10	5	1	3	1	60

ตาราง 7 (ต่อ)

สูตรที่	จำนวนขวด	น้ำเชื้อที่เกิด แคลลัส	น้ำเชื้อที่ เปลี่ยนแปลง	น้ำเชื้อที่ ไม่เปลี่ยนแปลง	น้ำเชื้อที่ตาย	เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโต
21	10	3	4	2	1	70
22	10	4	5	1	-	90
23	10	6	2	2	-	80
24	10	2	1	5	2	30
25	10	4	3	2	1	70
26	10	4	3	1	2	70
27	10	4	3	1	2	70
28	10	5	2	2	1	70
29	10	4	3	1	2	70
30	10	6	2	2	-	80

เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย = 67.33

ตาราง 8 เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัว

สูตรที่	จำนวนขวด	เนื้อเยื่อที่เกิด แคลลัส	เนื้อเยื่อที่ เปลี่ยนแปลง	เนื้อเยื่อที่ ไม่เปลี่ยนแปลง	เนื้อเยื่อที่ตาย	เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโต
1	5	4	1	-	-	100
2	5	5	-	-	-	100
3	5	5	-	-	-	100
4	5	5	-	-	-	100
5	5	4	1	-	-	100
6	5	3	2	-	-	100
7	5	5	-	-	-	100
8	5	5	-	-	-	100
9	5	5	-	-	-	100
10	5	5	-	-	-	100
11	5	5	-	-	-	100
12	5	5	-	-	-	100
13	5	5	-	-	-	100
14	5	5	-	-	-	100
15	5	5	-	-	-	100
16	5	5	-	-	-	100
17	5	5	-	-	-	100
18	5	5	-	-	-	100
19	5	4	1	-	-	100
20	5	3	2	-	-	100

ตาราง (8 ต่อ)

สูตรที่	จำนวนขวด	เนื้อเยื่อที่เกิด แคลลัส	เนื้อเยื่อที่ เปลี่ยนแปลง	เนื้อเยื่อที่ ไม่เปลี่ยนแปลง	เนื้อเยื่อที่ตาย	เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโต
21	5	4	1	-	-	100
22	5	3	2	-	-	100
23	5	4	1	-	-	100
24	5	4	1	-	-	100
25	5	5	-	-	-	100
26	5	5	-	-	-	100
27	5	5	-	-	-	100
28	5	5	-	-	-	100
29	5	5	-	-	-	100
30	5	5	-	-	-	100

เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย 100

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความเข้มข้นของ BA ร่วมกับ NAA และ K ร่วมกับ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของตาข้างในอาหาร MS คัดแปลง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ NAA และ K ร่วมกับ NAA เป็นเวลานาน 1 เดือน พบว่าเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม K ร่วมกับ NAA จะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงกว่าเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA (ตาราง 10 และ ภาพประกอบ 5) น้ำหนักเฉลี่ยของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุดคือ 3.01 กรัม ส่วนเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 2.93 กรัม แต่ลักษณะต้นที่ได้ จะมีสีเขียวอ่อนจาง ๆ ไม่เหมาะที่จะนำไปขยายพันธุ์

การเจริญเติบโตเป็นต้นและรากพบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ตั้งแต่ 1.0 - 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตเป็นต้นและรากได้ดี ลักษณะต้นจะอวบใบสีเขียวอ่อนรากยาวแข็งแรง และในอาหารที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตเป็นต้น และรากได้ดีมาก ลักษณะต้นที่ได้จะอวบแข็งแรงใบสีเขียวเข้ม รากยาวแข็งแรง เหมาะที่สุดที่จะนำไปขยายพันธุ์ ส่วนอาหารที่เติม BA หรือ K ร่วมกับ NAA ในระดับที่ต่างจากที่กล่าวมา มีการเจริญเติบโตเป็นต้นและรากเช่นเดียวกัน แต่ต้นที่เกิดขึ้นจะมีขนาดเล็กใบเรียวเล็ก รากจะเล็กเรียวยาวคล้ายเส้นด้ายไม่แข็งแรง เวลาที่ใช้ในการงอกนานกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่เจริญในอาหารที่มี BA หรือ K 1.0 - 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตาราง 9)

การเจริญเติบโตเป็นหน่อเล็ก ๆ พบว่าในอาหารที่เติม BA หรือ K 1.5 - 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการแตกหน่อมากที่สุด (ภาพประกอบ 6 และตาราง 10)

ตาราง 9 การเจริญของตาข้างเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลงสูตรต่าง ๆ

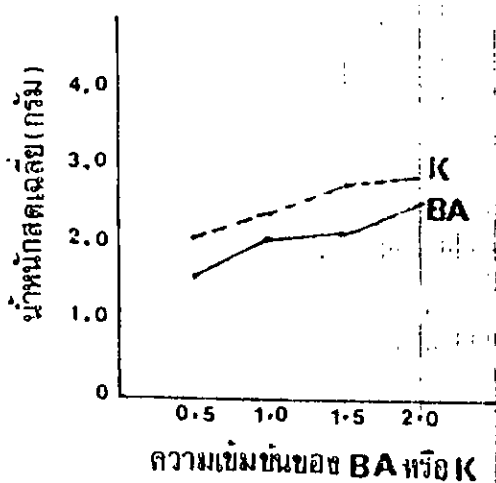
สูตรที่	ระยะเวลาที่ตาข้างงอก สูงถึง 2 ซม. (วัน)	ลักษณะต้นที่เกิดขึ้น
31	8	ต้นเล็กเรียวยาวสีเขียวใบเขียว ไม่มีราก
32	7	ต้นเล็กเรียวยาวสีเขียวใบเขียว มีรากเมื่อครบ 34 วัน
33	6	ต้นเล็กเรียวยาวสีเขียวใบเขียว มีรากเมื่อครบ 27 วัน
34	8	ต้นเล็กเรียวยาวสีเขียวใบเขียว ไม่มีราก
35	6	ต้นเล็กเรียวยาวสีเขียวใบเขียว มีรากคล้าย เส้นค้าย 1 เส้นเมื่อครบ 32 วัน
36	7	ต้นอวบเขียวใบเขียว มีรากยาวคล้ายเส้นค้าย 2 เส้น เมื่อครบ 29 วัน
37	5	ต้นอวบเขียวใบกว้าง มีรากสั้น 2 ราก ยาวตั้งแต่ 0.2-0.8 ซม.
38	8	ต้นอวบเขียวใบกว้าง มีหน่อเล็ก ๆ 2 หน่อ ไม่มีราก
39	9	ต้นอวบเขียวใบกว้าง มีหน่อเล็ก ๆ 1 หน่อ ราก ยาว 5 ซม.
40	7	ต้นอวบเขียวใบกว้างไม่มีหน่อ ไม่มีราก
41	8	ต้นอวบเขียว อวบ ใบกว้าง มีหน่อ 1 หน่อ มีราก 2 ราก ยาวเฉลี่ย 0.8 ซม.
42	6	ต้นอวบเขียว ใบกว้าง มีหน่อ 2 หน่อ ยาวเฉลี่ย 0.7 ซม. ราก ยาวเฉลี่ย 3.0 ซม.
43	9	ต้นเล็กเรียวยาวสีเขียว ใบเขียว ไม่มีหน่อ ไม่มีราก

ตาราง 9 (ต่อ)

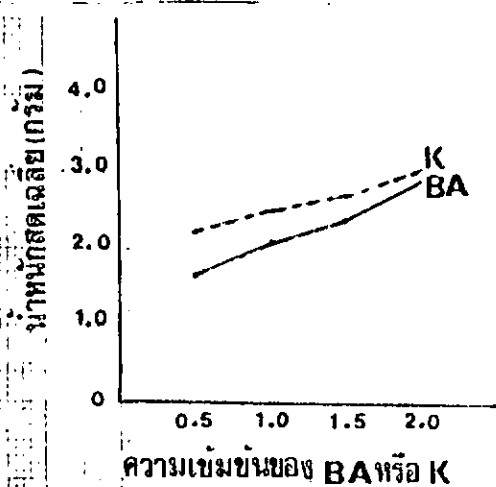
สูตรที่	ระยะเวลาที่ตาข้างนอก สูงถึง 2 ซม. (วัน)	ผลการสังเกต
44	8	ต้นเล็กเรียวสีเขียว ใบเรียว ไม่มีหน่อ มีราก 2 ราก
45	7	ต้นเล็กเรียวสีเขียว ใบเรียว มีหน่อ มีราก 3 ราก ยาวเฉลี่ย 0.8 ซม.
46	9	ต้นอวบเขียว ใบเรียว ไม่มีหน่อ มีราก 3 ราก ยาว 0.8 ซม.
47	8	ต้นอวบเขียว ใบเรียว ไม่มีหน่อ มีราก 3 ราก รากยาวเฉลี่ย 1.3 ซม.
48	5	ต้นอวบเขียว ใบกว้าง มีหน่อ มีราก 4 ราก ยาวเฉลี่ย 2.2 ซม.
49	8	ต้นอวบเขียว ใบกว้าง มีหน่อ มีราก 3 ราก ยาวเฉลี่ย 2.6 ซม.
50	7	ต้นอวบเขียว ใบกว้าง มีหน่อ มีราก 4 ราก ยาวเฉลี่ย 2.3 ซม.
51	9	ต้นอวบเขียว ใบกว้าง ไม่มีหน่อ มีราก 6 ราก ยาวเฉลี่ย 1.8 ซม.
52	6	ต้นอวบเขียว ใบกว้าง มีหน่อ 3 หน่อ ไม่มีราก
53	6	ต้นอวบเขียว ใบกว้าง ไม่มีหน่อ มีราก 4 ราก ยาว 2.1 ซม.
54	7	ต้นอวบเขียว ใบกว้าง มีหน่อ มีราก 2 ราก ยาวเฉลี่ย 4.0 ซม.

ตาราง 10 น้ำหนักสดเฉลี่ยของตาข้างและจำนวนหน่อที่แตกใหม่ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม
BA ร่วมกับ NAA และ K ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

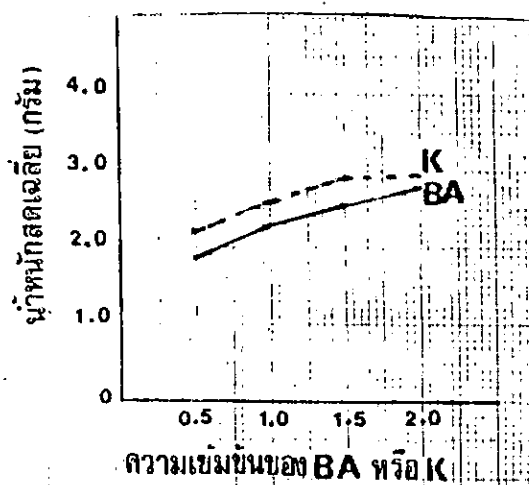
สูตรที่	เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA		สูตรที่	เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม K	
	น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัม)	จำนวนหน่อเฉลี่ย		น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัม)	จำนวนหน่อเฉลี่ย
31	1.52	2.10	43	2.01	2.30
32	1.74	2.34	44	2.27	2.35
33	1.93	1.80	45	2.35	1.90
34	2.04	2.90	46	2.41	2.80
35	2.14	2.40	47	2.59	2.50
36	2.30	2.20	48	2.68	2.30
37	2.38	4.11	49	2.71	4.30
38	2.41	2.11	50	2.76	2.60
39	2.59	2.41	51	2.88	2.10
40	2.71	5.21	52	2.92	5.31
41	2.93	2.22	53	3.01	2.23
42	2.80	3.14	54	2.91	3.19



ภาพ ก ความเข้มข้นของ NAA เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร

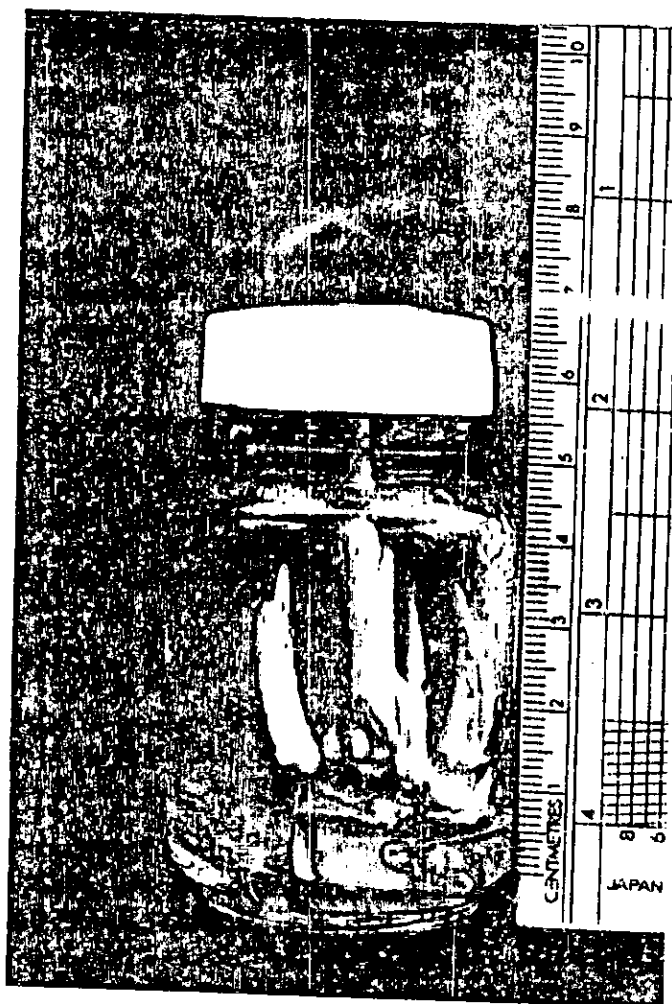


ภาพ ข ความเข้มข้นของ NAA เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพ ค ความเข้มข้นของ NAA เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาพประกอบ 5 น้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อตาข้างที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลง
ที่เติม BA ร่วมกับ NAA และ K ร่วมกับ NAA



ภาพประกอบ 6 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตาข้างหลังจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร MS
 ดัดแปลง ที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 2 สัปดาห์

การทดลองที่ 3 การเร่งให้ตายอดและหน่อขนาดเล็กเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมาก

เมื่อนำยอดและหน่อเล็ก ๆ จากตาข้าง ที่ได้จากการทดลองที่ 1 และ 2 มาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม K 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ายอดเล็ก ๆ ที่นำมาจากการทดลองที่ 1 จะมีการแตกเป็นต้นแขนงและสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อตาข้าง จากการทดลองที่ 2 หน่อจากตาข้างจะเชี่ยวชาญแรงค่อนข้างรวดเร็ว (ภาพประกอบ 7 และ 8) ส่วนการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี K จะไม่มีการแตกต้นแขนง และที่เติม K 0.5, 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนต้นแขนงน้อยกว่า (ตาราง 11) และในอาหารที่เติม K 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นแขนงที่ได้จะมีขนาดเล็กเร็ววใบที่ด่าง

ตาราง 11 จำนวนและความสูงของต้นแขนงที่เกิดจากเนื้อเยื่อหัวและตาข้าง

ระดับความเข้มข้นของ K (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนต้นแขนงเฉลี่ย ที่เกิดจาก		ความสูงเฉลี่ย (ซม.) ของต้นแขนงที่เกิดจาก	
	เนื้อเยื่อส่วนกลาง ของหัว	เนื้อเยื่อตาข้าง	เนื้อเยื่อส่วนกลาง ของหัว	เนื้อเยื่อตาข้าง
0	1.0	1.0	1.60	2.40
0.5	2.8	3.0	2.31	2.50
1.0	3.2	3.9	2.63	2.40
2.0	4.4	6.3	2.91	3.11
3.0	2.2	4.9	1.84	2.10



ภาพประกอบ 7 การแตกต้นแขนงจากหน่อที่ตัดแยกจากเนื้อเยื่อตาข้างเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร
MS ดักแปลงที่เดิม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพประกอบ 8 ต้นแขนงที่เกิดจากเนื้อเยื่อหัวที่ตัดแบ่งจากการทดลองที่ 1 ดังนี้

1 หัวส่วนบน 2 หัวส่วนล่าง 3 ส่วนกลางของหัว เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร
MS คัดแปลงที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลการทดลองที่ 4 การชักนำให้ต้นแขนงสร้างรากจำนวนมาก เจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ เพื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้

การทดลองนำต้นแขนงที่ได้จากการทดลองที่ 3 มาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS/2 ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 2 %, 3% และ 4% และเติม NAA 0.0, 0.1, 0.5, 0.8, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตาราง 12)

ในอาหาร MS ที่เติมน้ำตาล 2% ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 55 - 59) มีการเกิดรากได้ดีในอาหาร MS ที่เติมน้ำตาล 2% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตร 56) มีจำนวนรากเฉลี่ย 4.2 ราก ความยาวเฉลี่ย 6.0 ซม. ลักษณะรากเล็กเรียวยาวคล้ายเส้นด้าย ใช้เวลาในการเกิดรากนาน 29 วัน (ภาพประกอบ 9 ก. และตาราง 12)

ในอาหาร MS ที่เติมน้ำตาล 3% ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรที่ 60 - 64) มีการเกิดรากได้ดีในอาหาร MS ที่เติมน้ำตาล 3% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรที่ 61) มีรากเฉลี่ย 9.1 ราก ความยาวเฉลี่ย 3.5 ซม. ลักษณะรากที่เกิดขึ้นจะค่อนข้างอ้วนขาว เวลาที่ใช้ในการเกิดรากนาน 14 วัน (ภาพประกอบ 10)

ในอาหาร MS ที่เติมน้ำตาล 4% ร่วมกับ NAA 0.0 0.1, 0.5, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรที่ 65 - 69) มีการเกิดรากได้ดีในอาหาร MS ที่เติมน้ำตาล 4% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรที่ 66) มีรากเฉลี่ย 4.6 ราก ความยาวเฉลี่ย 2.6 ซม. ลักษณะรากอวบขาวเห็นขนรากชัดเจนเวลาที่ใช้ในการเกิดรากนาน 21 วัน

ส่วนในอาหาร MS ที่เติม น้ำตาล 2% 3% และ 4% ที่ไม่ได้เติม NAA พบว่ามีการเกิดรากเช่นกัน แต่มีจำนวนน้อย รากจะมีลักษณะเล็กเรียวยาวไม่แข็งแรง คล้ายคลึงกันทุกสูตร (สูตรที่ 55, 60, 65) และเวลาที่ใช้ในการเกิดรากนานกว่าสูตรที่เติม NAA และในอาหาร MS ดัดแปลงที่เติมน้ำตาล 2% 3% และ 4% ร่วมกับ NAA ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าทุกสูตรจะมีความคล้ายคลึงกันคือรากจะอวบ ขาวสั้น แตกออกมาเป็นกระจุก และขาดหักง่ายมีความเปราะ

ในอาหาร MS/2 คัดแปลงที่เติมน้ำตาล 2% พบว่า เกิดรากได้ดีในอาหาร MS/2 คัดแปลงที่เติมน้ำตาล 2% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรที่ 71) มีรากเฉลี่ย 4.9 ราก ความยาวเฉลี่ย 1.8 ซม. ลักษณะรากเล็กเรียวยาวคล้ายเส้นด้าย ใช้เวลาในการเกิดรากนาน 35 วัน (ภาพประกอบ 9 ข และ ตาราง 12)

ในอาหาร MS/2 คัดแปลง ที่เติมน้ำตาล 2% พบว่าเกิดรากได้ดีในอาหาร MS/2 คัดแปลงที่เติมน้ำตาล 2% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรที่ 76) มีรากเฉลี่ย 9.6 ราก ความยาวเฉลี่ย 2.2 ซม. ลักษณะรากค่อนข้างอ้วนยาวเวลาที่ใช้ในการเกิดรากนาน 33 วัน

ในอาหาร MS/2 คัดแปลงที่เติมน้ำตาล 4% พบว่าเกิดรากได้ดีในอาหาร MS/2 คัดแปลงที่เติมน้ำตาล 4% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรที่ 81) มีรากเฉลี่ย 4.8 ราก ความยาวเฉลี่ย 2.4 ซม. ลักษณะรากอวบขาวเห็นขนรากชัดเจนเวลาที่ใช้ในการเกิดรากนาน 34 วัน

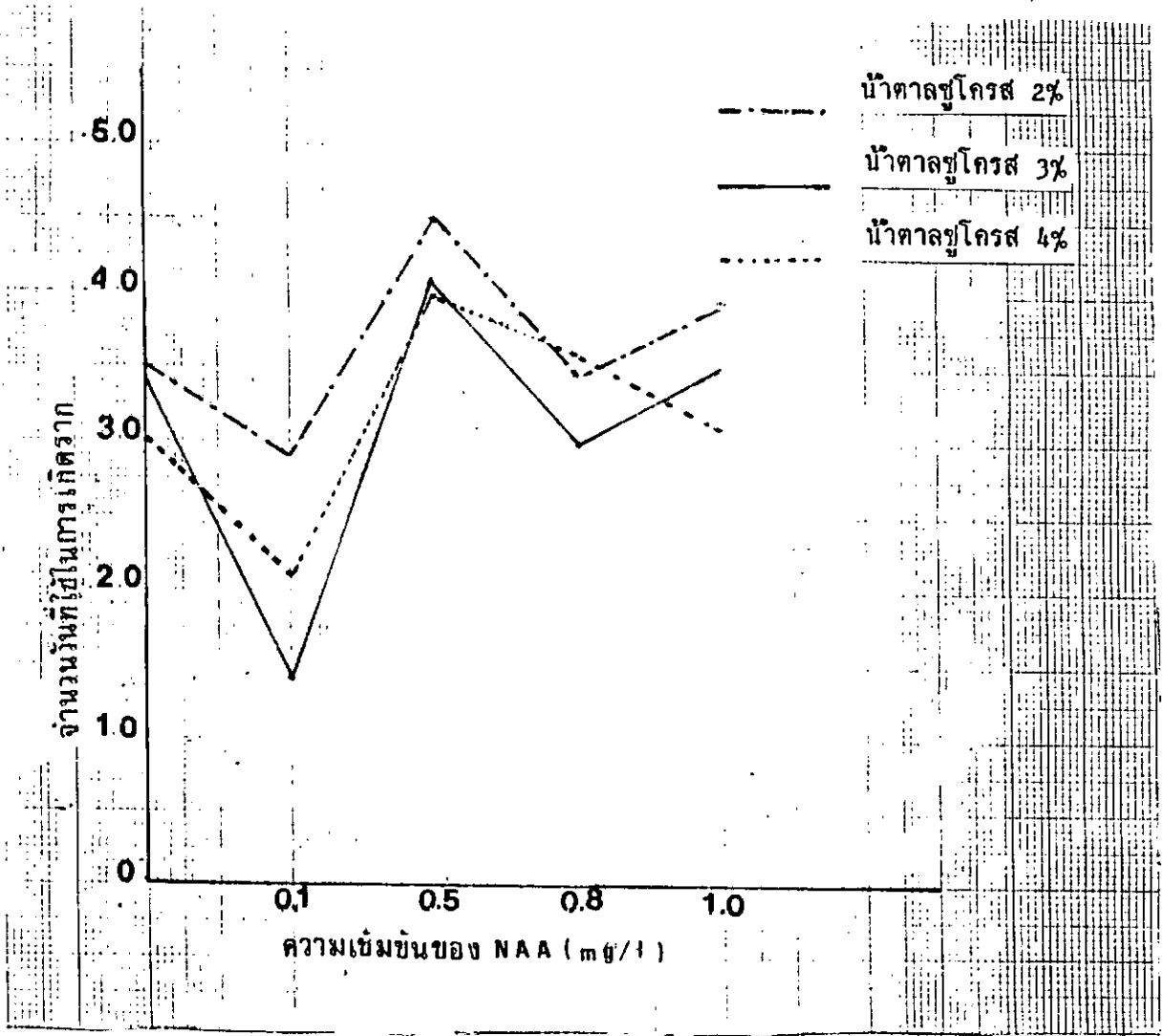
ส่วนในอาหาร MS/2 คัดแปลงที่ไม่ได้เติม NAA มีการเกิดรากเช่นกัน (สูตร 70, 75, 80) แต่ลักษณะรากจะเล็กเรียวยาวคล้ายเส้นด้ายและมีจำนวนน้อยเวลาที่ใช้ในการเกิดรากก็นานกว่าสูตรที่เติม NAA และในอาหาร MS/2 คัดแปลงที่เติมน้ำตาล 2%, 3% และ 4% ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะรากที่เกิดขึ้นจะคล้ายคลึงกันคือรากจะอวบขาวสั้นแตกออกมาเป็นกระจุกเปราะหักง่าย เวลาที่ใช้ในการเกิดรากนานเช่นกัน

ตาราง 12 อาหาร MS และ MS/2 ที่เติมน้ำตาลกับ NAA ระดับต่าง ๆ กัน

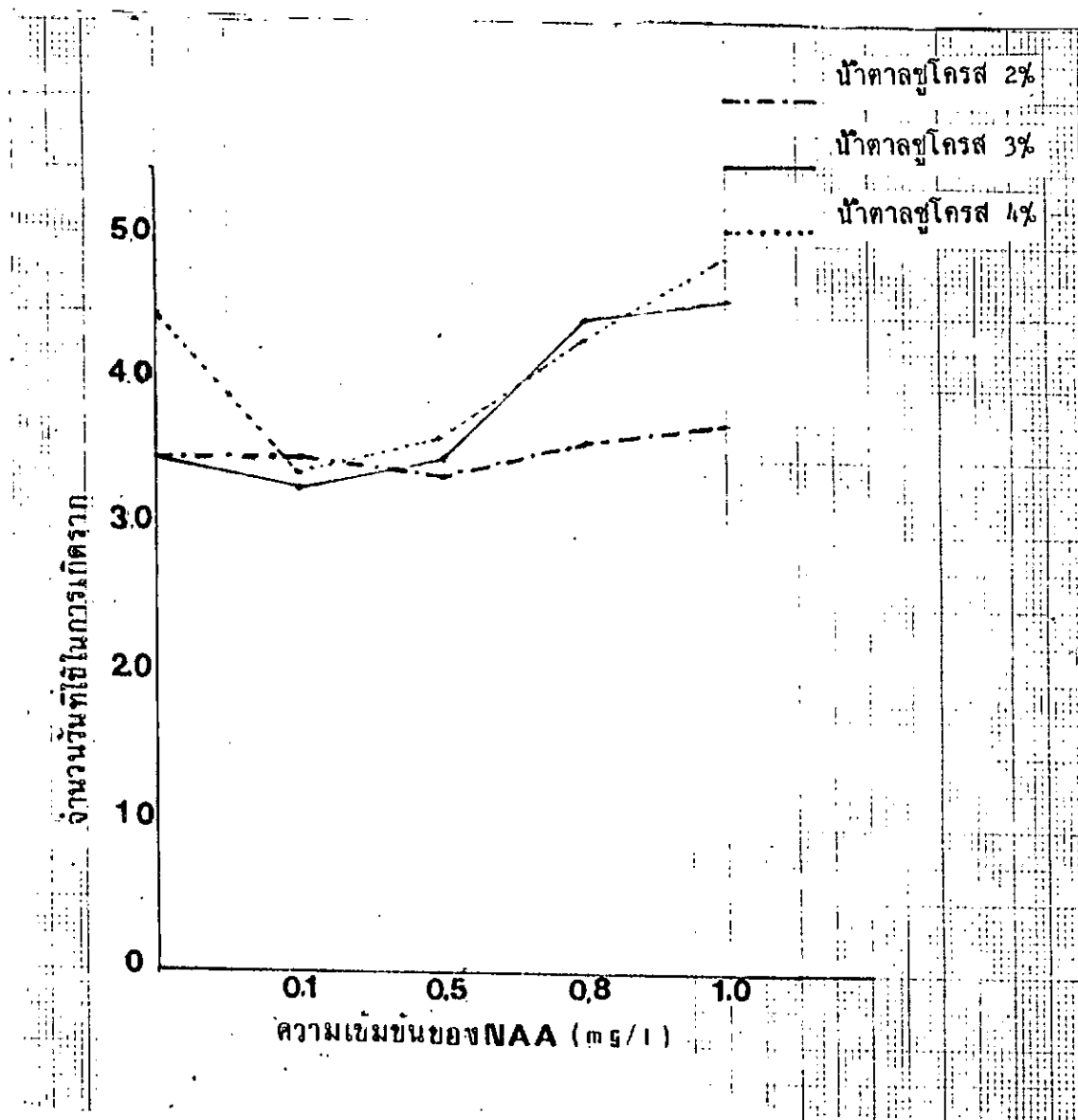
สูตรที่	สูตรอาหาร	ความเข้มข้น ของน้ำตาล (%)	จำนวนรากเฉลี่ย ที่เกิดขึ้น	ความยาวเฉลี่ย (ซม.)	ระยะเวลา ในการเกิดราก (วัน)
55	MSN ₀	2	1.8	0.8	35
56	MSN _{0.1}	2	4.2	6.0	29
57	MSN _{0.5}	2	2.19	1.01	45
58	MSN _{0.8}	2	2.8	1.22	34
59	MSN _{1.0}	2	0.8	0.2	38
60	MSN ₀	3	2.01	1.02	34
61	MSN _{0.1} *	3	*9.1	*3.5	14
62	MSN _{0.5}	3	1.9	0.8	41
63	MSN _{0.8}	3	3.11	1.80	30
64	MSN _{1.0}	3	0.91	0.91	35
65	MSN ₀	4	2.01	0.2	30
66	MSN _{0.1}	4	4.6	2.6	21
67	MSN _{0.5}	4	3.3	3.1	40
68	MSN _{0.8}	4	2.71	0.21	37
69	MSN _{1.0}	4	0.21	0.31	31
70	MS/2N ₀	2	0.41	0.20	35
71	MS/2N _{0.1}	2	*4.9	1.8	*35
72	MS/2N _{0.5}	2	2.8	2.1	34
73	MS/2N _{0.8}	2	1.10	0.34	36

ตาราง 12 (ต่อ)

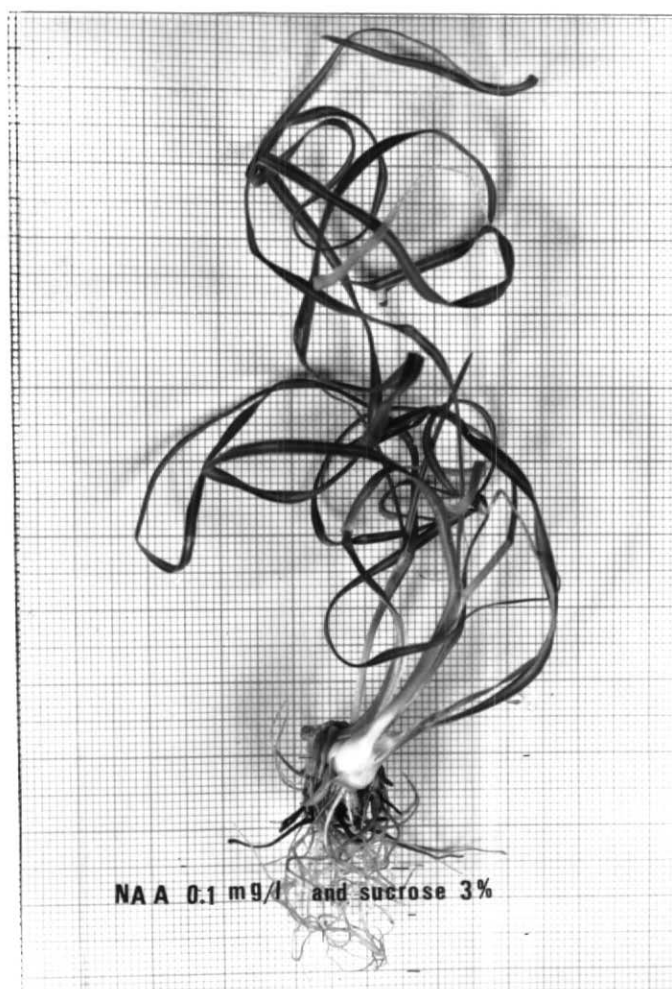
สูตรที่	สูตรอาหาร	ความเข้มข้น ของน้ำตาล (%)	จำนวนรากเฉลี่ย ที่เกิดขึ้น	ความยาวเฉลี่ย (ซม.)	ระยะเวลา ในการเกิดราก (วัน)
74	MS/2N _{1.0}	2	1.84	0.33	38
75	MS/2N ₀	3	0.66	0.51	35
76	MS/2N _{0.1}	* 3	9.6	* 2.2	33
77	MS/2N _{0.5}	3	3.9	1.9	35
78	MS/2N _{0.8}	3	0.93	0.21	44
79	MS/2N _{1.0}	3	0.84	0.35	45
80	MS/2N ₀	4	1.20	0.25	45
81	MS/2N _{0.5}	4 *	4.8	2.4	34
82	MS/2N _{0.5}	4	0.7	1.8	36
83	MS/2N _{0.8}	4	0.4	1.01	43
84	MS/2N _{1.0}	4	0.8	0.11	48



ภาพประกอบ 9 ก. ความสัมพันธ์ของ NAA กับจำนวนวันที่เกิดรากในอาหาร MS คัดแปลงสูตรต่าง ๆ



ภาพประกอบ 9 ข. ความสัมพันธ์ของ NAA กับจำนวนวันที่เกิดรากในอาหาร MS/2 คัดแปลงสูตรต่าง ๆ



ภาพประกอบ 10 ต้นแกลคิโอไลส์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 5 การนำต้นพืชออกปลูกในวัสดุปลูกภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกันคือห้องปรับอากาศควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ช่วงแสง 14 ชั่วโมงต่อวันเป็นเวลา 1 เดือน โดยปลูกในวัสดุปลูก คือ ทราย : พีท = 2:1, ทราย : ขี้เถ้าแกลบ = 1:1 และทราย : ขี้เถ้าแกลบ : ขุยมะพร้าว = 1:1:1 ผลการทดลองพบว่าการอยู่รอดของต้นกล้าที่ปลูกในทราย : พีท = 2:1 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูงสุดคือ 66.67% รองลงมาได้แก่ปลูกใน ทราย : ขี้เถ้าแกลบ : ขุยมะพร้าว = 1:1:1 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด 33.34% และเมื่อปลูกใน ทราย : ขี้เถ้าแกลบ = 1:1 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด 46.50% (ตาราง 13 และภาพประกอบ 11)

ตาราง 13 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของนกกล้าในวัสดุปลูกต่าง ๆ

วัสดุปลูก	จำนวนต้นที่นำลงปลูก	จำนวนต้นที่ตาย	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด
ทราย : พีท = 2 : 1	15	5	66.67
ทราย : ขี้เถ้าแกลบ = 1 : 1	15	10	33.34
ทราย : ขี้เถ้าแกลบ : ขุยมะพร้าว			
= 1 : 1 : 1	15	7	46.50



ภาพประกอบ 11 ต้นแกเลคิโอไลด์ที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อตาข้างที่ติดกับหัวเมื่อย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ อายุ 1 เดือน

สรุปผล อภิปราย และข้อเสนอแนะ

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. ศึกษาและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนหัว
2. ศึกษาหาระดับความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของตา ใบแก่ที่สามารถชักนำให้เกิดต้นจำนวนมาก และรากที่สมบูรณ์
3. เพื่อผลิตต้นกล้าแกลลิโอลัสซึ่งมีขนาดของต้นสม่ำเสมอทั้งในปริมาณตา สำหรับการนำไปปลูกในวัสดุปลูกต่อไป
4. เพื่อศึกษาความอยู่รอดของต้นกล้าที่นำออกไปปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน

วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า

1. ทำความสะอาดเนื้อเยื่อหัวแกลลิโอลัส
2. นำเนื้อเยื่อหัวส่วนบน หัวส่วนล่าง และส่วนกลางของหัวมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS ดัดแปลงที่เติม BA และ NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน
3. นำเนื้อเยื่อตาข้างที่ติดกับหัวมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ร่วมกับ NAA และ K ร่วมกับ NAA
4. เร่งให้ตาออกและหน่อขนาดเล็กเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอในอาหาร MS ที่เติม Kinetin
5. ชักนำให้ต้นแขนงเกิดรากในอาหาร MS และ MS/2 ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 2%, 3%, 4% และเติม NAA 0, 0.1, 0.5, 0.8, 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
6. นำต้นที่พอลงปลูกในวัสดุปลูกคือ หทราย : พีท = 2 : 1 หทราย : ขี้เถ้าแกลบ 1 : 1, หทราย : ขี้เถ้าแกลบ : ขุยมะพร้าว = 1 : 1 : 1

สรุปและอภิปรายผล

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของ BA และ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัวส่วนบน หัวส่วนล่าง และส่วนกลางของหัว

การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อหัวส่วนบน หัวส่วนล่าง และส่วนกลางของหัว

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ส่วนต่าง ๆ ของหัว คือ หัวส่วนบน หัวส่วนล่าง และส่วนกลางของหัวเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติมสารเร่งการเจริญเติบโตความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ที่เหมือนกันคือ BA ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวมีการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาได้แก่เนื้อเยื่อหัวส่วนบนและหัวส่วนล่างตามลำดับ การเจริญของเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวจะเป็นไปรวดเร็วกว่าส่วนอื่น ๆ ทั้ง 3 ส่วน ทั้งนี้เพราะบริเวณส่วนกลางของหัวเมื่อผ่าดูจะพบว่ามีกลุ่มเนื้อเยื่อเจริญและเป็นศูนย์รวมติดต่อกับกลุ่ม axillary buds (Hussey, 1977 : 288) ซึ่งพร้อมที่จะเจริญเติบโตได้ ดังนั้นเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงโดยเติมสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมจึงทำให้เนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวมีการเจริญเติบโตได้ดีและรวดเร็วว่าเนื้อเยื่อหัวส่วนบนและส่วนล่าง ซึ่งการเจริญของเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวมีการเกิดเป็นยอดขึ้น โดยไม่ผ่านการเกิดเป็นแคลลัสก่อนซึ่งการเจริญแบบนี้จะย่อมจะมีแนวโน้มที่จะไม่เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมได้ง่าย (Murashige, T 1974 : 135 - 166) สำหรับอัตราส่วนของ BA และ NAA ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์คือมีครบทั้งต้นและราก แม้ว่ารากที่เกิดขึ้นจะแข็งแรง แต่รากส่วนใหญ่ที่ขึ้น เกิดขึ้นที่เนื้อเยื่อหัวโดยไม่ติดต่อกับสัมผัสกับดิน ทำให้ไม่สามารถลำเลียงน้ำและแร่ธาตุสู่ลำต้นได้คึกัก เมื่อนำออกปลูกภายนอกจึงมีปัญหาเรื่องการอยู่รอดคือส่วนใหญ่ต้นจะแห้งตาย ต้องแก้ไขโดยการตัดเนื้อเยื่อหัวทิ้งไปเมื่อหยอดสูงได้ประมาณ 2.5 เซนติเมตรแล้วจึงย้ายยอดไปเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพื่อให้รากงอกออกมาจากโคนต้น และเมื่อนำออกปลูกภายนอกจะทำให้เปอร์เซ็นต์การตายน้อยลง

จากภาพประกอบ 4 จะพบว่า การเจริญเติบโต และน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อหัวส่วนบน และหัวส่วนล่างไม่ต่างกันมาก อยู่ในลักษณะใกล้เคียงกัน ดังนั้น ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อหัวส่วนบน และหัวส่วนล่างคือสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสม จากการรายงานของสกูก และมิลเลอร์ (Skooog and Miller . 1975 : 118 - 131) พบว่าการพัฒนาของเนื้อเยื่อไปเป็นต้นหรือราก ขึ้นกับความสมดุลของสารเร่งการเจริญเติบโต 2 กลุ่มคือ ออกซิน และไซโตไคนิน ถ้าอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสูงกว่าจุดสมดุล เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นแคลลัสและราก ถ้าอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินต่ำกว่าจุดสมดุลเนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นยอดถ้าอัตราส่วนของสาร 2 กลุ่มสมดุลกันเนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นยอดและราก

เนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวจะมีน้ำหนักสดและเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตสูงสุด และสัมพันธ์กัน คือ มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตสูง น้ำหนักสดก็จะมากตามไปด้วย ส่วนเนื้อเยื่อหัวส่วนบน และส่วนล่างมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตต่ำกว่าน้ำหนักสดก็น้อยกว่า

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนหัวที่ได้จากหัวใหม่ คือหัวที่เพิ่งผลิตขึ้นใหม่จะได้ผลดีกว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้จากหัวเก่า ซึ่งเป็นหัวที่เก็บมาเป็นเวลานานแล้ว คือเนื้อเยื่อจากหัวใหม่จะมีการเจริญเติบโตมีการสร้างยอดจำนวนมาก ส่วนเนื้อเยื่อหัวเก่าจะไม่มีการเจริญเติบโตแต่อย่างใดและเริ่มเป็นสีน้ำตาลภายในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากทำการเพาะเลี้ยง จนในที่สุดเนื้อเยื่อจะเป็นสีน้ำตาลดำหมกภายในสัปดาห์ที่ 3 ทั้งนี้จะสอดคล้องกับรายงานของซูกะมาโตะ และโกโนชิม่า (Tsukamoto and Konoshima, 1972 : 244 - 249) ซึ่งพบว่าหัวเกล็ดไคโอลัสที่อยู่ในช่วงระยะพักตัวจะมีสารยับยั้ง (inhibitor) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการพักตัวของหัวเกล็ดไคโอลัสในปริมาณมากกว่าสารที่กระตุ้นให้หัวมีการเจริญเติบโต เนื้อเยื่อหัวเก่าที่นำมาเพาะเลี้ยงถึงแม้ว่าจะผ่านความเย็นมาแล้วก็ตาม แต่อาจจะยังมีปริมาณสารยับยั้งมากกว่าสารกระตุ้นการเจริญเติบโต ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวเก่าจึงไม่มีการเจริญเติบโต นอกจากนั้นเนื้อเยื่อหัวเก่าเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงจะมีการปะปนของเชื้อจุลินทรีย์สูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเนื้อเยื่อที่ได้จากหัวใหม่แทบจะไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เลย โดยจะเห็นได้จากหัวเก่าที่ได้จากการเพาะปลูกรุ่นก่อนมักจะเป็นโรคเกี่ยวกับหัวเน่าเกือบทุกหัวซึ่งจะสังเกตได้จากรอยแผลที่ผิวของหัวซึ่งบางครั้งรอยแผลมีขนาดเล็กมาก เมื่อนำเนื้อเยื่อไปเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจึงทำให้โรคที่อยู่ในเนื้อเยื่อ เจริญอาหารอย่างรวดเร็ว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวเก่าจึงไม่ได้ผลดี

ผลการทดลองที่ 2 เมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ NAA และ K ร่วมกับ NAA พบว่าการเพาะเลี้ยงตาข้างในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรมีการเจริญเป็นต้น และรากได้ดีที่สุด (ตาราง 9 และ 10) การทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของซีฟ (Ziv. 1979 : 257 - 260) ซึ่งได้ใช้ตาข้างของหัวพันธุ์ Eurovision เลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตาข้างมีการเจริญเป็นต้นใหม่ได้ดี ทั้งนี้ โอคาซาวา และคณะ (Okazawa. 1966 : 862 - 869) ได้อธิบายว่าออกซินมีความจำเป็นต่อการเจริญของเนื้อเยื่อ และ K จะส่งเสริมการทำงานของออกซิน ก็ทำให้เนื้อเยื่อเจริญเติบโตขึ้น อัตราส่วนระหว่าง NAA และ K ในระดับต่าง ๆ จะทำให้การเจริญของเนื้อเยื่อแตกต่างกัน ถ้าใช้ NAA ความเข้มข้นสูงร่วมกับ K ความเข้มข้นต่ำ จะช่วยให้เนื้อเยื่อนำมาเพาะเลี้ยง มีการเปลี่ยนแปลงภายในเป็นลำดับจนมีการสร้างรากและแคลลัสเกิดขึ้นแต่ถ้าใช้ K ความเข้มข้นสูงกับ NAA ความเข้มข้นต่ำหรือไม่เติม NAA เลย เนื้อเยื่อจะมีการสร้างตาและหัวเกิดขึ้น ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ NAA นั้น มีการเจริญเติบโตได้เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม K ร่วมกับ NAA แต่ต้นที่ได้จะมีขนาดเล็กกว่าใบก่อนข้างที่คี่ขาว เช่น เมื่อใช้ BA ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นต้นไป (สูตร 40, 41, 42) เนื่องจาก BA มีผลต่อเนื้อเยื่อตาข้าง กล่าวคือ BA จะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของรากและ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของใบ แต่ถ้า BA ความเข้มข้นสูงจะเพิ่มความกว้างของใบทำให้ใบที่เกิดขึ้นมีรูปร่างผิดปกติและทำให้ใบขาวซีดขาดคลอโรฟิลล์ (Hussey. 1975 : 253 - 263)

การทดลองที่ 3 การย้ายหน่อจากการทดลองที่ 1 และ 2 มาเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม K ความเข้มข้นต่าง ๆ กันพบว่า ในอาหารที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรมีการเกิดต้นแขนงได้ดีที่สุด คือจากเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวจากการทดลองที่ 1 ได้ต้นแขนง 4.4 ต้น ตาข้างที่ติดกับหัวได้ 6.3 ต้น ความสูงเฉลี่ย 2.91 และ 3.11 เซนติเมตรตามลำดับ

เมื่อย้ายเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยตาออกและหน่อขนาดเล็กมาเลี้ยงในอาหารที่มี K ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ตาออกและหน่อขนาดเล็กมีการยืดตัวและเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมาก ในอาหาร MS ที่ไม่เติม K ตาออกและหน่อมีการเจริญเพียงเล็กน้อย และเมื่อความเข้มข้นของ K มากขึ้น การเจริญเติบโตของต้นจะมีเพิ่มมากขึ้น จนความเข้มข้นถึง 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีจำนวนต้นแขนงเฉลี่ยมากที่สุด (ตาราง 11) และอาหาร MS ที่เติม K 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร การเจริญเติบโตของต้นแขนงจะช้าลง ดังนั้นการชักนำให้เกิดต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมากเพื่อย้ายไปชักนำให้เกิดรากนั้นเดเบอร์ช และ เมนน์ (Debergh and Maene. 1981 : 335 - 345) กล่าวว่า เป็นขั้นตอนหนึ่งที่จะช่วยลดต้นทุนการผลิตโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ และไซโทไคนิน ความเข้มข้นต่ำจำเป็นสำหรับขั้นตอนนี้

การทดลองที่ 4 ต้นแขนงที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS และ MS/2 โดยเติมน้ำตาล 2%, 3% และ 4% ร่วมกับ NAA 0.0, 0.1, 0.5, 0.8, 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในอาหาร MS ที่เติมน้ำตาล 3% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดรากดีที่สุด และใช้เวลาน้อยที่สุด คือ 14 วัน

การทดลองในครั้งนี้พบว่าระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 3% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นผลการทดลองที่ดีที่สุด ในขณะที่เดียวกันระดับน้ำตาล 2%, และ 4% ที่ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร การเกิดรากจะมีลักษณะคล้ายกับการใช้น้ำตาล 3% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่แตกต่างกันในเรื่องระยะเวลาที่ใช้ในการเกิดราก

ในอาหาร MS คัดแปลงที่เติมน้ำตาล 2% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลาที่ใช้ในการเกิดรากนาน 29 วัน แต่ในอาหาร MS คัดแปลงที่เติมน้ำตาล 4% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลาที่ใช้ในการเกิดรากนาน 21 วัน ดังนั้นเมื่อความเข้มข้นของ NAA คงที่ แต่มีความแตกต่างของความเข้มข้นของน้ำตาล จะสังเกตเห็นความแตกต่างในเรื่องจำนวนวันที่ใช้ในการเกิดราก แสดงว่าน้ำตาลมีผลต่อการเกิดราก ถ้าน้ำตาลมีความเข้มข้นไม่พอเหมาะ คือน้อยเกินไป เช่น 2% จะทำให้การเจริญของเนื้อเยื่อช้าลง และถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลสูงเกินไปเป็น 4% การเจริญของเนื้อเยื่อและการเกิดรากจะช้ากว่าที่ใช้น้ำตาล 3% (ตาราง 12) ทั้งนี้ตามการรายงานของ ทากายามา และมิซาวา (Takayama and Misawa, 1979 : 184 - 190) กล่าวว่า น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานถ้ามีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น น้ำตาลนั้นไปส่งเสริมกิจกรรมทางสรีระของเนื้อเยื่อให้สูงขึ้น แต่ขณะเดียวกันก็ทำให้สภาพของเซลล์ภายในเนื้อเยื่อเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งจากการทดลองพบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปประมาณ 1 สัปดาห์ หลังจากเกิดรากแล้ว ลักษณะรากจะอวบขาว แตกออกมาหนาแน่น และค่อนข้างเปราะหักง่าย ไม่สามารถนำต้นกล้าออกปลูกได้ ทั้งนี้ มิซาวา ยังพบอีกว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลสูง จะมีผลยับยั้งการทำงานของไซโตไคนิน ขณะที่อาหารที่มีน้ำตาลปริมาณพอเหมาะ จะไปส่งเสริมการทำงานของไซโตไคนิน

ในอาหาร MS/2 คัดแปลงที่เติมน้ำตาล 2% และ 4% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ผลเช่นเดียวกับ MS คัดแปลงที่เติมน้ำตาล 2% และ 4% ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่จำนวนวันจะมากกว่า สาเหตุเป็นเพราะ ความเข้มข้นของสารละลายในอาหารมีน้อยเพียงครึ่งเดียว ที่ต้องใช้เวลาในการตั้งตัวนาน (Papachatziet al. 1981 : 506 - 508) เวลาที่ใช้ในการเกิดรากจึงนานขึ้นตามไปด้วย

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ระดับความเข้มข้นของ NAA มีผลต่อการเกิดราก เพราะ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถกระตุ้นให้เกิดรากที่มีลักษณะเรียวยาว สีขาว แข็งแรงเหมาะที่จะนำไปปลูกในวัสดุปลูกต่อไป สำหรับอาหาร MS และ MS/2 ที่ไม่ได้เติม NAA มีรากเกิดขึ้นน้อย รากเปราะหักง่ายไม่แข็งแรง และจำนวนวันที่ใช้ในการเกิดราก นานเกิน 30 วัน

ทุกสูตร ส่วนความเข้มข้นของ NAA ที่มากกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 0.5, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทุกสูตรมีรากเกิดขึ้นและลักษณะของรากนั้นคล้ายคลึงกัน คือแตกออกมาเป็นกระจุกหนาแน่น รากขาวอวบสั้น ส่วนเวลาที่ใช้ในการเกิดรากนานเกิน 30 วันทุกสูตร ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ สะอาด ร่มรื่นสุขารมย์ (2526 : 68) ซึ่งเพาะเลี้ยงแกลลิโอลัสจากเนื้อเยื่อตาข้างในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม NAA ตั้งแต่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นต้นไป รากจะมีลักษณะอวบใหญ่และสั้นแตกออกมาเป็นกระจุก และจากรายงานของ ฮัสเสย์ (Hussey, 1976 : 123 - 125) กล่าวว่า NAA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อสร้างรากได้ แต่จะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของตาออก และต้นแขนงของเนื้อเยื่อแกลลิโอลัสที่เพาะเลี้ยงจะสนองต่อ NAA ในระดับความเข้มข้นต่ำเท่านั้น

นอกจากนี้ยังพบว่า การนำต้นแขนงที่มีขนาดพอเหมาะไปชักนำให้เกิดรากเป็นสิ่งจำเป็นสามารถทำงานได้รวดเร็ว เนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยตาออกและต้นแขนงจะเจริญต่อไปได้ การย้ายเนื้อเยื่อที่ยังมีขนาดเล็กเกินไปลงในอาหารเพื่อชักนำให้เกิดราก ซึ่งเติม NAA อยู่จะทำให้ตาออกหรือต้นแขนงชะงักการเจริญเติบโตหรืออาจตายได้ หรืออาจมีการเจริญของรากมากกว่าการเจริญเติบโตของต้น ส่วนการย้ายต้นแขนงที่มีขนาดโตเกินไปจะทำให้ต้นและใบข้างล่างต้นชะงักการเจริญเติบโต นอกจากนี้การย้ายต้นไปชักนำให้เกิดรากทำได้ยากขึ้น และการปนเปื้อนจะมีมากขึ้นตามไปด้วย

การทดลองที่ 5 วัสดุปลูกที่เหมาะสมในการทดลองครั้งนี้ได้แก่ หทราย : พีท = 2 : 1 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูงสุด 66.67% รองลงมาได้แก่ หทราย : ขี้เถ้าแกลบ : ขุยมะพร้าว = 1 : 1 : 1 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด 46.50 % และหทราย : ขี้เถ้าแกลบ = 1 : 1 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด 33.34% เป็นลำดับสุดท้าย

ในการทดลองนำต้นกล้าที่ผลิตได้ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก ในตอนแรกปลูกในวัสดุปลูกที่เตรียมไว้โดยไม่ได้บ่มฆ่าเชื้อ ผลปรากฏว่าไม่มีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย ต่อมาจึงแก้ไขโดยการนำวัสดุปลูกที่เตรียมไว้ ผ่านการบ่มฆ่าเชื้อก่อน ทำให้สามารถหาเปอร์เซ็นต์การรอดตายได้ จากการทดลองในครั้ง^๕ การรอดตายของต้นแขนงได้ผลเป็นที่น่าพอใจคือมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายถึง 66.67% ซึ่งในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแกลดิโอลัส โดยใช้ส่วนอื่น ๆ เช่น ตาข้างที่ติดกับข้อคอก่อนพบว่าสามารถผลิตต้นแขนงได้มากก็จริงแต่ไม่สามารถหาเปอร์เซ็นต์การรอดตายได้เพราะต้นมีขนาดเล็กมากไม่สามารถอยู่รอดได้ แต่การทดลองนี้ได้ใช้เนื้อเยื่อหัว และตาข้างสามารถผลิตต้นแขนงที่มีขนาดใหญ่แข็งแรงพอจะนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกได้ อนึ่งวัสดุปลูกก็มีส่วนสำคัญในการอยู่รอดของต้นกล้า ในการทดลองนี้ใช้ หทราย : พีพี = 2 : 1 ทำให้ต้นกล้ารอดตายสูงสุด เนื่องจากธรรมชาติของดินแกลดิโอลัสชอบหินร่วนปนทราย (บันทึกฯ สมานนท์. 2530 : 22) และสอดคล้องกับผลการทดลองของ ซีฟ (Ziv. 1979 : 257 - 260) โดยย้ายต้นแกลดิโอลัสออกปลูกในวัสดุปลูกที่มีทรายผสมพีพี = 2 : 1 ต้นแกลดิโอลัสมีการเจริญเติบโตและตั้งตัวได้เร็ว ส่วนการทดลองที่ปลูกในวัสดุปลูกที่มีทราย : พีพีแกลบ = 1 : 1 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด 33.34 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อปลูกในทราย : พีพีแกลบ : ขุยมะพร้าว = 1:1:1 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด 46.50 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองใช้วัสดุปลูก 2 ชนิดหลังนี้จะมีการอยู่รอดในระดับต่ำ ไม่น่าพอใจ เชื่อว่าเป็นสาเหตุจากการขาดธาตุอาหารในดินที่ปลูก เพราะการปลูกแกลดิโอลัสควรใส่ปุ๋ยอินทรีย์ในปริมาณมากจะช่วยป้องกันการขาดธาตุอาหารได้ อาการขาดธาตุอาหารในแกลดิโอลัสที่เป็นที่รู้จักกันคือ อาการขาดธาตุเหล็กต้องควบคุมอาการนี้โดยใส่เหล็กที่ละลายแล้วให้ผ่านแบบโปรยทันทีเพื่อป้องกันขอบใบเป็นสีดําและใบไหม้ (บันทึกฯ สมานนท์. 2530 : 4) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ใด ๆ อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายอยู่ในระดับที่ไม่น่าพอใจ

ข้อเสนอแนะ

ในการขยายพันธุ์เกล็ดไอลัสโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนหัวควรใช้ตาข้างมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลงที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใน 1 เดือน จะได้ต้นเกล็ดไอลัสที่มีต้นและรากที่สมบูรณ์ สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ ลักษณะต้นที่ได้จะมีสีเขียวเข้ม แข็งแรง และตั้งตัวเร็ว แต่การนำต้นแขนงที่มีขนาดเล็กออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควรในด้านคุณภาพ เพราะต้นแขนงขนาดเล็ก เมื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติต้นแขนงจะตายเกือบหมดที่เหลือเล็กน้อยก็ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ สำหรับการชักนำให้ต้นแขนงที่มีขนาดสมบูรณ์เกิดการสร้างรากนั้น โดยการนำต้นแขนงไปเพาะเลี้ยงในอาหาร MS คัดแปลง ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาล 3% นาน 14 วัน ก็สามารถนำต้นกล้าออกปลูกในวัสดุปลูกที่มีทราย : พีท = 2:1 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

นอกจากนี้ จะศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารเร่งการเจริญเติบโตในการผลิตต้นแขนงที่มีขนาดเล็กให้เป็นต้นแขนงที่สมบูรณ์แข็งแรงหมดทุกต้น และหาวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการนำต้นกล้าเกล็ดไอลัสออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ในด้านความประหยัด รวดเร็ว และลดต้นทุนการผลิต

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

นันทิยา สมนานท์. การปลูกกลadiโอลัสเป็นไม้ตัดดอกในเขตกึ่งร้อนและเขตร้อน.

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ : วิทยานิพนธ์การพิมพ์, 2530.

ไพฑูริย์ กวินเลิศวัฒนา. หลักการและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ม.ป.ท. 2524.

ยุวศรี อักกะวิเนต และอุบล วรรณานนท์. การศึกษาการขยายพันธุ์กลadiโอลัสโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. บัณฑิตพิเศษปริญญาตรี กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2523.

วิไลลักษณ์ ชินะจิตร. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกลadiโอลัส. บัณฑิตพิเศษปริญญาโท กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2523.

สะอาค รมรินทร์สุขารมย์. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกลadiโอลัสโดยใช้ก้านช่อดอกก่อน. วิทยานิพนธ์วทม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2516.

แสงธรรม คมกฤส. กลadiโอลัสไม้ตัดดอก. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์คุรุสภา, 2516.

สมเพียร เกษมทรัพย์. การปลูกไม้ดอก. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2522.

Debergh, P.C. and L.J. Maene. "A Scheme for Commerical Propagation of Ornamented Plants by Tissue Culture," Scientia Horticulture. 14 : 335 - 345; 1981.

ELLen G. Sutter. "Micropropagation of Ixia viridifolia and A Gladiolus X Homoglossum Hybrid," Scientia Horticulture. 29 : 181 - 189; 1987.

Fossard, R.A. de. "Gladiolus Plants From Callus Culture," Tissue Culture for Plant Propagation. Australia : The University of new England Printery, 27 : 221 - 227; 1983.

Hussey, G. "In vitro Propagation of Gladiolus axillary Shoot Formation," Scientia Horticulture. 6 : 287 - 296; 1977.

Murashige, T. "Plant Propagation Through Tissue Culture" Ann Rev. Plant Physiol. 25 : 135 - 166; 1974.

Murashige, T. and F. Skoog. "A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Culture," Physiologia Plantarum. 15 : 473 - 497; 1962.

- Okazawa, Y; N. Katsura; and T. Tagawa "Effects of Auxin and Kinetin on the Development and Differentiation of Potato tissue Culture" Physiol Plant 20 : 826 - 869, 1966.
- Simonson, J. and A.C. Hildebrandt. " In vitro Growth and Differentiation of Gladiolus Plant From Tissue Culture," Canada Journal Botany. 49 : 1817 - 1819; 1971.
- Skoog, F. and C.O. Miller. "Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissue Cultivated in Vitro," Sym Soc. Exp. Biol. 11 : 118 - 131; 1957.
- Takayama, S. and M. Misawa. "Differentiation in Lillium Bulbscales Grown in Vitro Effect of Various Cultural conditions. Physiol Plant. 46 : 184 - 190; 1979.
- Tsukamoto, Y. and H. Konoshima. "Changes in Endogenous Growth Regulators in the Gladiolus Corn During Dormancy," Physiol Plant. 26 : 244 - 249; 1972.
- Wang, T.Y. and M.C. Huang. "Studies on the Tissue Culture Gladiolus hybridus," Hortscienc. 24(4) : 137 - 144; 1978.
- Wilfret, G.J. "Shoot Tip Culture of Gladiolus : An Evaluation of Callus Tissue Development," New York Academic Press. 37 : 131 - 132; 1971.
- Ziv, M; A.H. Halevy and R. Shilo. "Organs and Plantlets Regeneration of Gladiolus Through Tissue Culture," Annals of Botany. 34 : 671 - 676; 1969.
- _____. "Transplanting Gladiolus Plants Regeneration in vitro," Scientia Horticulture. 11 : 257 - 260; 1979.

ภาคผนวก

องค์ประกอบและปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS และ MS ดัดแปลง

1. เตรียมสารละลายเข้มข้น 100 เท่า ของความเข้มข้นในอาหาร

1.1 Stock 1

NH_4NO_3	165	กรัม
KNO_3	190	กรัม
H_2O (distilled)	1,000	มิลลิลิตร

1.2 Stock 2

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37	กรัม
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1.690	กรัม
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.860	กรัม
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0025	กรัม
H_2O (distilled)	1,000	มิลลิลิตร

1.3 Stock 3

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	44	กรัม
KI	0.083	กรัม
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0025	กรัม
H_2O (distilled)	1,000	มิลลิลิตร

1.4 Stock 4

KH_2PO_4	17	กรัม
H_3BO_3	0.620	กรัม
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.025	กรัม
H_2O (distilled)	1,000	มิลลิลิตร

1.5 Stock 5

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.784	กรัม
Na_2EDTA	3.724	กรัม
H_2O (distilled)	1,000	มิลลิลิตร

2. เตรียมสารละลายเข้มข้น 200 เท่า ของความเข้มข้นในอาหาร

2.1 Stock 6

Inositol	2.0	กรัม
Nicotinic acid	0.01	กรัม
Pyridoxine HCl	0.01	กรัม
Thiamine HCl	0.002	กรัม
Glycine	0.04	กรัม
H_2O (distilled)	100	มิลลิลิตร

3. Sucrose 30 กรัม

4. Agar 8 กรัม

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ นางสาวกานดา ชื่อสกุล ชาญสวัสดิ์

เกิดวันที่ 8 เดือนมีนาคม พุทธศักราช 2502

สถานที่เกิด บ้านเลขที่ 130 ตำบลควนสุบรรณ อำเภอบ้านนาสาร
จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84120

สถานที่อยู่ปัจจุบัน บ้านเลขที่ 1255/70 ซอยนครทอง ตำบลสำโรงเหนือ
อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ 10270

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ 1 ระดับ 4

ที่ทำงานปัจจุบัน โรงเรียนบ่อมนาคูราชสวทยานนท์ จังหวัดสมุทรปราการ

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2520 มัธยมศึกษาตอนปลายสายสามัญ จากโรงเรียนบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี

พ.ศ. 2522 ปกศ.สูง (วิทยาศาสตร์ทั่วไป) จากวิทยาลัยครูสุราษฎร์ธานี

พ.ศ. 2525 กศ.บ. (ชีววิทยา วิชาโทแนะแนวการศึกษา) จากมหาวิทยาลัย
ศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

พ.ศ. 2532 น.บ. จากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

พ.ศ. 2533 กศ.ม. (ชีววิทยา) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวเกล็ดไอลิสเพื่อการขยายพันธุ์

บทคัดย่อ

ของ

กานพา ฟ้าสวัสดิ์

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกชีววิทยา

กุมภาพันธ์ 2533

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวส่วนบน หัวส่วนล่าง และส่วนกลางของหัวแกลดิโอลัสในอาหาร MS และ MS ดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าเนื้อเยื่อส่วนกลางของหัวมีการเจริญดีที่สุด ในอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำเนื้อเยื่อตาข้างที่ติดกับหัวเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA ร่วมกับ NAA และ K ร่วมกับ NAA พบว่าการใช้ K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ตาข้างมีการเจริญเติบโตเป็นหน่อดีที่สุด หน่อที่ได้นี้จะแตกต้นแขนงได้ดีในอาหารที่เติม K 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร การชักนำให้เกิดรากพบว่าในอาหาร MS ที่เติมไคตาโลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดรากได้รวดเร็วที่สุด รากมีจำนวนมากและแข็งแรง เมื่อย้ายออกปลูกใน ทราย : พีท = 2 : 1 มีอัตราการรอดตาย 66.67 เปอร์เซ็นต์

PROPAGATION OF GLADIOLUS HYBRIDUS THROUGH TISSUE CULTURE

AN ABSTRACT

BY

KANDA CHASAWATH

A disseration submitted in partial fulfilment of the requirements
for the Master of Education degree in Biology

at Srinakharinwirot University

February 1990

Apical, Upper, and lower parts of an original corm of Gladifolus hybridus were propagated through tissue culture techniques on Murashige and Skoog (MS) and modified MS media supplemented with various level of benzyladenine (BA) and naphthaleneacetic acid (NAA). It was found that the apex grew best on modified MS medium containing 0.1 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA. The axillary buds excised from the corm grew best on modified MS medium containing 2.0 mg/l kinetin and 0.1 mg/l NAA, and gave rise to multiple shoots on modified MS medium containing 2.0 mg/l kinetin. Best root induction occurred when transfer to medium with 0.1 mg/l NAA and sucrose 3%. Transfer plantlets which were potted in sand : peat = 2 : 1 gave healthy and numerous roots with the highest rate of survival at 66.67 percent.