

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยอบีราในสภาพปลอดเชื้อ

ปริญญาโท

ของ

สายสมร มุขลาย

28 ก.ค. 2529

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้าหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

กุมภาพันธ์ 2529

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

160407

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตและคณะกรรมการสอบ ใต้พิจารณาปัญหานี้พบ
ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ใต้

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....*ดร. นริศพร*.....ประธาน
.....*ดร. นริศพร*.....กรรมการ

คณะกรรมการสอบ

.....*ดร. นริศพร*.....ประธาน
.....*ดร. นริศพร*.....กรรมการ
.....*ดร. นริศพร*.....กรรมการ

ประกาศคุณูปการ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อรดี สหวัชรินทร์ ประธานกรรมการ
ที่ปรึกษา อาจารย์อรุณทิพย์ แก้วฉาย กรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ให้คำแนะนำในการศึกษาวิจัย
และตรวจแก้วิทยานิพนธ์จนสำเร็จสมบูรณ์ รวมทั้ง อาจารย์อุรุพันธ์ ปัญญา ญ่แทนบดีพิทยาลัย
ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณจำเริญ ทองเหลือง คุณบุตรี มหาวิจิตร คุณชูเกียรติ และคุณบัวเรียน
โพธิ์ ซึ่งในการจัดพิมพ์

ขอขอบพระคุณ เพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ ทุกคน โดยเฉพาะ คุณรุ่งรอง วิเศษสุวรรณ
คุณสุนณา กิจไพฑูรย์ คุณเสรีเกียรติ เกี่ยมแพง และคุณสนธิชัย จันทร์เปรม ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ
และให้คำแนะนำเกี่ยวกับเทคนิคที่ใช้ในการวิจัย

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณวิวัฒน์ และคุณวนิดา แก้วกัทยา
และทุกคนในครอบครัว ที่ให้กำลังใจและสนับสนุนช่วยเหลือตลอดมาจนปริญญาโทสำเร็จลง
ไปด้วยดี

สายสมร มุขลาย

กุมภาพันธ์ 2529

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
คำนำ	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	5
ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	5
ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	5
เวลาที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า	6
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	7
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเยื่อปรีรา	16
3 วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า	19
อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า	19
วิธีทดลอง	20
วิธีเก็บรวบรวมข้อมูลและวิธีวิเคราะห์ข้อมูล	26
4 ผลการศึกษาค้นคว้า	27
ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่าง IAA กับไคนิติน ต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยื่อปรีรา	27
ผลการทดลองที่ 2 การศึกษา pH ของอาหารที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยื่อปรีรา	46
ผลการทดลองที่ 3 การศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลระดับต่าง ๆ ที่มีต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยื่อปรีรา	54
ผลการทดลองที่ 4 การศึกษาผลของอุณหภูมิห้องเพาะเลี้ยงที่มีต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยื่อปรีรา	62

บทที่ ๑

หน้า

5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	71
บรรณานุกรม	81

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 องค์ประกอบและปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตรมูราซิกิ และสฤกคักแปลง	21
2 ปริมาณของ IAA และไคนิติน ที่เติมลงในอาหารสูตรมูราซิกิ และสฤกคักแปลง	23
3 จำนวนต้นเฉลี่ยของเยอบีรา 3 พันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA และไคนิติน ปริมาณต่างกัน	31
4 เปรียบเทียบจำนวนและความยาวรากเฉลี่ย ของเยอบีรา 3 พันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA ปริมาณต่างกัน	32
5 ลักษณะลำต้น ใบ และราก เยอบีราพันธุ์ Australian giants เลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA และไคนิติน ปริมาณต่างกัน	34
6 ลักษณะลำต้น ใบ และราก เยอบีราพันธุ์ Ramona strain mixed เลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA และไคนิติน ปริมาณต่างกัน	35
7 ลักษณะลำต้น ใบ และราก เยอบีราพันธุ์ Van wijk เลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA และไคนิติน ปริมาณต่างกัน	36
8 จำนวนต้นเฉลี่ยของเยอบีรา 3 พันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่ปรับค่า pH ต่างกัน	47
9 จำนวนต้นเฉลี่ยของเยอบีรา 3 พันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสปริมาณต่างกัน	55
10 จำนวนต้นเฉลี่ยของเยอบีรา 3 พันธุ์ เมื่อเพาะเลี้ยงในที่ที่มีอุณหภูมิต่างกัน 3 แห่ง	64

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 เปรียบเทียบลักษณะของขนเขือปรีรา 3 พันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	37
2 เปรียบเทียบลักษณะขนเขือปรีรา เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA ในปริมาณ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนิติน ปริมาณต่างกัน	38
3 เปรียบเทียบขนาดและรูปร่างของใบเดิม และใบที่เกิดขึ้นใหม่ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA ในปริมาณ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนิติน 12 มิลลิกรัมต่อลิตร	39
4 เปรียบเทียบการแตกกอของเขือปรีราพันธุ์ Australian giants เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA และไคนิติน ปริมาณต่างกัน	40
5 เปรียบเทียบการแตกกอ และลักษณะการเจริญเติบโต ของเขือปรีราพันธุ์ Australian giants หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารที่เติม IAA และไคนิติน ปริมาณต่างกัน	41
6 เปรียบเทียบการแตกกอของเขือปรีราพันธุ์ Ramona strain mixed เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA และไคนิติน ปริมาณต่างกัน	42
7 เปรียบเทียบการแตกกอ และลักษณะการเจริญเติบโต ของเขือปรีราพันธุ์ Ramona strain mixed หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารที่เติม IAA และไคนิติน ปริมาณต่างกัน	43
8 เปรียบเทียบการแตกกอของเขือปรีราพันธุ์ Van wijk เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA และไคนิติน ปริมาณต่างกัน	44

9	เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขือป่าพันธุ์ Van wijk หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารที่เพิ่ม IAA และไคนติน ปริมาณต่างกัน	45
10	เปรียบเทียบการแตกกอของเขือป่าพันธุ์ Australian giants เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน	48
11	เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขือป่าพันธุ์ Australian giants หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน	49
12	เปรียบเทียบการแตกกอของเขือป่าพันธุ์ Ramona strain mixed เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน	50
13	เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขือป่าพันธุ์ Ramona strain mixed หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน	51
14	เปรียบเทียบการแตกกอของเขือป่าพันธุ์ Van wijk เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน	52
15	เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขือป่าพันธุ์ Van wijk หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน ..	53
16	เปรียบเทียบการแตกกอของเขือป่าพันธุ์ Australian giants เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เพิ่มซูโครส ปริมาณต่างกัน	56
17	เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขือป่าพันธุ์ Australian giants หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารที่เพิ่มซูโครสปริมาณต่างกัน	57

18	เปรียบเทียบการแตกกอของเขยปีราพันธุ์ Ramona strain mixed เมื่อ เลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสปริมาณต่างกัน	58
19	เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขยปีราพันธุ์ Ramona strain mixed หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหาร ที่เติมซูโครส ปริมาณต่างกัน	59
20	เปรียบเทียบการแตกกอของเขยปีราพันธุ์ Van wijk เมื่อเลี้ยงบนอาหาร ที่เติมซูโครสปริมาณต่างกัน	60
21	เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขยปีราพันธุ์ Van wijk หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารที่เติมซูโครส ปริมาณต่างกัน	61
22	เปรียบเทียบการแตกกอของเขยปีราพันธุ์ Australian giants เมื่อเลี้ยง ในสภาพห้องเพาะเลี้ยงต่างกัน	65
23	เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขยปีราพันธุ์ Australian giants หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน ในสภาพห้อง เพาะเลี้ยงต่างกัน	66
24	เปรียบเทียบการแตกกอของเขยปีราพันธุ์ Ramona strain mixed เมื่อเลี้ยงในสภาพห้องเพาะเลี้ยงต่างกัน	67
25	เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขยปีราพันธุ์ Ramona strain mixed หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน ในสภาพห้อง เพาะเลี้ยงต่างกัน	68
26	เปรียบเทียบการแตกกอของเขยปีราพันธุ์ Van wijk เมื่อเลี้ยงในสภาพ ห้องเพาะเลี้ยงต่างกัน	69

27	เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขื่อนิราพันธุ์ Van wijk หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน ในสภาพห้องเพาะเลี้ยง ต่างกัน	70
----	---	----

เบอปีรา (Gerbera jamesonii) อยู่ในวงศ์ Compositae สกุล Gerbera มีชื่อสามัญว่า Transvaal daisy, Barberton daisy หรือ African daisy ซึ่งมีความหมายตามแหล่งกำเนิดหรือลักษณะดอกที่คล้ายดอกเดซี่และมีถิ่นกำเนิดที่แอฟริกาใต้ ปัจจุบันมีเบอปีราประมาณ 40 ชนิด (species) ที่นิยมกันแพร่หลาย เช่น Gerbera jamesonii, Gerbera veridifolia และ Gerbera aurantica ลักษณะทั่วไปของเบอปีรา มีลำต้นกลมและสั้นมาก อยู่ใต้ดิน มีอายุยืนหลายปี (perennial herbs) ใบเดี่ยวแตกเป็นพุ่มออกจากลำต้น ขอบใบแฉก (lobe) แต่ละแฉกหยักลึกไม่เท่ากัน ขอบใบมักหุบเข้าหาเส้นกลางใบเล็กน้อย โคนใบและเส้นกลางใบมีขนบางๆทั่วไป ช่อดอก (inflorescence) มีลักษณะเป็น head ประกอบด้วยดอกย่อยจำนวนมากเรียงอัดกันแน่นอยู่บนฐานรองดอก (receptacle) ช่อหนึ่งจะมีดอกย่อยสองประเภท คือ ดอกชั้นนอก (ray floret) เป็นดอกตัวเมีย ดอกชั้นใน (disc floret) เป็นดอกสมบูรณ์เพศมีขนาดเล็กจำนวนมากเรียงอัดกันแน่นอยู่บริเวณใจกลางของดอก

เบอปีราแยกได้เป็น 4 ประเภทโดยอาศัยลักษณะที่ต่างกันของดอกในการจำแนก ได้แก่

1. สายพันธุ์อเมริกา (American strain) มีลักษณะของกลีบดอกชั้นนอกเรียวยาว (long narrow petal) มีทั้งชนิดดอกชั้นเดียวถึงซ้อนและซ้อน

2. สายพันธุ์ยุโรป (European strain) กลีบดอกชั้นเดียวหรือถึงซ้อนกว้างสั้นและหนากว่าสายพันธุ์อเมริกา ก้านดอกใหญ่และมีอายุการปักแจกันทนนาน เบอปีราชนิดนี้ใช้ปลูกเป็นการค้าในยุโรปในปัจจุบันเป็นลูกผสมระหว่าง Gerbera jamesonii กับ G. veridifolia ซึ่งกลายเป็นเบอปีราพันธุ์ยุโรป (G. jamesonii hybrida) พันธุ์เบอปีราประเภทนี้ที่ปลูกเป็น

การค้าอยู่ในปัจจุบัน เช่น Melange classique, Dunkel pink, Elegance, Symphonic และอื่น ๆ

3. สายพันธุ์ไทย (Thai strain) แต่เดิมนั้นนายแพทย์คาร์ทิวไคส์พันธุ์เข้ามาปลูกในกรุงเทพมหานครราวปี พ.ศ. 2451 ได้มีการผสมพันธุ์เยอบีราไคพันธุ์ใหม่ ๆ มากมาย ซึ่งลักษณะของเยอบีราไทยไม่เหมือนเยอบีราในยุโรปและอเมริกาเลย คือมีกลีบดอกแคบแต่ไม่ยาว มีลักษณะช่อหนา (full double) ลดหล่นลงมา เยอบีราพันธุ์ไทยที่ปลูกเป็นการค้าในปัจจุบัน ไคแก่พันธุ์ลูกรัก บัวหลวง สีอิฐ สีดา แดงลึกแดง ขาวจักรสัน กุमारทอง (สมเพียร เกษมทรัพย์ 2524 : 313 - 318)

4. ลูกผสมพันธุ์ไทยและยุโรป (Thai - European Hybrid) มีดอกย่อยชั้นนอกซ้อนกันหลายชั้นเหมือนพันธุ์ไทยแต่ความยาวของกลีบดอกชั้นนอกจะยาวเท่า ๆ กัน ถัดเข้ามาอีกวงหนึ่งจะมีกลีบดอกยาวและสั้นลดหลั่นกันไปจนถึงใจกลางของดอก กลีบดอกหนาและกว้างกว่าพันธุ์ไทยแต่ไม่เท่าพันธุ์ยุโรป ลูกผสมพันธุ์ไทยและยุโรปนี้เป็นพันธุ์ที่ร้อนสามารถขึ้นได้ในกรุงเทพ พันธุ์ที่ส่งเสริมให้ชาวสวนปลูกเป็นไม้ตัดดอกพันธุ์แรกเป็นสีส้ม ไคแก่พันธุ์จำปา ในต่างประเทศได้แก่พันธุ์มาร์ลีน (Marleen) ซึ่งมีดอกสีเหลือง (อรดี สหวัชรินทร์ 2527 : 143 - 147)

เยอบีราพันธุ์ยุโรปเป็นไม้ตัดดอกชนิดใหม่ที่มีความสวยงามและกำลังแพร่หลายในประเทศไทย เพราะมีกลีบดอกขนาดใหญ่ มีหลายสี จึงได้มีการสั่งเมล็ดพันธุ์มาจากยุโรป และได้ทำการทดลองปลูกที่กรุงเทพมหานครและเชียงใหม่พบว่าออกดอกได้ดีพอสมควร ในต่างประเทศ เช่น เนเธอร์แลนด์มีการปลูกเยอบีราพันธุ์ต่าง ๆ เป็นจำนวนมากเพื่อทำเป็นไม้ตัดดอกที่มีราคาแพงชนิดหนึ่ง (รงรอง วิเศษสุวรรณ และ อรดี สหวัชรินทร์ 2527 : 106 - 111) นอกจากนี้ประเทศไทยได้สั่งดอกเยอบีรามาจากประเทศเนเธอร์แลนด์เพื่อจำหน่าย ซึ่งเป็นพันธุ์ยุโรปหรือเป็นลูกผสมที่มีลักษณะแปลกออกไป ดังนั้นจึงควรหามาปลูกพันธุ์ยุโรปและปรับปรุงพันธุ์พื้นเมืองให้มีคุณภาพดีขึ้น เพื่อลดปริมาณการสั่งเข้าดอกเยอบีราจากต่างประเทศ และมีแนวโน้มในการปลูกเพื่อการส่งออกไปยังต่างประเทศอีกด้วย (ธัญญะ เทชะสีลพิทักษ์ 2526 : 11 - 14)

โดยปกติแล้วเยอบีราพันธุ์ยุโรปขยายพันธุ์โดยการใช้เมล็ด เมล็ดที่ได้เป็น heterozygous กันที่ได้จึงมีความแตกต่างกัน การขยายพันธุ์โดยการแยกกอก็สามารถทำได้ แต่การแตกต้นใหม่ จะใช้เวลานานและให้จำนวนต้นใหม่น้อยประมาณ 50 - 100 เพาะต่อปี (Murashige. 1974 : 175 - 180) การปลูกเยอบีราโดยการเพาะเมล็ดนั้นต้องสั่งซื้อเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพงประมาณเมล็ดละ 7 - 10 บาท บางเมล็ดไม่ออกซึ่งจากการศึกษาถึงเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเยอบีราพันธุ์ยุโรป 4 พันธุ์ ในสภาพปลอดเชื้อที่โครงการหลวงไม่ดอกใดสั่งเข้ามาทดลอง ได้แก่พันธุ์ Australian giants พันธุ์ Ramona strain mixed พันธุ์ Royal diamond mixture และพันธุ์ Van wijk พบว่าพันธุ์ Ramona strain mixed งอกได้ถึง 97.46 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ที่มีความสามารถในการงอกต่ำสุด คือพันธุ์ Australian giants งอกได้เพียง 54.61 เปอร์เซ็นต์ (สายสมร มุขลาย 2527 : 39) นอกจากนี้เมล็ดบางเมล็ดที่นำมาเพาะนั้นติดโรค เช่น โรคเน่าคอดิน (Damping-off) ของต้นกล้าซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* ทำให้เกิดการเน่าเสียหายหลังจากเมล็ดงอก (Orlikowski. 1974 : 239 - 240)

ในระยะแรกของการปลูกเยอบีราพันธุ์ยุโรปจำเป็นต้องเพิ่มจำนวนต้นให้ได้ปริมาณมากเพื่อคัดเลือกต้นที่เหมาะสมสำหรับปลูกในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณต้นเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด จากการศึกษาของนักเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่ามียาหลายปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญพัฒนาของเนื้อเยื่อ ได้แก่ สารเร่งการเจริญเติบโต (growth regulators) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพทางด้านการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ การแบ่งเซลล์ และการขยายขนาดของเซลล์ กลุ่มของสารเร่งการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แก่ ออกซิน (auxin) และไซโตไคนิน (cytokinin) สำหรับความเข้มข้นที่ใช้นั้นขึ้นกับชนิดของพืช ซึ่งอยู่ในระหว่าง 0.01 - 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ออกซินมีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดจุกกำเนิดของราก การแบ่งเซลล์ และการขยายขนาดของเซลล์ ส่วนไซโตไคนินนั้นจะกระตุ้นการเจริญของยอด การแบ่งเซลล์ และการขยายขนาดของเซลล์ การใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนินในอัตราส่วนที่เหมาะสมจะทำให้

เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงเจริญได้ตามต้องการ และยังพบว่าน้ำตาลซึ่งเป็นสารที่ให้พลังงาน ค่า pH ของอาหาร และอุณหภูมิ ก็มีผลต่อการเจริญของพืชเช่นกัน (ไพฑูริย์ กวินเลิศวัฒนา 2524 : 38 - 81) เนื่องจากผลของปัจจัยเหล่านี้จึงได้ทำการศึกษาดังปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยอบีรา ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นพื้นฐานในการเพิ่มปริมาณต้นเยอบีราพันธุ์ยุโรปที่จะปลูกในประเทศไทยต่อไป ในการศึกษาครั้งนี้จำเป็นต้องใช้ต้นเยอบีราในการทดลองจำนวนมาก กล่าวคือต้องใช้เยอบีรา 3 พันธุ์ พันธุ์ละ 285 ต้น จากการศึกษาปัญหาพิเศษของผู้วิจัยได้นำมาใช้ประโยชน์ในการเตรียมต้นสำหรับการวิจัยครั้งนี้ โดยมีวิธีการดังนี้

1. นำเมล็ดเยอบีราพันธุ์ Australian giants พันธุ์ Ramona strain mixed และพันธุ์ Van wijk ซึ่งสั่งมาจากประเทศฮอลแลนด์มาทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 - 2 นาที แล้วแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ (clorox) 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที จากนั้นนำไปแช่สารละลายคลอโรกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่เพิ่งฆ่าเชื้อแล้วโดยล้าง 3 ครั้ง แช่เมล็ดไว้ประมาณ 30 นาทีเพื่อให้คืนน้ำ

2. นำเมล็ดที่ได้จากข้อ 1 ลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรมูราชิเกะและสก็วก (Murashige and Skoog. 1962) จนเมล็ดงอก เมื่อมีใบแท้ 1 ใบจึงย้ายลงเลี้ยงในอาหารใหม่

3. ย้ายต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดโดยตัดรากและใบเลี้ยงออก แล้วนำลงเลี้ยงในอาหารสูตรมูราชิเกะและสก็วกดัดแปลง (Modified Murashige and Skoog. 1974) ที่เติม IAA ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนินในปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. จากเมล็ดที่เพาะทั้งหมดได้คัดเลือกต้นที่สามารถแตกกอให้จำนวนต้นมากที่สุดจากเมล็ดเริ่มต้นเพียงเมล็ดเดียวของแต่ละพันธุ์ แล้วเพิ่มปริมาณต้นให้มากขึ้นในอาหารสูตรมูราชิเกะและสก็วกดัดแปลง ที่เติม IAA ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนินในปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะเพิ่มจำนวนต้นได้ประมาณ 4 - 10 เท่า ในเวลา 1 เดือน ใช้เวลา 3 เดือนจะได้ต้นเพียงพอสำหรับการทดลอง (สายสมร มุขลาย 2527 : 12 - 40)

จุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมของสารเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่ IAA และไคนิติน เพื่อให้ได้จำนวนต้นมากและสมบูรณ์ที่สุด
2. เพื่อศึกษาหาปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมในสูตรอาหาร ซึ่งให้จำนวนต้นมากและสมบูรณ์ที่สุด
3. เพื่อศึกษาหาระดับ pH ของอาหาร ที่ทำให้ยอดปรางเพิ่มจำนวนต้นได้มาก และสมบูรณ์ที่สุด
4. เพื่อศึกษาถึงผลของอุณหภูมิของห้องเพาะเลี้ยงพืชต่อการเพิ่มจำนวนและความสมบูรณ์ของต้นยอดปราง

ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

1. ทราบปริมาณสารเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่ IAA และไคนิติน รวมทั้งน้ำตาลที่เติมลงในสูตรอาหารโดยจะคัดเลือกหาค่าความเข้มข้นของสาร และ pH ที่เหมาะสม ซึ่งให้จำนวนต้นมากและสมบูรณ์ เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์ยอดปรางต่อไป
2. ผลของอุณหภูมิห้องที่ควบคุมอุณหภูมิโดยเครื่องปรับอากาศ กับสภาพห้องธรรมชาติที่มีต่อการเพิ่มจำนวนต้นยอดปรางจะเป็นแนวทางในการวางแผนการวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต่อไป

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. ส่วนของพืชที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยง ได้แก่ ต้นที่ได้จากเมล็ดยอดปราง (*Gerbera jamesonii* Hort) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรมาตรฐานอีกและสฤกคักแปลง (1974) เพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้จำนวนต้นมากเพียงพอสำหรับการใช้ในการทดลอง

2. เมล็ดเยอบีราที่ใหม่ 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Australian giants (A) พันธุ์ Ramona strain mixed (R) และพันธุ์ Van wijk (Vw) แต่ละพันธุ์ได้มาจากเมล็ดเริ่มต้นเพียงหนึ่งเมล็ดเท่านั้น

3. สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ อาหารสูตรมูราซิกิและสกุคักแปลงซึ่งเติม IAA และไคนิติน เติมน้ำตาลซูโครส และปรับ pH ของอาหารในระดับต่าง ๆ กัน

4. ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยอบีรา ได้แก่ สารเร่งการเจริญเติบโต คือ IAA และไคนิติน น้ำตาลซูโครส pH ของอาหาร และอุณหภูมิของห้องเพาะเลี้ยง

เวลาที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า

เริ่มทดลองเมื่อ 1 มิถุนายน 2527

สิ้นสุดการทดลองเมื่อ 28 กุมภาพันธ์ 2528

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหมายถึงการนำชิ้นส่วนของพืช ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะของพืช เนื้อเยื่อ เซล หรือเซลล์ที่ไม่มีผนังเรียกว่าโปรโตพลาส (protoplast) มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วยเกลือแร่ธาตุ น้ำตาล ไรตามิน และฮอร์โมนพืช ในสภาพปลอดเชื้อรา แบคทีเรีย และสาหร่าย และอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมให้เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง ชิ้นส่วนของพืชเหล่านี้อาจเจริญเป็นต้นที่มีรากโดยตรง หรือเจริญเป็นแคลลัส (callus) ซึ่งกลุ่มเซลล์ส่วนใหญ่จะเป็นเซลล์พาราไคมะ (parenchyma cell) ที่ยังไม่พัฒนาเป็นต้นหรือรากหรือเจริญเป็นเอ็มบริอยด์ (embryoids) ซึ่งจะเจริญเป็นต้นและมีรากต่อไป (อรทิ สหวัชรินทร์ 2522 : 35)

ประวัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขั้นสูงนั้นได้มีการศึกษาค้นคว้ากันมานานแล้วตั้งแต่ปี ค.ศ. 1902 ฮาเบอร์แลนด์ (Haberlandt) เป็นคนแรกที่นำเอาเซลล์จากใบพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมาเลี้ยงเพื่อให้เจริญเป็นพืชต้นใหม่ได้ทั้งต้น แต่ไม่ประสบความสำเร็จ (อรทิ สหวัชรินทร์ 2522 : 35 - 43) ต่อมาในปี ค.ศ. 1904 แฮนนิ่ง (Hanning) ประสบผลสำเร็จในการเลี้ยงคัพภะของพืชตระกูลกะหล่ำ (Crucifer) จนได้น้อง ในปี ค.ศ. 1922 โคทท์และโรบินส์ (Kotte and Robbins) ได้พยายามเลี้ยงรากพืชตระกูลถั่วและข้าวหลายชนิด แต่ไม่ประสบความสำเร็จ จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1934 ไวท์ (White) สามารถเพาะเลี้ยงปลายรากมะเขือเทศให้มีการเจริญเติบโตได้อย่างไม่สิ้นสุด โดยใช้อาหารที่มีเกลือแร่ธาตุ น้ำตาลซูโครส และนำสกัดจากบีส์ ในปี ค.ศ. 1938 ไวท์ สามารถเลี้ยงรากยาสูบได้สำเร็จ (อรทิ สหวัชรินทร์ 2523 : 31 - 37) และใน

ปี ค.ศ. 1939 ไวท์ ได้นำเอาส่วนของลำต้นยาสูบตรงส่วนที่มีลักษณะเป็น tumor มาเลี้ยงจนสามารถเกิดแคลลัส ซึ่งในปีเดียวกันนี้ กัททีเรท (Gautheret) และโนเบคอร์ท (Nobecourt) พบว่าสามารถเลี้ยงหัวแครอทให้เกิดแคลลัสได้ (Thorpe. 1982 : 115 - 138) หลังจากนั้น ไวท์ กัททีเรท และโนเบคอร์ท ได้ค้นพบสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้สำเร็จจึงมีผู้พยายามพัฒนาสูตรอาหาร และเทคนิคต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาทิ โอเวอร์เบ็ค และคนอื่น ๆ (Overbeek and others. 1941) แคปลินและสจวค (Caplin and Steward. 1948) ดูฮาเมท (Duhamet. 1949) โมเรลและเวทมอร์ (Morel and Wetmore. 1951) สูตรอาหารเหล่านี้มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป (White. 1953 : 517 - 524) และในปี 1953 มิลเลอร์และสคูก (Miller and Skoog) ได้เพาะเลี้ยงส่วนกลางของลำต้น (pith) ยาสูบ โดยเติมโคไนติน พบว่าเกิดการสร้างต้นขึ้นได้ (Miller and Skoog. 1935 : 768 - 773, Miller and Skoog. 1957 : 118 - 131) จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1962 มูราชิเกะและสคูก (Murashige and Skoog) ได้ศึกษาถึงองค์ประกอบของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อจากใจกลางลำต้นยาสูบ เพื่อให้มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (Murashige and Skoog. 1962 : 473 - 497)

จากเทคนิคเบื้องต้นต่าง ๆ เหล่านี้ได้รับการพัฒนามาจนถึงปัจจุบันจะเห็นว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีประโยชน์หลายด้าน ทำให้นักวิทยาศาสตร์ศึกษาพืชได้อย่างลึกซึ้ง ทั้งด้านสรีระ ภายนอก พฤติกรรมของพืช และยังใช้ประโยชน์ในเชิงการค้าได้อย่างกว้างขวาง เช่น การขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ดีให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น สามารถผลิตต้นพันธุ์ได้ปีละหลายล้านต้น ในสหรัฐอเมริกาและยุโรปได้ใช้เทคนิคนี้เพื่อผลิตต้นพันธุ์ที่จะใช้เป็นต้นให้กิ่งปักชำ เพื่อให้ได้พืชที่ปราศจากโรคโดยเฉพาะเชื้อไวรัส พืชที่ได้จะแข็งแรงสมบูรณ์ ให้ผลผลิตสูง และมีคุณภาพดี พืชที่นำมาทำ เช่น เบญจมาศคาร์เนชั่น และเยอราเนียม รวมถึงไม้ดอกไม้ประดับอื่น ๆ ผลไม้ ผัก พืชไร่ และพืชในวงการป่าไม้ (ไพฑูรย์ กวินเลิศวัฒนา 2524 : 1 - 3)

สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ประสบผลสำเร็จนั้น มีปัจจัยสำคัญ 2 ประการคือ

1. การเพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่เหมาะสม
2. สภาพแวดล้อมต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง

โคมีผู้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความเหมาะสมของอาหารที่ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไว้เป็นจำนวนมาก มูราชิเกได้นำองค์ประกอบของอาหารออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

1. สารประกอบอนินทรีย์ (inorganic compound)
2. สารประกอบอินทรีย์ (organic compound)
3. สารที่ได้รับจากธรรมชาติ (natural complex) ซึ่งมีหลายชนิด ที่ใช้กันมาก

โคแก่ นำมะพร้าว 2 - 15 เปอร์เซ็นต์ (Murashige. 1974 : 175 - 180)

ในปี ค.ศ. 1965 เอิร์ลและทอร์เรย์ (Earle and Torrey) ได้ศึกษาเกี่ยวกับสารอินทรีย์ในสูตรอาหาร พบว่าที่ใช้กันในระยะเริ่มแรกเป็นสูตรของไวท์ (White. 1943) และเฮลเลอร์ (Heller. 1953) ซึ่งสูตรของไวท์นั้นใช้กันทั่ว ๆ ไป ส่วนสูตรของเฮลเลอร์ใช้กันมากในยุโรป ในช่วงหลังจากปี ค.ศ. 1960 มีการทดลองจำนวนมากที่ใช้สูตรอาหารของมูราชิเกและสกุค (1962) หรือสูตรอื่น ๆ ที่มูราชิเกและสกุคได้ดัดแปลงให้เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด นอกจากนี้ยังมีสูตรอาหารอื่น ๆ ที่นิยมใช้กันอีก เช่น สูตรอาหารของเอริกสัน (Erikson. 1965)

สูตร B₅ ของแกมบอร์ก และคนอื่น ๆ (Gamborg and others. 1968) และสูตรของเชนคและฮิลเดบรันท์ (Schenk and Hilderbrandt. 1972) ส่วนสารอินทรีย์นั้นแบ่งออกได้เป็นหลายกลุ่ม ได้แก่ สารที่ให้พลังงาน เช่น ซูโครส ซึ่งมักจะใช้ในปริมาณ 2 - 4 เปอร์เซ็นต์ และสามารถไฮโดรไลส (glucose) แพนโค ส่วนวิตามินที่เติมลงไปจะมีส่วนช่วยในการเจริญของแคลลัสและการเจริญพัฒนาของพืชให้ได้น้ำที่สมบูรณ์ ที่มักนำมาใช้ ได้แก่ ไธอามีน (thiamine) ส่วนนิโคตินิกแอซิด (nicotinic acid) และอินซิทอล (inositol) ที่เติมลงไปจะช่วยให้น้ำเลี้ยงของพืชหลายชนิดมีการเจริญพัฒนาไปเป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารที่เป็นแหล่งของไนโตรเจน โคแก่

เคซีนไฮโดรไลเสต (casein hydrolysate) กลูตาเมต (glutamate) แอสพาราจีน (asparagine) ไทโรซีน (tyrosine) และอะดีนีน (adenine) เป็นต้น ฮอร์โมนก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ออกซิน และไซโตไคนิน ซึ่งในการใช้นั้นต้องคำนึงถึงความเข้มข้นและอัตราส่วนที่เหมาะสม ฮอร์โมนเหล่านี้ได้จากทั้งที่เกิดในธรรมชาติและเป็นสารประเภทที่สังเคราะห์ขึ้น ออกซินที่ใช้เสมอ ๆ ได้แก่ 2, 4 - D (2, 4 - dichlorophenoxy acetic acid), IAA (indoleacetic acid), NAA (naphthalene acetic acid) และ IBA (indolebutyric acid) ส่วนไซโตไคนินที่ใช้กันมาก ได้แก่ ไคนิติน (kinetin = 6 - furfurylamino purine), BA (6 - benzylamino purine) ไซโตไคนินที่นำมาใช้กันบ่อยได้แก่ isopentenyl adenine และ Zeatin [6 - (4 - hydroxy - 5 - methyl - 2 - butenylamino) purine] ฮอร์โมนหลายชนิดเมื่อใส่ลงไปในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วจะทำงานร่วมกันในการสร้างอวัยวะต่าง ๆ ในระยะแรก ๆ ไคนิตินและไซโตไคนินในอัตราส่วนที่พอเหมาะ เพื่อสร้างต้นและรากของพืชหลายชนิด ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ของพืชชนิดต่าง ๆ จะสร้างต้นได้โดยไซโคไคนิติน หรือ BA ในปริมาณ 0.05 - 46 μM ส่วนออกซิน เช่น IAA หรือ NAA ใช้ในปริมาณ 0.06 - 27 μM (Evans, Sharp and Flick, 1982 : 45 - 113)

สภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อ (culture environment) นั้น มีหลายปัจจัย ได้แก่ สภาพของอาหาร เช่น อาหารเหลว อาหารกึ่งเหลว และอาหารแข็ง ค่า pH ของอาหาร ความชื้น แสง อุณหภูมิ

ค่า pH ของอาหารที่ทำให้พืชแต่ละชนิดมีการเจริญเติบโตและสร้างอวัยวะต่าง ๆ ได้ดีที่สุดนั้นมักจะไม่มีผู้ศึกษาไว้โดยเฉพาะ แต่โดยทั่ว ๆ ไปจะอยู่ในช่วง 5.0 - 6.5 และค่า pH นี้จะเปลี่ยนแปลงไประหว่างเพาะเลี้ยง (Street, 1969 : 3 - 224) การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงจะเปลี่ยนไปน้อย เพราะอาหารมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ (buffer)

นอกจากนั้น pH ของอาหาร ยังมีผลต่อความสามารถในการใช้แอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) เพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเซลล์จะต้องปรับค่า pH ของอาหารให้เกินกว่า 5.0 (Martin, Rose and Hui. 1977 : 2838 - 2843; Dougall and Verna. 1978 : 180 - 182)

ในเรื่องความสำคัญของอุณหภูมินั้นผู้ศึกษาไว้ไม่มากนัก โดยทั่ว ๆ ไปแล้วเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงจะเก็บไว้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิระหว่าง 20 - 30 องศาเซลเซียส และโดยปกติอุณหภูมิของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประมาณ 23 - 27 องศาเซลเซียส (ไพบุลย์ กวินเลิศวัฒนา 2524 : 4 - 9)

นอกจากปัจจัยต่าง ๆ ดังกล่าวมาแล้วยังมีอีกปัจจัยหนึ่งซึ่งมีลักษณะเฉพาะในพืชแต่ละชนิด อันเป็นปัจจัยภายใน (endogenous factor) ได้แก่

1. ลักษณะทางพันธุกรรม (genetic factor) พืชบางชนิดเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ง่าย บางชนิดเจริญยาก หรือมีท่อนการเจริญต่างกัน

2. ระดับของสารควบคุมการเจริญเติบโตในพืช (endogenous hormone)

จากปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้จะเห็นว่าปัจจัยบางอย่างควบคุมได้ แต่ปัจจัยบางอย่างไม่สามารถควบคุมได้ เช่น ปัจจัยภายในซึ่งควบคุมไม่ได้แต่สามารถที่จะแก้ไขโดยการเลือกชิ้นส่วนของพืชให้เหมาะสม เพื่อให้เป็นไปตามจุดประสงค์ของการทดลอง (ไพบุลย์ กวินเลิศวัฒนา 2524 : 76 - 79) ส่วนปัจจัยภายนอกนั้นเป็นสิ่งที่สามารถควบคุมได้ จึงมีผู้ศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้กันอย่างกว้างขวาง เพื่อให้เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้จำนวนมาก ในระยะเวลาอันสั้น ในปี ค.ศ. 1974 และ 1978 มูราซึกิ พบว่ามีพืชหลายชนิดที่สามารถขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากปลายยอด และ ตาข้าง ในปี ค.ศ. 1978 โอเกลสบี (Oglesby) ได้ขยายพันธุ์ไม้ประดับโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเป็นการค้า ได้แก่ ดอกไม้จีน (Hemerocallis) เดหลี (Spathiphyllum) และวาสนา (Dracaena) ในปี ค.ศ. 1976 ไฮน์ซ์ (Heinz) ได้ทดลองผลิตต้นอออยกว่า 4,000 clones เพื่อหาต้นที่ต้านทานโรค ในปี ค.ศ. 1980 เชอปราร์ด และ

คนอื่น ๆ (Shepard and others) ผลิตต้นพันธุ์กว่า 10,000 clones จากโปรโตพลาส เพื่อหาต้นที่ทนทานโรคเช่นกัน (Evans and William. 1982 : 210 citing Murashige.

1974 : 135 - 166; Murashige. 1978 : 15 - 26; Oglesby. 1978 : 59 - 61;

Heinz. 1976 : 9 - 11; Shepard and others. 1980 : 17 - 24) การที่จะเพิ่มปริมาณพืชแต่ละชนิดให้ได้จำนวนมากตามที่ต้องการจึงต้องหาวิธีการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม ซึ่งก็ได้มีผู้พยายามศึกษาถึงวิธีการในการเพิ่มจำนวนพืชแต่ละชนิดในสภาพต่าง ๆ ดังนี้

ในปี ค.ศ. 1971 ฟรีดเบิร์ก (Fridborg) ได้นำส่วนหัวของกระเทียม (*Allium cepa* var. *proliferum*) มาเลี้ยงเพื่อให้เกิดแคลลัสโดยเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลว สูตร B₅ ซึ่งเติม 2,4 - D ในปริมาณ 5×10^{-6} โมล ถ้าเป็นอาหารแข็งเติมวุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ และขยายแคลลัสภายใน 4 - 6 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าเมื่อไม่เติม 2,4 - D พืชสามารถที่จะออกรากได้ เมื่อเติม NAA ในปริมาณ 5×10^{-6} โมล ออกรากได้ดียิ่งขึ้นภายใน 1 สัปดาห์เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว และพบว่าไซโตไคนินมีส่วนช่วยกระตุ้นให้พืชสร้างตาซึ่งต่อไปจะเจริญเป็นต้น การใช้ NAA หรือ IAA ร่วมกับไซโตไคนินจะมีผลไปกระตุ้นการเจริญของต้นและรากได้มากกว่าการใช้สารนี้เพียงตัวหนึ่งตามลำพัง และยังพบว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันน้ำหนักสดจะเพิ่มขึ้นจาก 10 เท่า เป็น 20 เท่า ภายใน 5 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารแข็ง และภายใน 3 สัปดาห์เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงผลของอุณหภูมิเมื่อเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าที่อุณหภูมิ 27.5 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีที่สุด และสภาพของแสงที่ได้ออกในการเพาะเลี้ยงนั้นพบว่าอยู่ในที่มืดหรือแสงสีแดงเจริญได้ดีกว่าเมื่อเลี้ยงในที่มืดแสงสีขาวหรือสีน้ำเงิน สำหรับผลของน้ำคาลันพบว่าใช้สูตร 2 เปอร์เซ็นต์ทำให้ได้ต้นแห้งเพิ่มขึ้นไ้มากที่สุด และได้ทดลองใช้กลูโคสเป็นแหล่งของการหมักพบว่าผลที่ได้นั้นเท่า ๆ กับการใช้ซูโครส ค่า pH ของอาหาร ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตคือ 5.5 ก่อนนำมาใช้ และ 5.2 หลังนำมาใช้แล้ว (Fridborg. 1971 : 436 - 440)

ในปี ค.ศ. 1974 ฟอนเนสเบช (Fomesbech) ศึกษาผลของ NAA และ BA โดยใช้ ส่วนของก้านใบบีโกเนีย (*Begonia cheimanta*) เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรคักแปลงของไวท์ที่ อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาถึงการเกิดยอดและราก สูตรอาหารที่เหมาะสมคือสูตรอาหาร คักแปลงของไวท์ที่เติม NAA ในปริมาณ 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ในปริมาณ 0.5 - 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อใช้ความเข้มข้นต่ำ ๆ จะไม่เกิดยอดใหม่ แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นสูงจะเกิดยอดมาก ซึ่งลักษณะของยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีใบผิดปกติ การใช้ NAA ความเข้มข้นต่ำพืชจะมีอัตราการออกรากต่ำ กว่าและไม่มีราก เมื่อใช้ NAA ความเข้มข้นสูงจะมีรากจำนวนมากมีลักษณะอวบสั้น อุณหภูมิก็มีความ สำคัญในการกระตุ้นให้เกิดยอด โดยเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิต่ำช่วง 15 - 20 องศาเซลเซียส จะเกิดยอดใหม่ได้มากกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงที่ 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิหลังการ

ที่ฟอกมาเชื้อแล้ว นำลงเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรมูราซิกิและสกุทซึ่งเติมโคไนตินในปริมาณ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ในปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นจึงนำแคลลัสที่ได้เลี้ยงในอาหารเหลวเพื่อเพิ่มแคลลัสที่ได้อย่างรวดเร็ว และเมื่อนำแคลลัสที่ได้เลี้ยงในอาหารแข็งที่มี GA (gibberellic acid) ในปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จะโค่นที่ยังไม่มีราก ต้นพืชเหล่านี้จะออกรากโดยเลี้ยงในอาหารแข็งที่ไม่เติมสารเร่งการเจริญเติบโตหรือเติม NAA ในปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็จะได้พืชที่พร้อมจะนำปลูกลงดิน ในปี ค.ศ. 1974 เอิร์ลและแลงฮันส์ พบว่าจะเก็บรักษาแคลลัสไว้ได้เป็นเวลา 6 เดือน ในอาหารแข็งซึ่งเติมโคไนตินในปริมาณ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ในปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 4.5 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 600 ลักซ์ เมื่อนำแคลลัสเหล่านี้ไปเลี้ยงในอาหารเหลวก็สามารถที่จะเพิ่มปริมาณได้มากขึ้น ถ้าย้ายแคลลัสที่ได้เลี้ยงในอาหารแข็งก็จะโค่นพืช (Jaacov and Langhans. 1972 : 289 - 290; Earle and Langhans. 1974a : 128 - 132; Earle and Langhans. 1974b : 352 - 358)

ในปี ค.ศ. 1973 โรสต์และโบเคิลแมนน์ (Roest and Bokelmann) เพาะเลี้ยงฐานรองดอก (capitulum) ของไฟรีทรัม และพืชในวงศ์ Compositae ชนิดอื่น ๆ โดยคัดฐานรองดอกที่ยังอ่อนอยู่และแบ่งตามความยาวของก้านดอกออกเป็นสองส่วน ฟอกมาเชื้อด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ (Calcium hypochlorite) 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาทีแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฟอกมาเชื้อแล้ว นำส่วนของพืชที่ฟอกแล้วลงเลี้ยงในอาหารแข็ง ซึ่งประกอบด้วย Knop's macro-nutrient และ Heller's micronutrient โดยลดความเข้มข้นของสารลงครึ่งหนึ่ง เติมซูโครส 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ BAP (6 - benzylamino purine) ในปริมาณ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้แสงสว่างด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ Philips TL MF 140 W/33RS ช่วงแสงสว่าง 14 ชั่วโมง อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส และมี 10 ชั่วโมง อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส (Roest and Bokelmann. 1973 : 120 - 122)

ในปี ค.ศ. 1974 อรที อินทวงศ์ (Intuwong) ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ ฟาแลนนอปซิส (Phalaenopsis) โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนตาของก้านช่อดอก ฟอกฆ่าเชื้อแล้วนำลงเลี้ยงในอาหารสูตรวาชินและเวนท (Vacin and Went) เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าตาที่นำมาเพาะเลี้ยง 1 ตาจะเกิดต้นได้ 1 - 4 ต้น และได้เลี้ยง ใบ ลำต้น ราก ในสูตรอาหารต่าง ๆ เพื่อผลิตต้นให้ได้จำนวนมาก โดยเลี้ยงลำต้นและใบในสูตรอาหาร วาชินและเวนท เติมน้ำมะพร้าว 50 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่เติมชูโครส ได้ต้นใหม่จำนวนมาก ถ้าเลี้ยงลำต้นและรากในอาหารสูตรวาชินและเวนท เติม 2, 4 - D ในปริมาณ 1 ppm เกิด tumor เมื่อนำ tumor ไปเลี้ยงต่อในอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติม 2, 4 - D และ ชูโครส ได้โปรโตคอร์ม (protocorm) และต้นใหม่เกิดขึ้นบน tumor เมื่อนำปลายยอดมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรวาชินและเวนท เป็นเวลา 1 เดือน และในเดือนต่อมาย้ายลงเลี้ยงในอาหารแข็ง พบว่ามีการสร้าง โปรโตคอร์ม จากการเพิ่มโปรโตคอร์ม จึงเป็นแนวทางในการผลิตต้นใหม่ได้เป็นจำนวนมาก เมื่อไม่เติมชูโครสลงในอาหารพบว่าทำให้มีโปรโตคอร์มเพิ่มมากขึ้นและโปรโตคอร์มจะเจริญพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ได้ หลังจากที่ได้ต้นแล้วจึงเติมชูโครสลงในอาหารอีกครั้งหนึ่ง เพื่อให้ต้นใหม่ที่ได้เจริญเป็นต้นอย่างสมบูรณ์ (Intuwong. 1974 : 58 - 74)

ในปี ค.ศ. 1976 เมเยอร์ (Meyer) ศึกษาการเพิ่มปริมาณดอกไม้จีน (*Hemerocallis* sp.) ที่มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด (4n) จากส่วนของช่อดอก พบว่าเจริญได้ดีในที่ที่คบนอาหารสูตรมูราซิกและสกุคักต์แปลงโดยการเติม NAA ในปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคไนตินในปริมาณ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กระตุ้นให้เจริญเป็นต้นโดยย้ายลงในอาหารสูตรเดิม ซึ่งเติม NAA ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคไนตินในปริมาณ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเลี้ยงในที่ที่แสงสว่างภายใต้อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำตาที่ทาให้แคลลัสเจริญคืออยู่ในช่วง 30 - 60 กรัมต่อลิตร การเพิ่มความเข้มข้นของโคไนตินไม่ทำให้จำนวนต้นเพิ่มขึ้น เช่นเมื่อใช้โคไนตินในปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเกิดยอดน้อยและไม่เกิดราก เมื่อเพิ่มโคไนติน

ไม่มีการสร้างยอดใหม่เลย (Meyer. 1976 : 405 - 407)

ในปี ค.ศ. 1973 ไพริก สตีกแมนส์ และ มาร์ลิส (Pierik, Steegmans and Marelis) ใช้ส่วนของฐานรองดอกของเขือปรางสีแดง (*Gerbera jamesonii* hybrid) ตัดให้มีก้านยาว 2.5 เซนติเมตร จากดอกที่บานเต็มที่ ใช้ปากคีบดึงดอกย่อยออกให้หมดแล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อ จากนั้นต้องแบ่งฐานรองดอกออกเป็น 4 ชิ้น โดยแต่ละชิ้นมีก้านติดไปด้วย ยาว 2 เซนติเมตร นำลงเลี้ยงในอาหารสูตรเซลล์เลอร์ เพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส แล้วย้ายไปไว้ในที่มีแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ TL40W/55 ตลอดเวลา อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าได้แคลลัสโดยไม่มีการพัฒนาเป็นต้นใหม่เลย ต่อมาจึงได้เติม IAA และ SD 8339 [6 - benzyllamino - 9 - (tetrahydro - 2 - pyryl) purine] ปรากฏว่าเกิดยอดใหม่ 1 - 2 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วนที่เลี้ยง ต้นใหม่ที่ได้นี้เกิดจากตาข้างที่อัดตัวกันแน่นในระหว่างดอกย่อย ก่อนย้ายปลูกลงดินทำการกระตุ้นให้เกิดราก โดยย้ายลงเลี้ยงในอาหารที่มี IAA ในปริมาณ 10^{-6} กรัมต่อลิตร จะเกิดรากภายใน 3 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังพบว่าการเลี้ยงส่วนของฐานรองดอกที่ไม่มีก้านดอกก็คือนอกจะเกิดยอดได้ยาก การให้แสงในระยะแรก ๆ จะทำให้ชิ้นส่วนเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล (Pierik, Steegmans and Marelis. 1973 : 117 - 119)

ในปี ค.ศ. 1974 มูราชิเกะ เซร์ปา และ โจนส์ (Murashige, Serpa and Jones) ได้ทดลองเลี้ยงปลายยอดของเขือปราง ในอาหารสูตรมูราชิเกะและสฤกคักแปลงโดยการเติม IAA ในปริมาณ 0.5 ppm และไคนินในปริมาณ 10 ppm ได้รับแสงจากหลอด Gro Lux ซึ่งมีความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ วันละ 10 ชั่วโมง พบว่าต้นแรกที่เกิดขึ้นได้จากตาข้างที่อยู่บริเวณปลายยอดที่นำมาเพาะเลี้ยง ส่วนต้นใหม่ที่ได้นี้ในระยะหลังได้จากการแตกหน่อของต้นที่ได้ในระยะแรก จำนวนต้นใหม่จะเพิ่มอย่างรวดเร็วในระหว่าง 2 - 9 สัปดาห์ ภายหลังจากที่เลี้ยงไว้ 4 สัปดาห์ ต้นใหม่จะเพิ่มขึ้นเป็น 8 เท่า เมื่อครบ 8 สัปดาห์ เพิ่มขึ้นเป็น 12 เท่า ระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมคือ 4 สัปดาห์ ต้นใหม่ที่ได้นี้จะยังไม่มีราก จากการทดลองนี้

สามารถนำไปผลิตหน่อเยอปีราเพื่อทำการค้า โดยใช้ปลายยอดเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนได้เป็นล้านเท่าในเวลาหนึ่งปี

ในปี ค.ศ. 1975 ไพริก และคนอื่น ๆ (Pierik and others) ได้นำส่วนฐานรองดอกเยอปีราเลี้ยงในอาหารที่มีส่วนประกอบดังนี้

Murashige and Skoog macroelement	1/2 เท่า
Heller's microelement	(ยกเว้น FeCl_3)
NaFe EDTA	25 มิลลิกรัมต่อลิตร
Saccharose	1 เปอร์เซ็นต์
BA	10 มิลลิกรัมต่อลิตร
IAA	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Difco-bacto agar	0.8 เปอร์เซ็นต์

เมื่อเลี้ยงได้นานประมาณ 8 สัปดาห์ จะได้ต้นใหม่ 1 - 2 ต้น ต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น 1 ชิ้น เมื่อถึงสัปดาห์ที่ 12 จะได้ต้นใหม่เกิดขึ้น 12 - 16 ต้น จากการแตกหน่อของต้นที่ได้ในสัปดาห์ที่ 8 นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าใช้ดอกตูมจะได้จำนวนต้นใหม่ต่อดอกน้อยกว่าการใช้ดอกบาน (Pierik and others. 1975 : 315 - 357)

ในปี พ.ศ. 2519 อุดมพงษ์ แสงวนิช ได้ทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของเยอปีรา ตั้งแต่ช่อดอก ก้านช่อดอก ฐานรองดอก ยอด ต้น ราก โดยศึกษาวิธีฟอกฆ่าเชื้อหลายวิธี พบว่าการฟอกที่ได้ผลดีคือ การแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 นาที จากนั้นย้ายไปแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เครื่องอัลตราโซนิค (Ultrasonic) นาน 5 นาที แล้วแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 7 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฟุ้งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง เมื่อได้เนื้อเยื่อที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วจึงนำลงเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ได้แก่

สูตร เฮลเลอร์ (Heller) วาซินและเวนท (Vacin and Went) มูราซิกิและสกุท (Murashige and Skoog) และไวท์ (White) พบว่าเมื่อนำก้านช่อดอกมาเลี้ยงในอาหารสูตรวาซินและเวนท เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด และเมื่อนำแคลลัสจากส่วนก้านช่อดอกไปเลี้ยงบนอาหารแข็งอีก 2 สูตร คือ สูตรวาซินและเวนทที่เติมไคนีนในปริมาณ 10 ppm และสูตรมูราซิกิและสกุทที่เติม IAA ในปริมาณ 0.2 ppm และไคนีนในปริมาณ 10 ppm เพื่อที่จะให้เจริญเป็นยอดต่อไป ปรากฏว่าอาหารสูตรวาซินและเวนทที่เติมไคนีนในปริมาณ 10 ppm ทำให้แคลลัสมีปริมาณเพิ่มขึ้นพร้อมกับมีสีเขียวเกิดขึ้น ซึ่งดีกว่าอาหารสูตรมูราซิกิและสกุท แต่ไม่สามารถทำให้แคลลัสเจริญพัฒนาเป็นต้นได้ (อุบลพงษ์ แสงวณิช 2519 : 1 - 66)

ในปี ค.ศ. 1962 ไพริก และคนอื่น ๆ (Pierik and others) ทดลองเลี้ยงฐานรองดอกของเยอบีรา 28 ชนิด โดยเลี้ยงในอาหารสูตรมูราซิกิและสกุทที่เติม BA ในปริมาณต่าง ๆ กันดังนี้คือ 5 10 และ 20 ppm พบว่าอาหารที่เติม BA ในปริมาณ 10 ppm ทำให้เกิดต้นได้ดีที่สุดคือ 1 - 2 ยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น 1 ชิ้น และสามารถกระตุ้นให้ยอดหรือต้นแตกตาข้างโดยการเติม IAA ในปริมาณ 0.5 ppm และไคนีนในปริมาณ 10 ppm ในอาหารสูตรมูราซิกิและสกุทดัดแปลง (Pierik and others. 1982 : 314 - 346)

ในปี ค.ศ. 1983 ชูว์และหวาง (Chu and Huang) เลี้ยงก้านช่อดอกเยอบีรา (Gerbera hybrida Hort.) ในอาหารสูตรมูราซิกิและสกุท (1962) โดยใช้ macroelement ลดลงจากสูตรเดิมครึ่งหนึ่ง แล้วเติม IAA ในปริมาณ 0.1 ppm และ BA ในปริมาณ 10 ppm พบว่าทำให้เกิดต้นได้ดี ถ้าต้องการให้เกิดรากได้โดยนำต้นที่ได้มาเลี้ยงในอาหารสูตรมูราซิกิและสกุท (1962) ที่เติม IAA ในปริมาณ 5 ppm (Chu and Huang. 1983 : 45 - 50)

วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า

อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า

1. พืชทดลอง ได้แก่ต้นที่ได้จากเมล็ดเยอบีรา (Gerbera jamesonii Hort.)
ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรมูราซิกิและสกุคัคแปลง (ตาราง 1) ที่เติม IAA ในปริมาณ 0.5
มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนิตินในปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้เยอบีรา 3 พันธุ์ คือ

พันธุ์ Australian giants (A)

พันธุ์ Ramona strain mixed (R)

พันธุ์ Van wijk (Vw)

2. เครื่องแก้ว ได้แก่ขวดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร ปีเปตต์ บีกเกอร์
กระบอกล้างจานแก้ว (petri dish)

3. สารเคมีต่าง ๆ

3.1 สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารสูตรมูราซิกิและสกุคัคแปลง (อรดี สหวัชรินทร์
2526 : 19)

3.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่

3.2.1 IAA (indole - 3 - acetic acid)

3.2.2 ไคนิติน (6 - furfurylaminopurine = kinetin)

3.3 น้ำตาลซูโครส

3.4 วุ้น

3.5 น้ำกลั่น

4. เครื่องชั่งแบบละเอียด เครื่องวัด pH ตะเกียงแอลกอฮอล์ และหม้อนึ่ง
ฆ่าเชื้อโดยใช้ความดัน (Autoclave)

5. เครื่องมือฆ่าเชื้อ ไคแก มีดฆ่าเชื้อ ปากคีบ
6. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วน ไคแก ทุบล็อคเชื้อ (bioclean) ซึ่งติดหลอดแสงอุลตราไวโอเลตและหลอดแสงสว่างฟลูออเรสเซนต์อยู่ภายใน
7. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อติดเครื่องปรับอากาศ ความจุอุณหภูมิที่ 25 - 27 องศาเซลเซียส มีชั้นวางขวดที่แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ 40 วัตต์ ความเข้มของแสง 1,000 ลักซ์ ช่วงแสงตลอดวัน
8. กล้องถ่ายภาพ

สถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีทดลอง

1. การศึกษาค้นคว้าของสารเร่งการเจริญเติบโต ไคแก IAA และ ไคนิติน ซึ่งเติมลงในอาหารสูตรมาตรฐานและสภาวะการปลูก โดยศึกษาร่วมระหว่างสารทั้งสองชนิดที่มีต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยอบีราทั้ง 3 พันธุ์ โดยมีวิธีการดังนี้

1.1 เตรียมอาหารสูตรมาตรฐานและสภาวะการปลูก (ตาราง 1)

1.2 เติม IAA และไคนิตินในอาหารสูตรมาตรฐานและสภาวะการปลูก โดยมีค่าความเข้มข้นของ IAA เป็น 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนิตินความเข้มข้น 0 2 4 6 8 10 และ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 35 สูตร (ตาราง 2)

1.3 ปรับ pH ของอาหารแต่ละสูตรด้วย 1N NaOH หรือ 1N HCl ให้มีค่า pH 5.6

ตาราง 1 แสดงองค์ประกอบและปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตรมาตรฐานและถูกดัดแปลง

ชื่อสารเคมี	สูตร	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร 1 ลิตร (มิลลิกรัม)
แอมโมเนียมไนเตรท	NH_4NO_3	1,650
โพแทสเซียมไนเตรท	KNO_3	1,900
แคลเซียมคลอไรด์	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	332
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	KH_2PO_4	170
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	85
บอริกแอซิด	H_3BO_3	6.20
แมงกานีสซัลเฟต	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	16.90
ซิงค์ซัลเฟต	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60
โพแทสเซียมไอโอไดด์	KI	0.83
โซเดียมโมลิบเดต	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
คอปเปอร์ซัลเฟต	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.016
โคบอลต์คลอไรด์	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
แมกนีเซียมซัลเฟต	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	118
โซเดียมเฟอรัส เอพทิสีนไดอะมีน - เตตราอะซีเตต	NaFe EDTA	36.70
อินโนซิทอล	Inositol	100
ไพริดอกซินไฮโดรคลอไรด์	Pyridoxine.HCl	10
ไทอะมีนไฮโดรคลอไรด์	Thiamine.HCl	30

160407

ชื่อสารเคมี	สูตร	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร 1 ลิตร (มิลลิกรัม)
นิโคตินิกแอซิด	Nicotinic acid	10
อดีนีนซัลเฟต	Adenine SO ₄ 2H ₂ O	80
แอล ไทโรซีน	L - tyrosine	100
ซูโครส	Sucrose	45,000
วุ้น	Agar	0.8 %

จาก อรดี สหวัชรินทร์ 2526 : 19

ตาราง 2 แสดงปริมาณของ IAA และไคนิติน ที่เติมลงในอาหารสูตรมูราชิเกะและสกออค์เปลี่ยนแปลง
(Modified Murashige and Skoog. 1974)

kinetin IAA (mg/l) (mg/l)	0	2	4	6	8	10	12
0	0:0	0:2	0:4	0:6	0:8	0:10	0:12
0.25	0.25:0	0.25:2	0.25:4	0.25:6	0.25:8	0.25:10	0.25:12
0.5	0.5:0	0.5:2	0.5:4	0.5:6	0.5:8	0.5:10	0.5:12
0.75	0.75:0	0.75:2	0.75:4	0.75:6	0.75:8	0.75:10	0.75:12
1	1:0	1:2	1:4	1:6	1:8	1:10	1:12

1.4 ทำเป็นอาหารแข็งโดยเติมวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ คัมให้ละลาย

1.5 บรรจุอาหารประมาณ 15 มิลลิลิตรลงในขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปิดฝาให้สนิท

1.6 นำไปฝังฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์

ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

1.7 นำต้นเยื่อปรีราที่ได้เพาะเลี้ยงไว้เพื่อเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นของการทดลองมา
ตัดแบ่งเป็นต้นๆ แล้วตัดต้นที่มีขนาดเท่ากันซึ่งมีใบ 2 - 3 ใบ เลี้ยงบนอาหารที่มี IAA และไคนิติน
ปริมาณต่างๆกันทั้ง 35 สูตร ทำการทดลองสูตรละ 5 ขวด เป็นเวลา 2 เดือน โดยเมื่อครบ
1 เดือนจึงย้ายต้นเยื่อปรีราลงในอาหารชุดใหม่สูตรเดิม โดยไม่มีการตัดแบ่ง

1.8 เก็บผลการทดลองโดยวิธีบันทึกการเปลี่ยนแปลงและนับจำนวนต้นที่ได้ใน
เดือนที่ 2

2. ศึกษา pH ของอาหาร ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยื่อปรีราทั้ง 3 พันธุ์ โดยมี
วิธีการดังนี้

2.1 เตรียมอาหารสูตรมาตรฐานและถูกดัดแปลง โดยคัดเลือกสูตรอาหารจาก
การทดลองที่ 1 ที่เสริมสารเร่งการเจริญเติบโตในปริมาณพอเหมาะ ซึ่งให้ต้นเยื่อปรีราจำนวนมาก
และแข็งแรงสมบูรณ์ดี

2.2 นำอาหารไปปรับ pH ด้วย 1 N NaOH หรือ 1 N HCl ในระดับ
ต่างๆกัน ดังนี้ pH 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 และ 7.0

2.3 ทำเป็นอาหารแข็งโดยเติมวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ คัมให้ละลาย

2.4 บรรจุอาหารประมาณ 15 มิลลิลิตรลงในขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปิดฝาให้สนิท

2.5 นำไปฝังฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์

ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

2.6 นำต้นเยื่อปรีราที่มีใบ 2 - 3 ใบ เลี้ยงบนอาหารที่มีค่า pH ต่างๆกันทั้ง
7 ค่า ทำการทดลองค่า pH ละ 5 ขวด เป็นเวลา 2 เดือน โดยเมื่อครบ 1 เดือนจึงย้าย
ต้นเยื่อปรีราลงในอาหารชุดใหม่สูตรเดิมโดยไม่มีการตัดแบ่ง

2.7 เก็บผลการทดลองโดยวิธีบันทึกการเปลี่ยนแปลงและนับจำนวนต้นที่ได้ใน
เดือนที่ 2

3. การศึกษานวลของปริมาณน้ำตาลในระกบต่างๆที่เติมลงในอาหาร ซึ่งมีผลต่อการเพิ่ม
ปริมาณต้นเขยปีราทั้ง 3 พันธุ์ โดยมีวิธีการดังนี้

3.1 ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1

3.2 เติมน้ำตาลลงในอาหารในระกบความเข้มข้นต่างๆกันดังต่อไปนี้ 0 0.5
1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 และ 5.5 เปอร์เซ็นต์

3.3 ปรับ pH ของอาหารแต่ละสูตรด้วย 1 N NaOH หรือ 1 N HCl ให้มีค่า
pH 5.6

3.4 ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3 - 2.7

4. การศึกษานวลของอุณหภูมิที่มีต่อการเพิ่มปริมาณต้นเขยปีรา โดยมีวิธีการดังนี้

4.1 ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1

4.2 ปรับ pH ของอาหารแต่ละสูตรด้วย 1 N NaOH หรือ 1 N HCl ให้มีค่า
pH 5.6

4.3 ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3 - 2.5

4.4 ตักต้นเขยปีราที่มีใบ 2 - 3 ใบ เลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ ภายใต้
สภาพห้องเพาะเลี้ยงดังต่อไปนี้

4.4.1 เก็บไว้ในสภาพห้องทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่องปรับอากาศ
อุณหภูมิห้อง 23 - 27 องศาเซลเซียส ขวดเพาะเลี้ยงได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์
ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ตลอดวัน

4.4.2 เก็บไว้ในสภาพห้องอุณหภูมิปกติ โดยบันทึกอุณหภูมิเวลา 7.00 น.
12.00 น. และ 18.00 น. ทุกวันแล้วนำค่าอุณหภูมิที่ได้นี้มาหาค่าเฉลี่ย ขวดเพาะเลี้ยงได้รับแสง
จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ตลอดวัน

4.4.3 เก็บไว้ในสภาพที่ ได้รับแสงตามธรรมชาติ ความเข้มแสง

15,000 ลักซ์ พรางแสงด้วยหลังคาพลาสติกลดความเข้มของแสงลงเป็น 3,000 ลักซ์ บันทึกอุณหภูมิเวลา 7.00 น. 12.00 น. และ 18.00 น. ทุกวันแล้วนำค่าอุณหภูมิที่ได้นำมาหาค่าเฉลี่ยของค่าเฉลี่ยที่ได้รับแสงตามธรรมชาติ

4.5 ทำการทดลองสภาพห้องเพาะเลี้ยงละ 5 ชั่วก เป็นเวลา 2 เดือน โดยเมื่อครบ 1 เดือนจึงย้ายต้นเยื่อปรางลงในอาหารชุดใหม่สูตรเดิมโดยไม่มีการตัดแบ่ง

4.6 ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.7

วิธีเก็บรวบรวมข้อมูลและวิธีวิเคราะห์ข้อมูล

1. บันทึกลักษณะของพืช ได้แก่ ความแข็งแรงของต้น ความสมบูรณ์ของต้น ความแข็งแรงของก้านใบและแผ่นใบ การเกิดแคลลัสที่โคนต้น การเกิดราก
2. นับจำนวนต้นที่ไ้ในเงื่อนไขที่ 2
3. นับจำนวนและวัดความยาวของรากเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน
4. บรรยายลักษณะของพืชเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน และถ่ายภาพ
5. หาค่าเฉลี่ยของการเจริญของต้นใหม่ในแต่ละการทดลอง

ผลการศึกษาค้นคว้า

การศึกษารับจัดที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยอบีราในสภาพปลอดเชื้อ โดยเฉพาะเลี้ยง
ต้นเยอบีรา 3 พันธุ์คือ พันธุ์ Australian giants พันธุ์ Ramona strain mixed และ
พันธุ์ Van wijk ปรากฏผลดังนี้

1. การศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่าง IAA กับไคนิน ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยอบีรา
จากการนำต้นเยอบีราทั้ง 3 พันธุ์ มาเลี้ยงในสภาพห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 23 - 27
องศาเซลเซียส และได้รับแสงตลอดเวลา เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรมูราซิกิและสูกุคัตแปลงที่เติม
IAA และไคนินในความเข้มข้นต่างๆกันรวม 35 สูตร เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าต้นเยอบีรา
ทั้ง 3 พันธุ์ มีการเจริญเติบโตเกิดรากและแตกต้นใหม่ได้แตกต่างกันไป ตามระดับความเข้มข้น
ของ IAA และไคนิน ดังนี้คือ ต้นเยอบีราที่นำลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรมูราซิกิและสูกุค
ัตแปลงที่ไม่เติมทั้ง IAA และไคนิน เมื่อเลี้ยงนาน 2 เดือนมีค่าเฉลี่ยการแตกต้นใหม่ของ
เยอบีราทั้ง 3 พันธุ์เป็น 1.47 ต้น จากต้นเริ่มต้น 1 ต้น และพันธุ์ Ramona strain mixed
เป็นพันธุ์ที่แตกต้นใหม่ได้มากที่สุดโดยเฉลี่ย 1.80 ต้น จากต้นเริ่มต้น 1 ต้น (ตาราง 3)
ต้นที่ไคนินแข็งแรงสมบูรณ์ดี มีรากเจริญดี และในอาหารสูตรมูราซิกิและสูกุคัตแปลงที่เติม IAA
ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยทุกๆความเข้มข้นที่ไม่เติม
ไคนินเลย พบว่าผลที่ได้เป็นเช่นเดียวกันคือเมื่อเลี้ยงนาน 2 เดือน มีค่าเฉลี่ยการแตกต้นใหม่
ของเยอบีราทั้ง 3 พันธุ์เป็น 1 - 1.49 ต้น จากต้นเริ่มต้น 1 ต้น (ตาราง 3) ต้นที่ไคนินแข็งแรง
สมบูรณ์ดี มีรากเจริญดี (ภาพประกอบ 5 7 และ 9) ต้นที่เพาะเลี้ยงเริ่มมีรากเกิดขึ้นตั้งแต่
สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยง โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.13 ราก ต่อ 1 ต้น เมื่อเพาะเลี้ยง
ในอาหารที่มี IAA ในปริมาณ 0.5 และ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนรากเฉลี่ยต่อ 1 ต้น
ต่ำสุด 0.86 ราก เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมทั้ง IAA และไคนิน (ตาราง 4)

ส่วนความยาวรากเฉลี่ยในสัปดาห์แรกที่เพาะเลี้ยง พบว่าต้นเยอปีรา 1 ต้น มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 1.38 เซนติเมตร ต่อ 1 ราก เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม IAA ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตาราง 4) เมื่อเติม IAA ในปริมาณสูงหรือต่ำกว่านี้ความยาวรากเฉลี่ยจะลดลง และเมื่อเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม IAA ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นเยอปีรามีรากเจริญดี โดยมีจำนวนรากเฉลี่ย 3 รากต่อ 1 ต้น และความยาวเฉลี่ย 8.25 เซนติเมตร ต่อ 1 ราก (ตาราง 4) ส่วนจำนวนรากเฉลี่ยค่าสุด 2.46 ราก ต่อ 1 ต้น ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม IAA และไคโตน ความยาวรากเฉลี่ยค่าสุด 6.97 เซนติเมตรต่อ 1 ราก เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

การเกิดรากของเยอปีราทั้ง 3 พันธุ์เจริญได้ดีทั้งจำนวนรากและความยาวราก เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม IAA ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตาราง 4 และภาพประกอบ 1) แต่ความสามารถในการเจริญของรากแตกต่างกันไปบ้างดังนี้ พันธุ์ Van wijk เป็นพันธุ์ที่มีรากเจริญดี มีจำนวนรากเฉลี่ยมากกว่าพันธุ์ Australian giants และพันธุ์ Ramona strain mixed ซึ่งพันธุ์ Ramona strain mixed เป็นพันธุ์ที่มีจำนวนรากเฉลี่ยน้อยที่สุด และเมื่อศึกษาความยาวราก พบว่าพันธุ์ที่มีรากยาวและเจริญเติบโตเร็วที่สุดคือพันธุ์ Australian giants ส่วนพันธุ์ Ramona strain mixed เป็นพันธุ์ที่รากเจริญเติบโตช้ากว่าพันธุ์ Australian giants และพันธุ์ Van wijk (ตาราง 2) และยังพบว่าพันธุ์ Van wijk มีความสามารถในการแตกรากแขนงได้มากกว่าพันธุ์ Australian giants และพันธุ์ Ramona strain mixed (ภาพประกอบ 1) และการเกิดรากของเยอปีราพันธุ์ Australian giants พบว่าในสูตรอาหารที่เติม IAA ร่วมกับไคโตนปริมาณต่ำสามารถกระตุ้นให้เกิดการเจริญของรากได้ (ตาราง 5) ส่วนต้นเยอปีราพันธุ์ Van wijk เกิดรากได้ในอาหารที่เติมไคโตนเช่นกัน แต่เกิดได้ในช่วงจำกัดกว่าพันธุ์ Australian giants (ตาราง 5) ส่วนพันธุ์ Ramona strain mixed พบว่าไม่มีการสร้างรากเลยเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA ร่วมกับไคโตน (ตาราง 6)

การเกิดต้นใหม่ของเยอบีร่าพบว่าเยอบีร่าทั้ง 3 พันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรมูราซิกิและสฤกต์ดัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0 0.25 0.50 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมกับการเติมไคโตอินในปริมาณ 2 4 6 8 10 และ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดต้นใหม่เพิ่มขึ้นในทุกๆ ความเข้มข้นดังกล่าว จำนวนต้นใหม่ที่ไคจะแตกต่างกันไปในแต่ละความเข้มข้นของ IAA รวมกับไคโตอิน (ตาราง 3) รวมทั้งความสมบูรณ์แข็งแรงของต้นจะแตกต่างกัน (ตาราง 5 6 7 และภาพประกอบ 5 7 และ 9) จากการเพาะเลี้ยงต้นเยอบีร่าจากต้นเริ่มต้น 1 ต้น ในอาหารสูตรมูราซิกิและสฤกต์ดัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคโตอินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นใหม่เฉลี่ย 11.77 ต้น (ตาราง 3) และต้นใหม่ที่ไคสมบูรณ์แข็งแรงดี (ตาราง 5 6 และ 7) ในการเพาะเลี้ยงต้นเยอบีร่าในอาหารที่เติม IAA ทุกความเข้มข้นตั้งแต่ 0 - 1 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมกับไคโตอินความเข้มข้นสูง 8 - 12 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าต้นที่ไคมีขนาดเล็ก หรือมีลักษณะเป็นไม้เลื้อยจะเกิดต้นจำนวนมาก แต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ ส่วนที่สามารถเจริญเป็นต้นได้จะมีลักษณะก้านใบสั้น เพราะกิ่งก้านใบมีขนาดเล็ก รูปทรงใบเรียวแหลม ต้นที่ไคไม่แข็งแรง (ตาราง 5 6 7 และภาพประกอบ 2 ข 2 ค และ 3) และมีจำนวนต้นเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 2 เดือน เฉลี่ย 9.87 - 18.33 ต้น (ตาราง 3) ส่วนต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไคโตอินในช่วงความเข้มข้น 4 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นที่ไคแข็งแรง ก้านใบยาว ใบมีขนาดใหญ่ (ตาราง 5 6 7 และภาพประกอบ 5 7 และ 9) มีจำนวนต้นเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 2 เดือน เฉลี่ย 9.17 - 14 ต้น (ตาราง 3) และต้นเยอบีร่าที่เลี้ยงในอาหารที่เติมไคโตอินในปริมาณ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นที่ไคแข็งแรงก็เช่นกัน (ภาพประกอบ 2 ก) แต่ให้จำนวนต้นใหม่น้อยเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 2 เดือน จะได้จำนวนต้นเฉลี่ย 5.86 - 10.34 ต้น (ตาราง 3) ส่วนต้นที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ไม่เติมไคโตอินเลยเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 2 เดือน พบว่าอัตราการเกิดหน่อใหม่ต่ำมากเฉลี่ย 1 - 1.49 ต้น (ตาราง 3) และในสูตรอาหารที่ทดลองทั้งที่ไม่เติม IAA และเติม IAA ทุกๆ ความเข้มข้นโดยที่ไม่เติมไคโตอินเลยจะเกิดรากทั้งหมด ส่วนสูตรอาหารทั้งที่ไม่เติม IAA และเติม IAA รวมกับไคโตอินตั้งแต่ความเข้มข้น 2 - 12 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าพันธุ์ Ramona

strain mixed และพันธุ์ Van wijk ไม่เกิดราก แต่พันธุ์ Australian giants เกิดราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมโคไนตินในปริมาณต่ำ และรากจะมีลักษณะผิดปกติ มีรูปร่างอ้วนสั้น เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีโคไนตินสูงขึ้นในปริมาณ 2 - 8 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเติมโคไนติน 10 - 12 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเชื้อราพันธุ์ Australian giants ก็ไม่สามารถสร้างรากได้เช่นกัน (ตาราง 5 6 และ 7)

สูตรอาหารมูราซิกและสลุทที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคไนตินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป ส่วนสูตรอาหารมูราซิกและสลุทที่เติม IAA ในปริมาณ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่เติมโคไนติน เป็นสูตรอาหารที่ทำให้เกิดรากจำนวนมาก รากยาวสมบูรณ์ดี (ตาราง 4) จึงเหมาะสมในการใช้กระตุ้นต้นเชื้อราให้เกิดรากและโคไนตินที่สมบูรณ์ก่อนนำออกปลูกในเครื่องปลูก

ตาราง 3 จำนวนต้นเฉลี่ยของเขย็วรา 3 พันธุ์ จากต้นเริ่มต้น 1 ต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน
 ในอาหารสูตรมูลราสีและสูกัดแปลงซึ่งใช้ IAA และเคซีเอ็ม ในปริมาณต่าง ๆ กัน จำนวน 35 คู่

IAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เจบีบี (มิลลิกรัมต่อลิตร)																											
	0				2				4				6				8				10				12			
	A	R	Vw	เฉลี่ย	A	R	Vw	เฉลี่ย	A	R	Vw	เฉลี่ย	A	R	Vw	เฉลี่ย	A	R	Vw	เฉลี่ย	A	R	Vw	เฉลี่ย				
0	1.60	1.80	1	1.47	10.17	11.86	9	10.34	12.50	12.53	14	12.94	12.33	17.17	13.13	14.21	12	14.80	12.43	13.08	11	13.67	11.17	12.13	7	15.67	14.71	12.46
0.25	1.33	2	1	1.44	7.50	12.17	6.63	8.77	11.50	14.17	9.56	11.74	16.40	14.20	9	13.20	19.80	13.60	19	17.47	10	6.80	6.35	7.89	7.33	9.60	11	9.71
0.50	1	1	1	1	8.80	7	5.36	7.35	10.80	9.60	7.11	9.17	8.60	7.40	12.33	9.61	13	7	12.22	10.74	4.67	7.60	22	11.42	9	7.60	13	9.87
0.75	1.20	1.20	1.60	1.33	7.40	5.60	4.63	5.88	11	11.30	13.33	12.04	16	15.60	17.38	16.33	21.20	19.60	14.30	18.33	13.23	13.20	24.60	17	9.60	16.80	28.33	18.24
1	1.60	1.20	1.67	1.49	7.60	10	10.50	9.37	7.60	16.40	18	14	10.80	21.60	16.66	16.42	15	20.80	11.88	15.69	14.21	15	19	16.07	12.80	19.80	16.66	16.42

A เขย็วราพันธุ์ Australian giants
 R เขย็วราพันธุ์ Remona strain mixed
 Vw เขย็วราพันธุ์ Van wijk

ตาราง 4 เปรียบเทียบจำนวนรากเฉลี่ยและความยาวรากเฉลี่ย ของแบบป๊รา 3 พันธุ์ ที่เพาะเลี้ยง
ในอาหารสูตรธรรมชาติและสฤกคักแปลง ที่เติม IAA ปริมาณต่าง ๆ เว้นเวลา 1 และ 8 สัปดาห์

IAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พันธุ์	จำนวนเฉลี่ย (ราก)		ความยาวเฉลี่ย (เซนติเมตร)	
		สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 8
0	A	0.8	2.8	0.5	10.09
	R	0.6	2.2	2.4	4.06
	Vw	1.2	2.4	0.95	7.05
	เฉลี่ย	0.86	2.46	1.28	7.06
0.25	A	2	3.2	1.74	8.17
	R	0.2	3.4	0.2	4.91
	Vw	1	1.8	1	7.85
	เฉลี่ย	1.06	2.28	0.98	6.97
0.50	A	1	3	2.44	10.36
	R	0.2	3	0.3	6.65
	Vw	2.2	3	1.04	7.76
	เฉลี่ย	1.13	3	1.38	8.25
0.75	A	1.6	2.8	1.47	8.74
	R	0	2.8	0	6.31
	Vw	1.8	3.6	0.97	7
	เฉลี่ย	1.13	3.06	0.81	7.35
1	A	1.4	1.8	0.91	9.43
	R	0	2.4	0	4.32
	Vw	1.3	3.8	0.62	8.18
	เฉลี่ย	1.06	2.66	0.51	7.31

a - เฉลี่ยจากรากของพืชที่ใหม่จำนวน 5 ต้น

b - เฉลี่ยจากรากทั้งเดิมของพืชที่ใหม่จำนวน 5 ต้น

สัญลักษณ์และความหมายที่ใช้อธิบายตาราง 5 6 และ 7

ลักษณะการเจริญเติบโตของต้น

S ₀	หมายถึง	แตกกอ ^๑ น้อย	ต้น ^๒ อวบ ^๓ น้ำ
S ₁	"	แตกกอ ^๑ น้อย	ต้น ^๒ แข็งแรง
S ₂	"	แตกกอ ^๑ พอ ^๔ ใช้	ต้น ^๒ อวบ ^๓ น้ำ
S ₃	"	แตกกอ ^๑ พอ ^๔ ใช้	ต้น ^๒ แข็งแรง
S ₄	"	แตกกอ ^๑ มาก	ต้น ^๒ อวบ ^๓ น้ำ
S ₅	"	แตกกอ ^๑ มาก	ต้น ^๒ แข็งแรง

ลักษณะการเจริญเติบโตของใบ

L ₀	หมายถึง	เกิดใบ ^๑ น้อย	ใบมี ^๒ ขนาด ^๓ เล็ก
L ₁	"	เกิดใบ ^๑ น้อย	ใบมี ^๒ ขนาด ^๓ ใหญ่
L ₂	"	เกิดใบ ^๑ พอ ^๔ ใช้	ใบมี ^๒ ขนาด ^๓ เล็ก
L ₃	"	เกิดใบ ^๑ พอ ^๔ ใช้	ใบมี ^๒ ขนาด ^๓ ใหญ่
L ₄	"	เกิดใบ ^๑ มาก	ใบมี ^๒ ขนาด ^๓ เล็ก
L ₅	"	เกิดใบ ^๑ มาก	ใบมี ^๒ ขนาด ^๓ ใหญ่

ลักษณะการเจริญเติบโตของราก

R ₀	หมายถึง	ไม่ ^๑ เกิดราก		
R ₁	"	เกิดราก ^๑ น้อย	ราก ^๒ อวบ ^๓ สั้น	ไม่ ^๔ แตกแขนง
R ₂	"	เกิดราก ^๑ น้อย	รากยาว	แตกแขนง ^๕ น้อย
R ₃	"	เกิดราก ^๑ น้อย	รากยาว	แตกแขนง ^๕ มาก
R ₄	"	เกิดราก ^๑ มาก	รากยาว	แตกแขนง ^๕ น้อย
R ₅	"	เกิดราก ^๑ มาก	รากยาว	แตกแขนง ^๕ มาก

ตาราง 5 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้น ใบ และราก ของเยื่อรากพันธุ์ Australian giants ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรรากิกิ และสูตรคัดแปลง ซึ่งเพิ่ม IAA และไคนิติน ปริมาณต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน

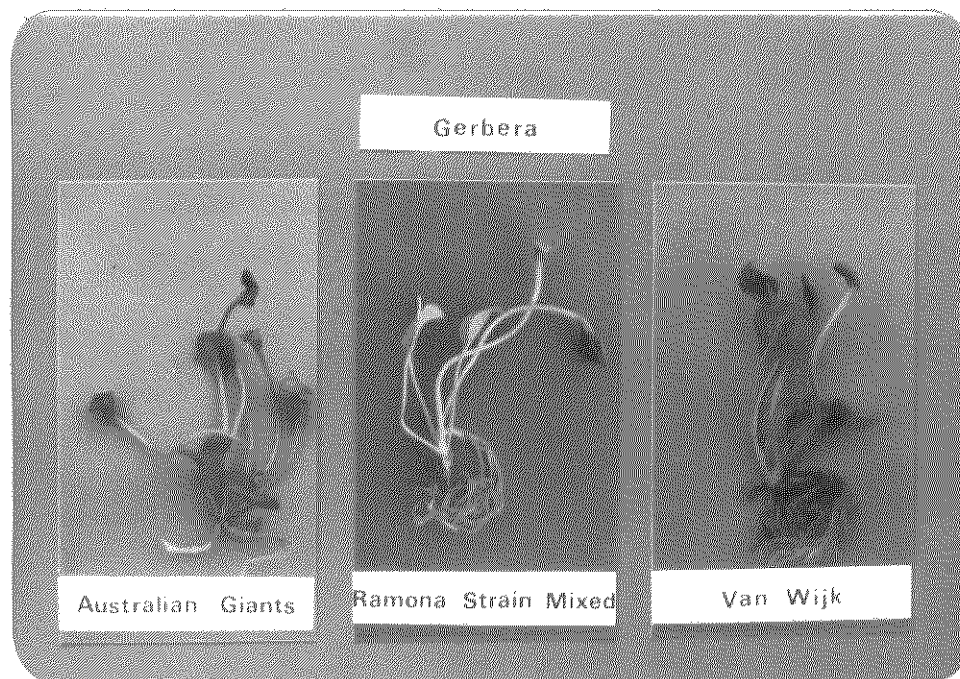
IAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไคนิติน (มิลลิกรัมต่อลิตร)						
	0	2	4	6	8	10	12
0	$S_1 L_1 R_2$	$S_4 L_5 R_2$	$S_5 L_4 R_1$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_3 L_4 R_0$	$S_3 L_4 R_0$
0.25	$S_1 L_1 R_4$	$S_3 L_5 R_1$	$S_3 L_5 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_3 L_4 R_0$	$S_2 L_4 R_0$
0.5	$S_1 L_1 R_4$	$S_3 L_4 R_1$	$S_3 L_4 R_0$	$S_3 L_4 R_0$	$S_3 L_4 R_0$	$S_0 L_2 R_0$	$S_2 L_2 R_0$
0.75	$S_1 L_1 R_3$	$S_3 L_3 R_1$	$S_3 L_4 R_1$	$S_5 L_4 R_1$	$S_5 L_4 R_0$	$S_2 L_4 R_0$	$S_2 L_4 R_0$
1	$S_1 L_1 R_2$	$S_3 L_4 R_1$	$S_3 L_4 R_1$	$S_3 L_4 R_1$	$S_4 L_4 R_1$	$S_4 L_4 R_0$	$S_2 L_4 R_0$

ตาราง 6 ลักษณะการเจริญเติบโตของลำต้น ใบ และราก ของเยื่อไม้พันธุ์ Ramona strain mixed ที่เลี้ยงบนอาหาร
สูตรปุ๋ยพืชกึ่งและสูกัดแปลง ซึ่งเติม IAA และไคติน ปริมาณต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 1 เดือน

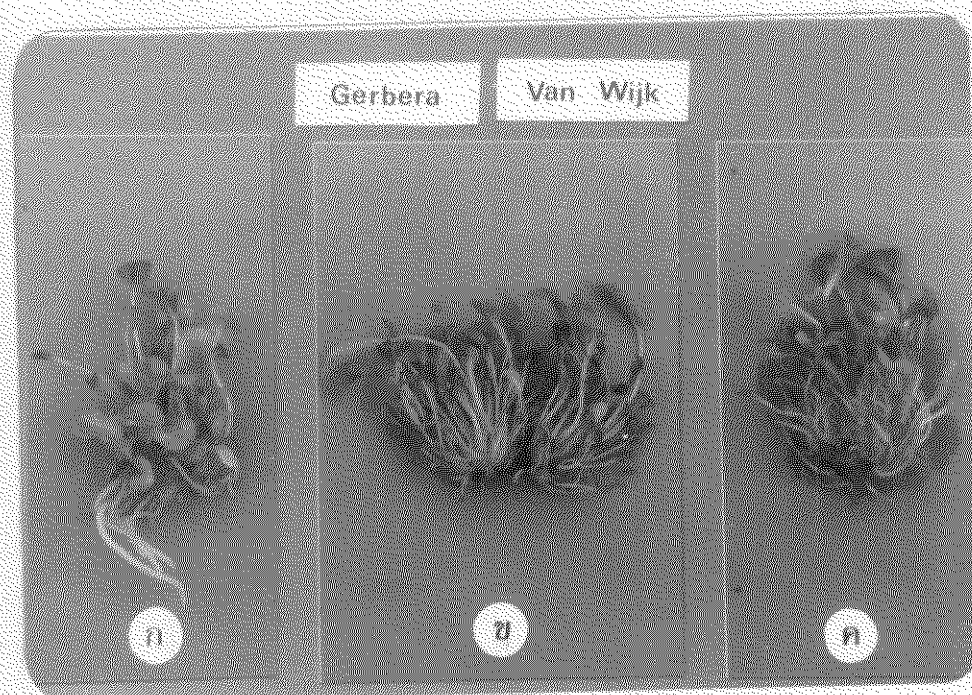
IAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไคติน (มิลลิกรัมต่อลิตร)						
	0	2	4	6	8	10	12
0	$S_1 L_1 R_2$	$S_5 L_5 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$
0.25	$S_1 L_1 R_4$	$S_5 L_5 R_0$	$S_5 L_5 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_3 L_4 R_0$	$S_3 L_4 R_0$	$S_2 L_4 R_0$
0.5	$S_1 L_1 R_5$	$S_3 L_5 R_0$	$S_3 L_5 R_0$	$S_3 L_3 R_0$	$S_3 L_3 R_0$	$S_2 L_2 R_0$	$S_2 L_2 R_0$
0.75	$S_1 L_1 R_5$	$S_1 L_3 R_0$	$S_3 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_2 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$
1	$S_1 L_1 R_2$	$S_2 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$

ตาราง 7 ลักษณะการเจริญเติบโตของลำต้น ใบ และรากของเยื่อไม้พันธุ์ Van wijk ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรมูราซิกและ
 สุกคัตแปลง ซึ่งเติม IAA และไคนิติน ปริมาณต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน

IAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไคนิติน (มิลลิกรัมต่อลิตร)						
	0	2	4	6	8	10	12
0	$S_1 L_1 R_3$	$S_4 L_5 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$
0.25	$S_1 L_1 R_3$	$S_3 L_5 R_0$	$S_5 L_5 R_0$	$S_5 L_5 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_2 L_4 R_0$
0.5	$S_1 L_1 R_5$	$S_3 L_5 R_0$	$S_3 L_5 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$
0.75	$S_1 L_1 R_5$	$S_3 L_5 R_2$	$S_5 L_4 R_2$	$S_5 L_4 R_0$	$S_5 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$
1	$S_1 L_1 R_5$	$S_2 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$	$S_4 L_4 R_0$



ภาพประกอบ 1 เปรียบเทียบลักษณะของต้นเขยปีราทั้ง 3 พันธุ์ ที่เลี้ยงบนอาหาร
สูตรนูราจิกและสูกักแปลง ที่เติม IAA ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น
เวลา 2 เดือน

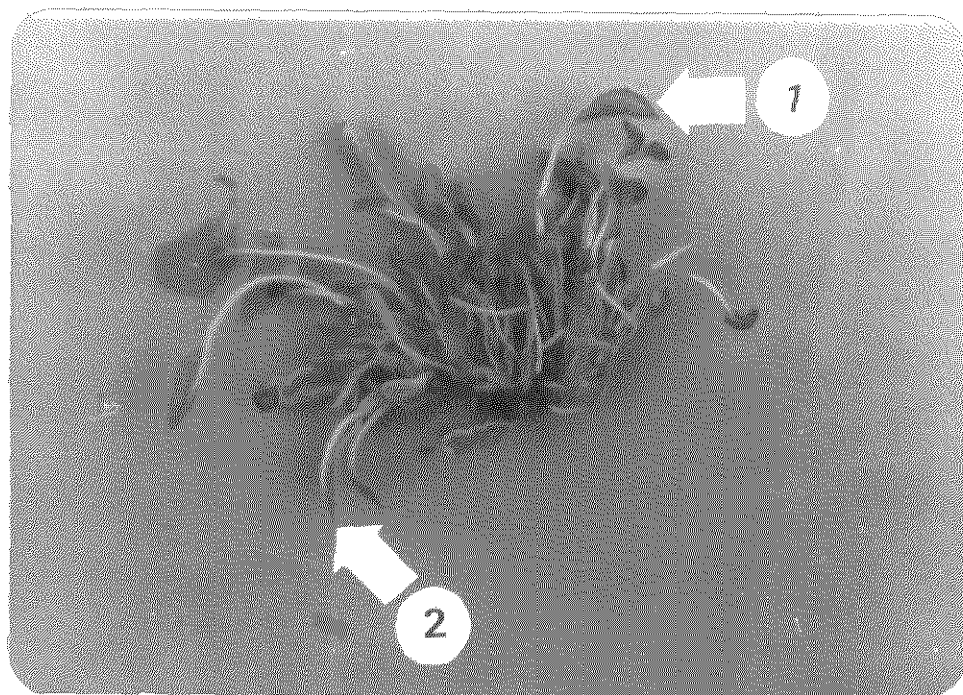


ภาพประกอบ 2 เปรียบเทียบลักษณะต้นเหอปีราพันธุ์ Van wijk อายุ 2 เดือน
ที่เพาะเลี้ยงจากต้นเริ่มต้น 1 ต้น บนอาหารสูตรนูราซิกและถูกดัดแปลงที่เพิ่ม
I.M. ในปริมาณ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เพิ่มไคโตอินปริมาณต่างๆกัน ดังนี้

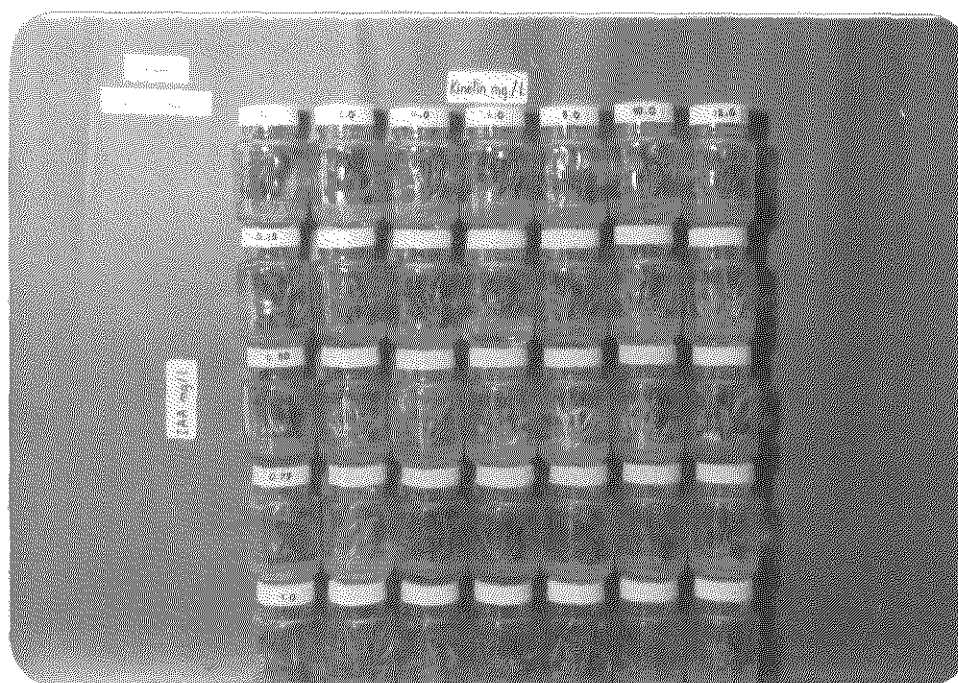
2 มิลลิกรัมต่อลิตร (2ก)

8 มิลลิกรัมต่อลิตร (2ข) และ

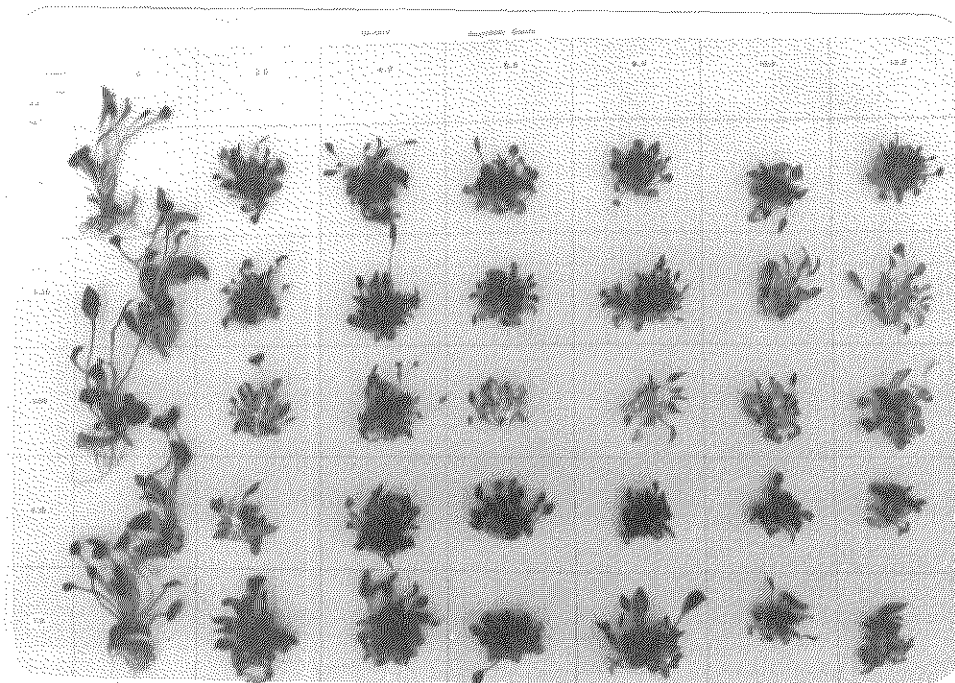
10 มิลลิกรัมต่อลิตร (2ค)



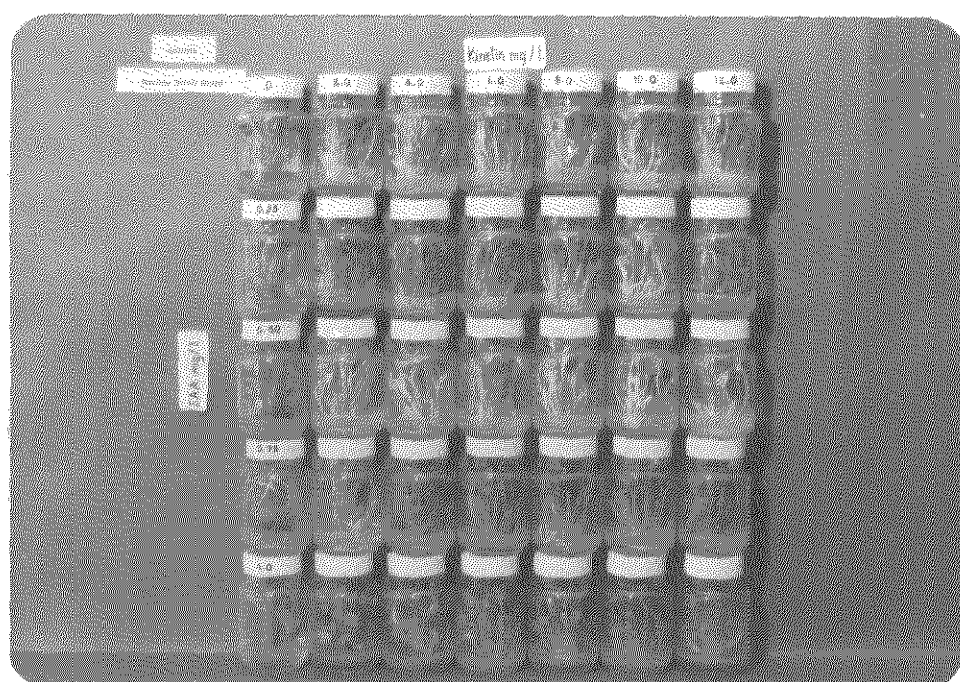
ภาพประกอบ 3 เปรียบเทียบขนาดและรูปร่างของใบเค็มตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยง (1) ซึ่งมีขนาดและรูปร่างปกติกับใบที่เกิดขึ้นภายหลังจากที่เลี้ยงในอาหารที่เติม IAA ในปริมาณ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตรและไคนินในปริมาณ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร (2) ใบมีรูปร่างผิดปกติมีขนาดเล็กและเรียวยาว



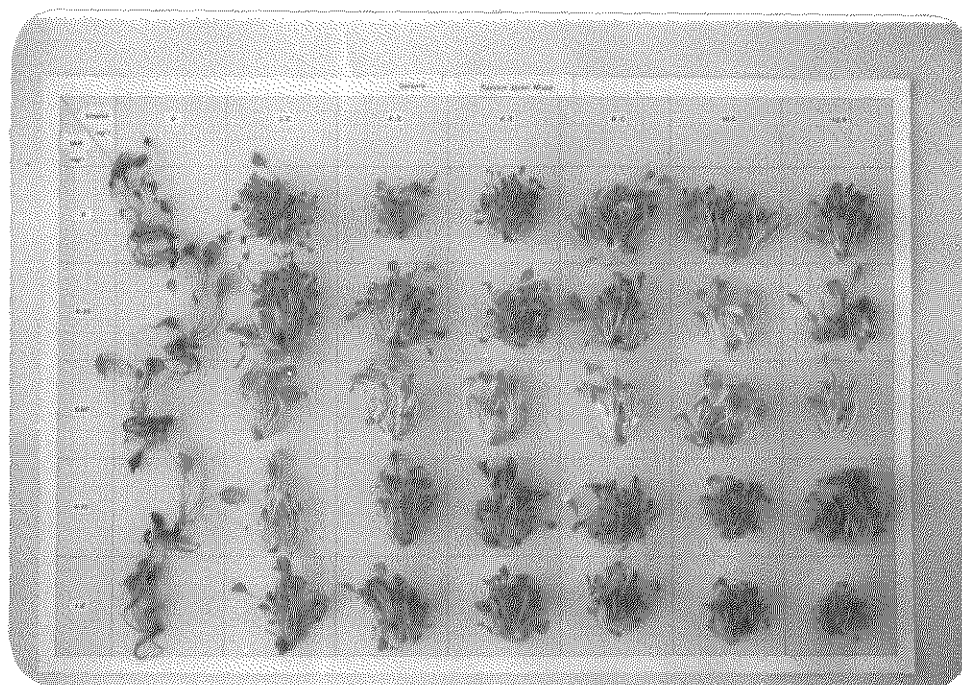
ภาพประกอบ 4 เปรียบเทียบการแตกกอของเขยื่อราฟี่ Australian giants
ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรนูราซิกและถูกดัดแปลงที่เติม IAA และไคนิตินปริมาณต่างๆ
กัน หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



ภาพประกอบ 5 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขยปีราพันธุ์ Australian giants หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารแข็งสูตรนูราซิก และถูกดัดแปลงที่เติม IAA และโคไนดีนปริมาณต่างๆกัน



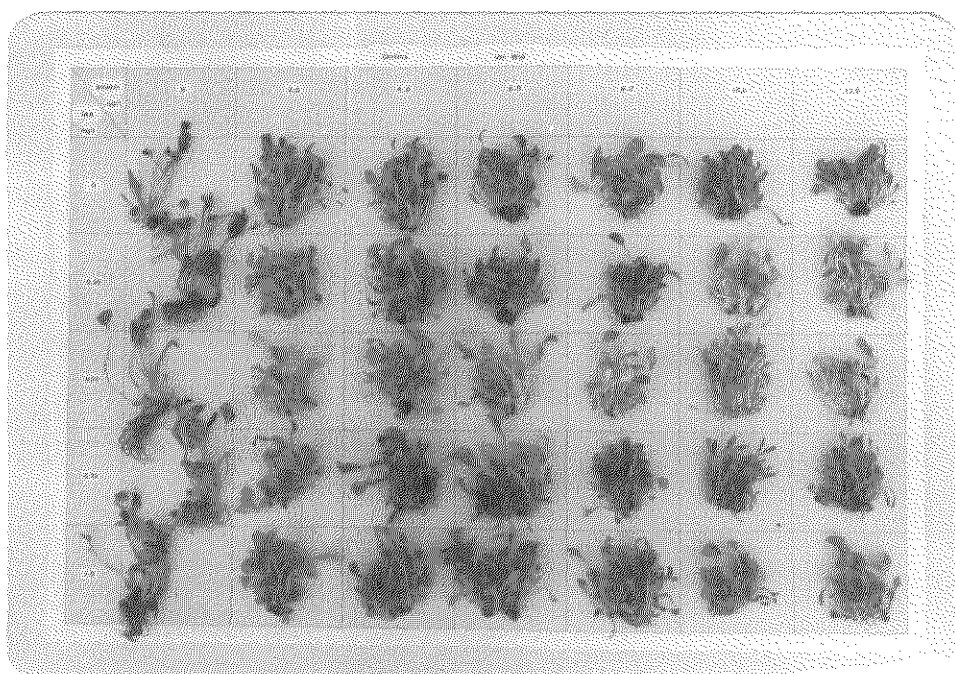
ภาพประกอบ 6 เปรียบเทียบการแตกกอของเขยื่อปรางค์ Ramona strain mixed
 ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรราชาธิและสูกัดแปลงที่เติม IAA และไคโตเจนปริมาณ
 ต่างๆกัน หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



ภาพประกอบ 7 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขอปีราพันธุ์
 Ramona strain mixed หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารแข็งสูตรนูราซิกและ
 ถูกดัดแปลงที่เติม IAA และไคโตอินปริมาณต่างๆกัน



ภาพประกอบ 8 เปรียบเทียบการแตกกอของเยอไพราฟิแญ์ Van wijk ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรราซิกและสูกพัฒนาที่เติม IAA และไคโตจินปริมาณต่างๆกัน หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



ภาพประกอบ 9 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของแมมมีรา ฟินส์ Van wijk หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารแข็งสูตรนูราซีโนและถูก คัดแปลงที่เติม IAA และไคโตจีนปริมาณต่างๆกัน

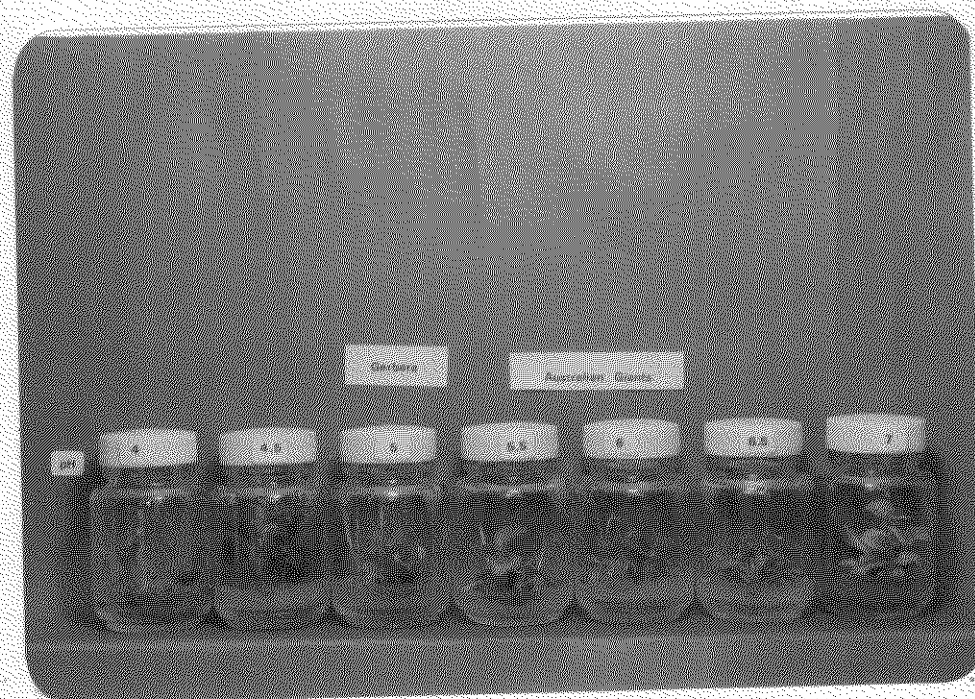
2. การศึกษา pH ของอาหาร ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยอปีรา

จากการนำต้นเยอปีราทั้ง 3 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 1 ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมคือ สูตรอาหารมูราซิกและสกุคคัลแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสูตรอาหารดังกล่าวนำไปปรับ pH 7 ค่า ไคนิน 4 4.5 5 5.5 6 6.5 และ 7 พบว่า pH ของอาหารมีผลต่อการเพิ่มจำนวนต้นเยอปีรากล้ายิ่งขึ้น เมื่อใช้จำนวนต้นเฉลี่ยที่ได้หลังจากเพาะเลี้ยงครบ 2 เดือน พบว่าจำนวนต้นเฉลี่ยไม่แตกต่างกันมากนัก จำนวนต้นเฉลี่ยจะอยู่ในช่วง 6.2 - 8.2 ต้น (ตาราง 8) แต่ผลที่เห็นได้ชัดเห็นประการหนึ่งคือ ถ้า pH ของอาหารมีผลต่อความสมบูรณ์ของต้น พบว่า pH ที่เหมาะสมอยู่ช่วง 5 - 6 ให้ต้นที่แข็งแรง ก้านใบยาว ใบมีขนาดใหญ่ จำนวนต้นเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 2 เดือน เฉลี่ย 7.13 - 7.53 ต้น เมื่อ pH ของอาหารสูงขึ้นเป็น 6.5 และ 7 ให้จำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุดถึง 8.2 ต้น แต่ต้นใหม่ที่ไคนินขนาดเล็ก ส่วนสูตรอาหารที่เพาะเลี้ยงเมื่อปรับ pH ของอาหารค่า ในช่วง 4 - 4.5 พบว่าในช่วงแรกๆของการเพาะเลี้ยงต้นที่ได้เจริญเติบโตดี ก้านใบอวบขนาดใหญ่ ใบมีขนาดใหญ่ จำนวนต้นเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 2 เดือน เฉลี่ย 6.20 - 7.38 ต้น (ตาราง 8 และภาพประกอบ 11 13 และ 15) แต่ถาเพาะเลี้ยงเยอปีราในอาหารที่ปรับ pH 4 และ 4.5 ในอาหารชวดเค็มนานเกินกว่า 1 เดือน พบว่าต้นเยอปีรามีอาการใบเหลืองและตายภายใน 1 สัปดาห์

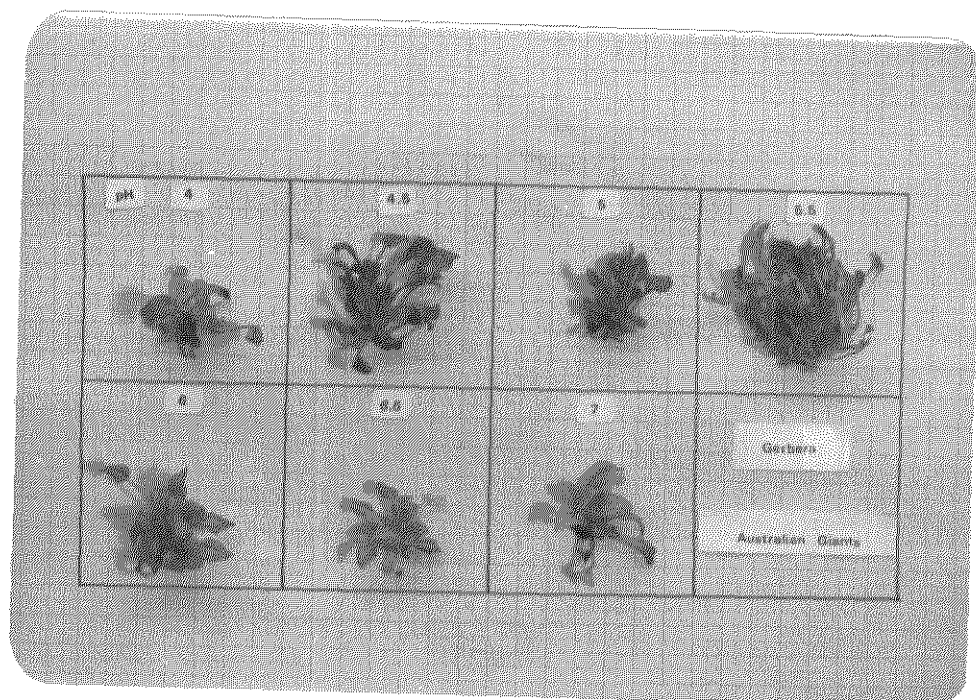
เมื่อศึกษาถึง pH ของอาหารที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นและความแข็งแรงของต้นเยอปีราทั้ง 3 พันธุ์แล้ว พบว่า pH ของอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงอยู่ในช่วง pH 5 - 6

ตาราง 8 จำนวนต้นเฉลี่ยของตะกอนเบือรา 3 พืช จากต้นเริ่มต้น 1 ต้น เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพ pH ต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน ในอาหารสูตรบรูซิกินและสบูคัตแปลง ซึ่งเติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และได้ต้น ใบปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

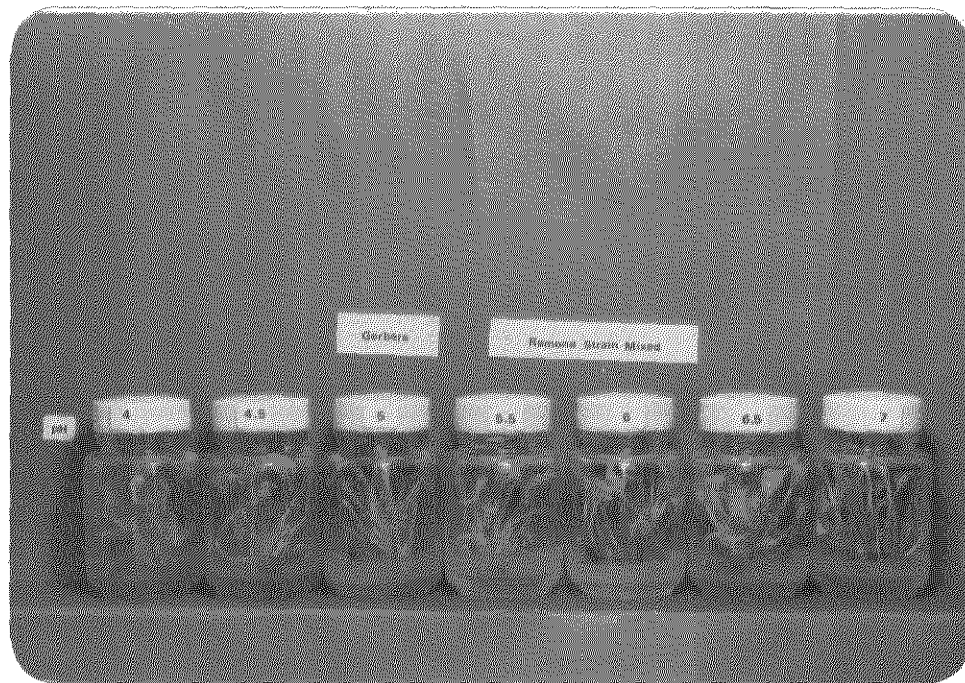
พืช	pH						
	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7
A	2.80	4.20	3.40	6.33	8.60	4.80	7.60
R	8	7.80	8.20	7.50	7.40	6.20	11.40
Vw	11.20	6.60	9.80	8.30	6.60	8.80	5.60
เฉลี่ย	7.33	6.20	7.13	7.37	7.53	6.60	8.20



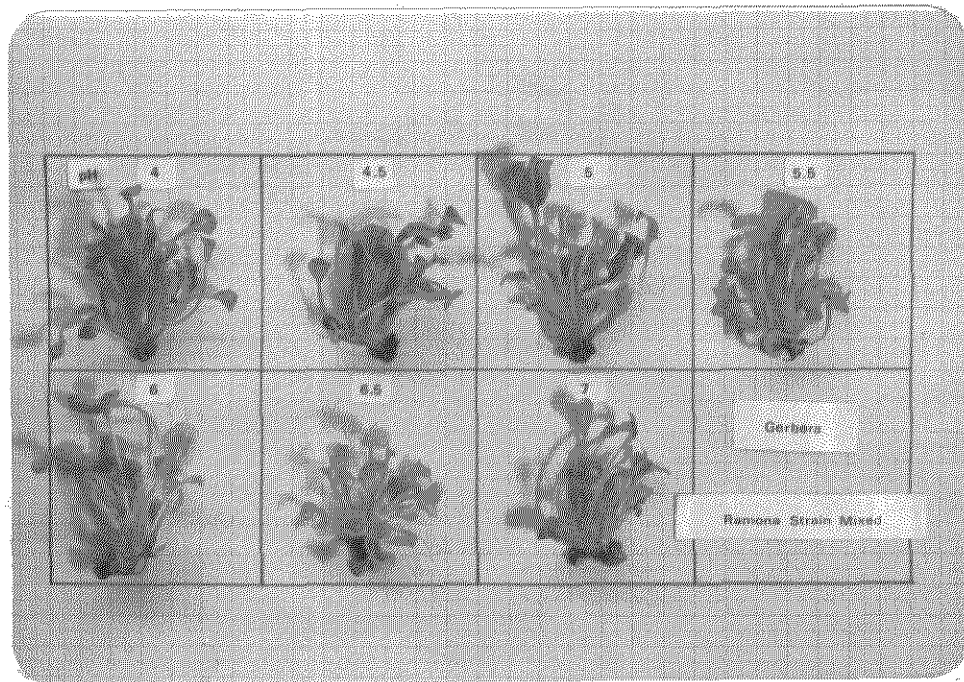
ภาพประกอบ 10 เปรียบเทียบการแตกกอของเขียดน้ำฟ้าที่ Australian giants
ซึ่งเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรมาตรฐานและถูกดัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25
มิลลิกรัมต่อลิตรและไคปีตินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่า pH ของอาหาร
ต่างกันไปหลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



ภาพประกอบ 11 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขือป่าพันธุ์ Australian giants หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือนบนอาหารแข็งสูตรบราซิล และถูกคัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรและไคนิน ในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งมีค่า pH ของอาหารต่างๆกัน



ภาพประกอบ 12 เปรียบเทียบการแตกกอของเขยื่อราพันธุ์ Ramona strain mixed
 ซึ่งเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรราวีกิและถูกหัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25
 มิลลิกรัมต่อลิตรและโคปิติน ในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่า pH ของอาหาร
 ต่างๆกันหลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



ภาพประกอบ 13 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขยี่รา
พันธุ์ Ramona strain mixed หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือนบนอาหารแข็งสูตร
นูราซิกและสบูกัดคัปแองที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรและไคนิน
ในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่า pH ของอาหารต่างๆกัน



ภาพประกอบ 14 เปรียบเทียบการแตกกอของเขมือพรากิน Van wijk ซึ่งเลี้ยงบน
อาหารแข็งสูตรบราซิลและสูกัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร
และไคไคตินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีการ pH ของอาหารต่างๆกันหลังจาก
เลี้ยงได้ 2 เดือน



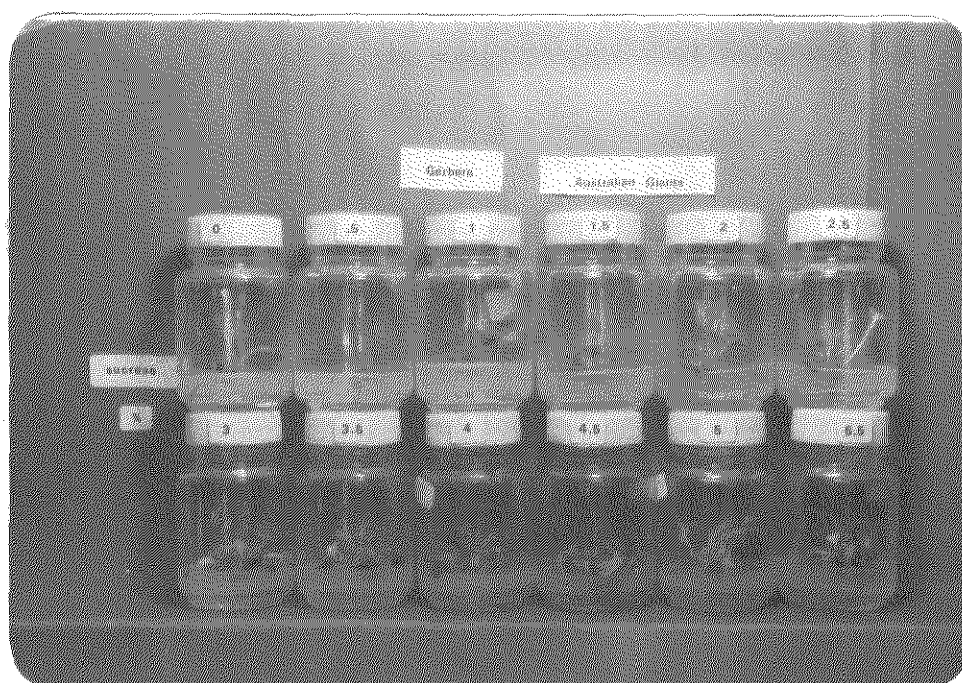
ภาพประกอบ 15 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเยอวีราพันธุ์ Van wijk หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือนบนอาหารแข็งสูตรนูราซีกันและถูกดัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรและไคโตอินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่า pH ของอาหารต่างกัน

3. การศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลระดับต่างๆที่เติมลงในอาหาร ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยอบีรา

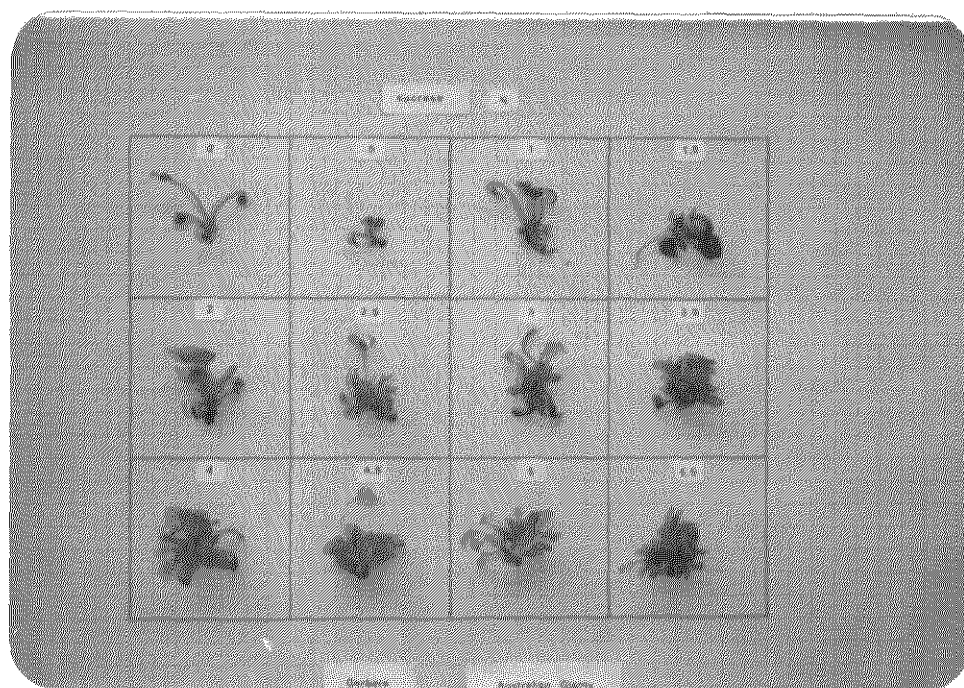
จากการนำต้นเยอบีราทั้ง 3 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 1 ได้แก่อาหารสูตรมูราซิกิและสฤกคักแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคโรตีนในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสูตรอาหารดังกล่าวนำไปเติมน้ำตาลระดับความเข้มข้นต่างๆกัน 12 ความเข้มข้น ไคโร น้ำตาลความเข้มข้น 0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 และ 5.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่อการเพิ่มจำนวนต้น และความสมบูรณ์แข็งแรงของต้นเยอบีราทั้ง 3 พันธุ์คล้ายคลึงกัน (ตาราง 9 และภาพประกอบ 17 19 และ 21) โดยที่เมื่อเพาะเลี้ยงต้นเยอบีราในสูตรอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลเลย ต้นที่ได้แคระแกรน ไม่เจริญเติบโต ก้านใบสั้น ใบมีขนาดเล็ก จำนวนต้นเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน เฉลี่ย 1.33 ต้น ส่วนต้นเยอบีราที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 0.5 - 1.5 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่ได้มีลักษณะแคระแกรน ก้านใบสั้น ใบมีขนาดเล็ก จำนวนต้นเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน เฉลี่ย 2.86 - 5.26 ต้น ในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลมากขึ้นในช่วง 2 - 2.5 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่เกิดใหม่จะสมบูรณ์ดี ก้านใบยาวขึ้น และใบมีขนาดใหญ่ จำนวนต้นเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน เฉลี่ย 7.46 - 7.66 ต้น สูตรอาหารที่เติมน้ำตาลในปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเยอบีรา คืออาหารสูตรมูราซิกิและสฤกคักแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคโรตีนในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาลซูโครส 3 - 3.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นสูตรที่ให้ต้นเยอบีราที่สมบูรณ์แข็งแรงดี ก้านใบยาว ใบมีขนาดใหญ่ และให้จำนวนต้นเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน เฉลี่ย 8.06 - 8.33 ต้น (ตาราง 9 และภาพประกอบ 17 19 และ 21) ซึ่งให้จำนวนต้นเฉลี่ยมากกว่าการเติมน้ำตาลในปริมาณอื่นๆ ถ้าเติมน้ำตาลลงในอาหารเพาะเลี้ยงเยอบีรามากกว่า 3.5 เปอร์เซ็นต์ จะได้จำนวนต้นใหม่น้อยลง ต้นที่ได้มีขนาดใหญ่ ก้านใบยาวมากและอวบเปราะ หักง่าย ก้านใบและแผ่นใบมีลักษณะอวบน้ำ ใบมีขนาดใหญ่ แตกปร่างใบเรียวยาวผิดปกติ

ตาราง 9 จำนวนคนเฉลี่ยของเยอบีรา 3 พันธุ์ จากต้นเริ่มตน 1 ตน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน ในอาหารสูตรมาตรฐานที่ 1 และ
 สูตรที่ 2 ซึ่งเพิ่ม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และได้น้ำในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เพิ่มน้ำตามสูตร
 ปริมาณต่าง ๆ กัน

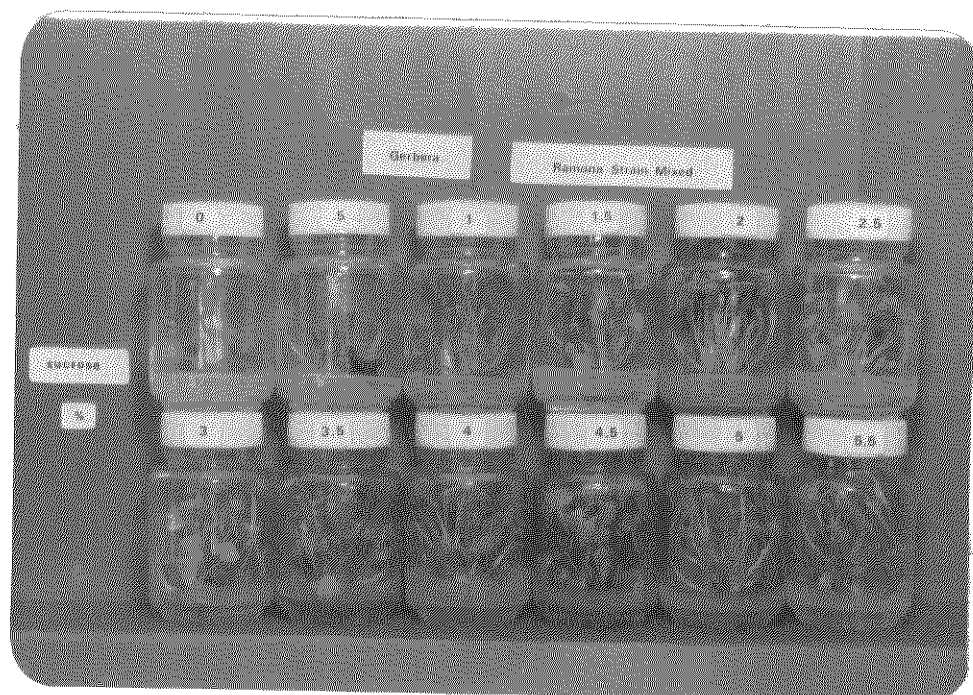
พันธุ์	สูตร (เปอร์เซ็นต์)										
	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
A	1	1.20	2.20	3.60	3.80	3	2.60	4.60	3.60	4.40	4
R	2	4	4.80	5.20	6.60	8.20	11.20	11	6	13.60	11.80
V _W	1	3.40	3.80	7	12.60	11.20	11.20	8.60	8.76	8.83	6.60
เฉลี่ย	1.33	2.86	3.60	5.26	7.66	7.46	8.33	8.06	6.12	8.94	7.46



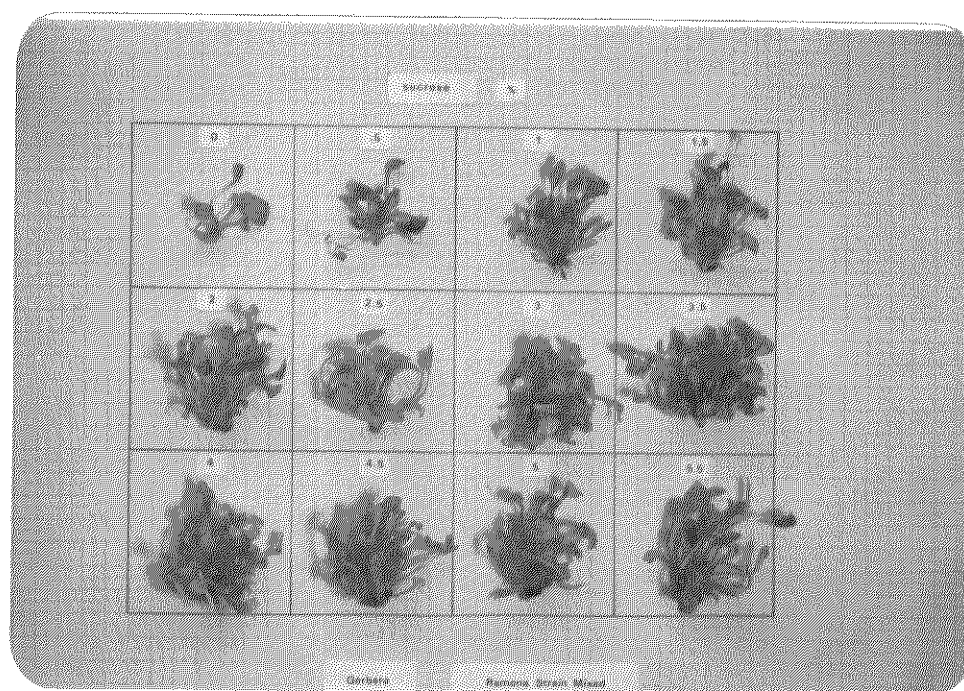
ภาพประกอบ 16 เปรียบเทียบการแตกกอของเขือป่าพันธุ์ Australian giants
 ซึ่งเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรรากิและสูกัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25
 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคโตอินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งมีปริมาณธาตุโครสต่างๆกัน
 หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



ภาพประกอบ 17 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของหนอนไหม
พันธุ์ Australian giants หลังจากเลี้ยงไ้ 2 เดือน บนอาหารแข็งสูตรมูราซึกิ
และสัฏกคักแปลงที่เพิ่ม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคไนซินในปริมาณ
4 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งมีปริมาณสูงโครสต่างๆกัน



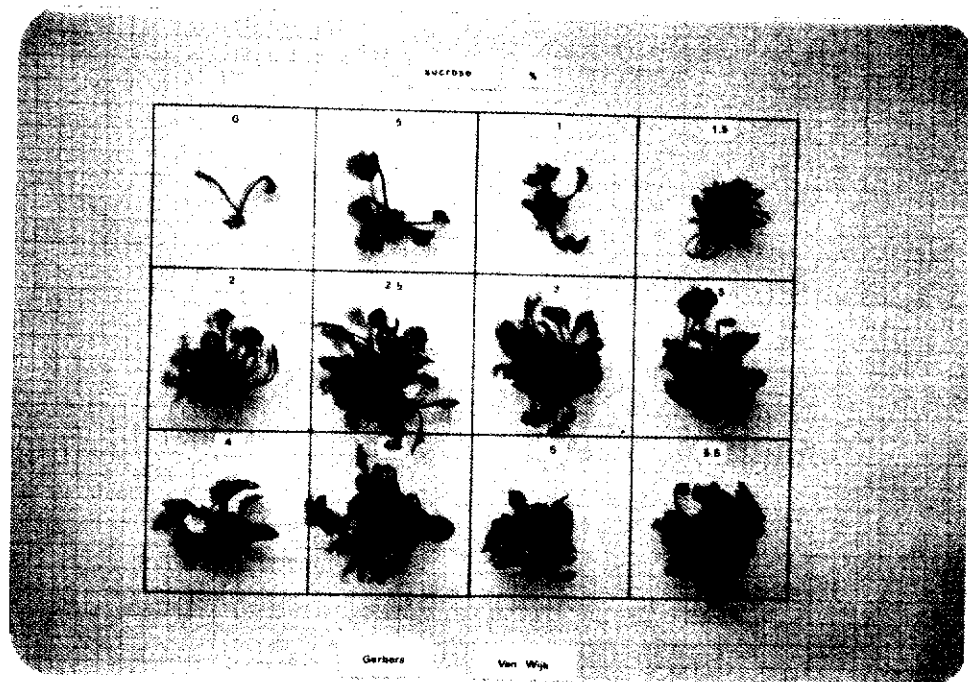
ภาพประกอบ 18 เปรียบเทียบการแตกกอของเยื่อปรีราพันซ์ Ramona strain mixed ซึ่งเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรมูราชิเกะและถูกดัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคปีตินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งมีปริมาณฮอร์โมนต่างๆกัน หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



ภาพประกอบ 19 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเบอปีรา
พันธุ์ Ramona strain mixed หลังจากได้ยงได้ 2 เดือนบนอาหารแข็งสูตรบราซิล
และถูกดัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคโคโคนในปริมาณ
4 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งมีปริมาณฮอร์โมนต่างกัน



ภาพประกอบ 20 เปรียบเทียบการแตกกอของเยื่อปารักษ์ Van wijk ซึ่งเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรราวีกีและสูกัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคโตินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งมีปริมาณสูงโครตต่างๆกันหลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



ภาพประกอบ 21 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขตรากหญ้า
 Van wijk หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารแข็งสูตรมาตรฐานและสภาวะที่
 เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคโตอินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร
 ซึ่งมีปริมาณปุ๋ยโครต่างกัน

4. การศึกษาของอุณหภูมิที่มีต่อการเพิ่มปริมาณไข่ปลา

จากการนำไข่ปลาทั้ง 3 พันธุ์ มาเลี้ยงในสูตรอาหารที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 1 ได้แก่อาหารสูตรยาราสีและสกุคักแปลงที่เดิม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคโติน ในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในสถานที่เพาะเลี้ยงต่างกัน 3 แห่งดังนี้

T_1 เพาะเลี้ยงในห้องทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่องปรับอากาศ อุณหภูมิห้อง 23 - 27 องศาเซลเซียส

T_2 เพาะเลี้ยงในห้องทดลองอุณหภูมิปกติ ถ้าอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 26 - 31 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ย 28.42 องศาเซลเซียส

T_3 เพาะเลี้ยงในสถานที่ได้รับแสงตามธรรมชาติจากดวงอาทิตย์ พรางแสงด้วยหลังคาพลาสติก ถ้าอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 25 - 33 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ย 27.31 องศาเซลเซียส

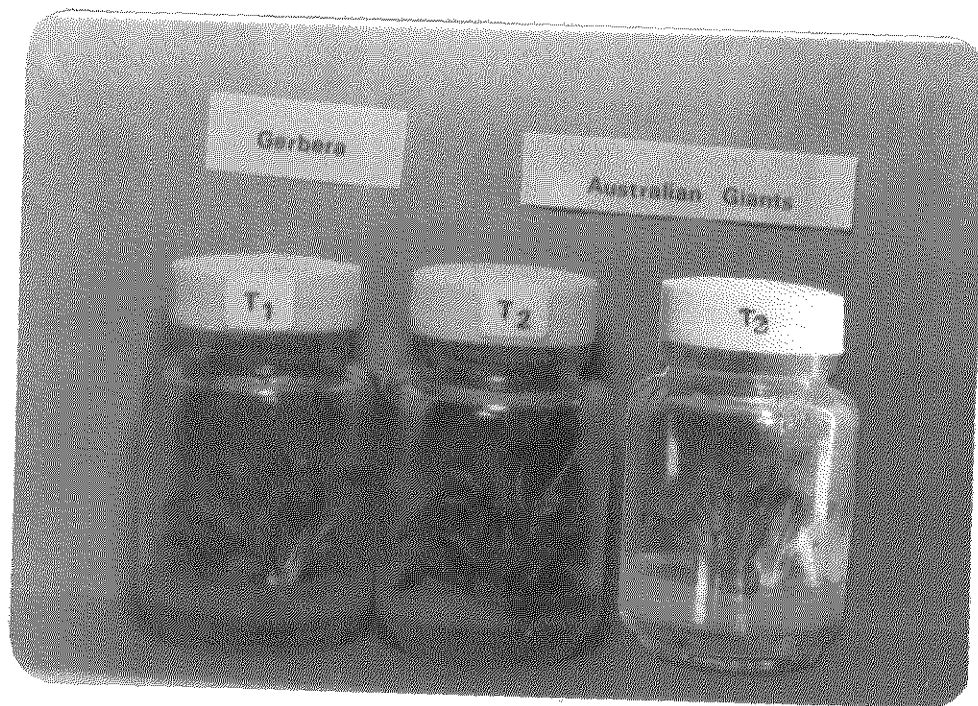
จากการเพาะเลี้ยงไข่ปลาทั้ง 3 พันธุ์ ในสภาพการเพาะเลี้ยง T_1 , T_2 และ T_3 พบว่าอุณหภูมิที่แตกต่างกันทำให้ไข่ปลาทั้ง 3 พันธุ์ เพิ่มจำนวนไข่ไม่แตกต่างกันมากนัก ค่าเฉลี่ยของการเพิ่มจำนวนตัวใกล้เคียงกัน (ตาราง 10) แต่ในสภาพการเพาะเลี้ยง T_1 , T_2 และ T_3 มีผลต่อความสมบูรณ์แข็งแรงของตัว โดยที่ในสภาพของการทดลองจะมีตัวแปรที่เกี่ยวข้องอีกตัวหนึ่งคือปริมาณแสงที่ได้รับ ในกรณีของการทดลอง T_1 และ T_2 ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์หลอดวัน ส่วนของการทดลอง T_3 ได้รับแสงจากธรรมชาติคือแสงอาทิตย์ ช่วงการได้รับแสงของการทดลอง T_3 จึงแตกต่างจากการทดลอง T_1 และ T_2 ผลการเพาะเลี้ยงไข่ปลาภายใต้การควบคุมอุณหภูมิและแสงทั้ง 3 สภาพได้ผลดังนี้ การเพาะเลี้ยงไข่ปลาในชุดการทดลอง T_1 ได้ตัวที่แข็งแรง ก้นโตยาว ใบมีขนาดใหญ่ จำนวนตัวเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 2 เดือน เฉลี่ย 6.06 ตัว แต่พันธุ์ Australian giants จำนวนตัวเฉลี่ยต่ำเพียง 5 ตัว ส่วนในชุดการทดลอง T_2 พบว่าพันธุ์ Australian giants มีจำนวนตัวเฉลี่ย 4.8 ตัว และพันธุ์ Ramona strain mixed มีจำนวนตัวเฉลี่ย 7.80 ตัว ได้ตัวที่มีก้นโต

ต้นกล้าปกติและใบมีขนาดเล็ก พันธุ์ Van wijk โค่นที่แข็งแรง มีก้านใบค่อนข้างยาว และรูปร่างใบปกติ จึงเป็นพันธุ์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิได้ในช่วงกว้างกว่าพันธุ์ Australian giants และพันธุ์ Ramona strain mixed พันธุ์ Van wijk ยังเพิ่มจำนวนต้นเฉลี่ยได้ถึง 11 ต้น สูงกว่าค่าเฉลี่ยรวมของทั้ง 3 พันธุ์ซึ่งมีจำนวนต้นเฉลี่ยเพียง 7.86 ต้น (ตาราง 10) อีกสภาพหนึ่งของการทดลองคือชุดการทดลอง T_3 ต้นที่โค่นไม่แข็งแรง ก้านใบยาวอวบเปราะหักง่าย ใบมีขนาดเล็ก รูปร่างใบเรียวยาว พันธุ์ Australian giants จะเพิ่มปริมาณต้นสูงสุดค่าเฉลี่ย 9.20 ต้น จำนวนต้นเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 2 เดือนของทั้ง 3 พันธุ์ เฉลี่ย 8.66 ต้น (ตาราง 10)

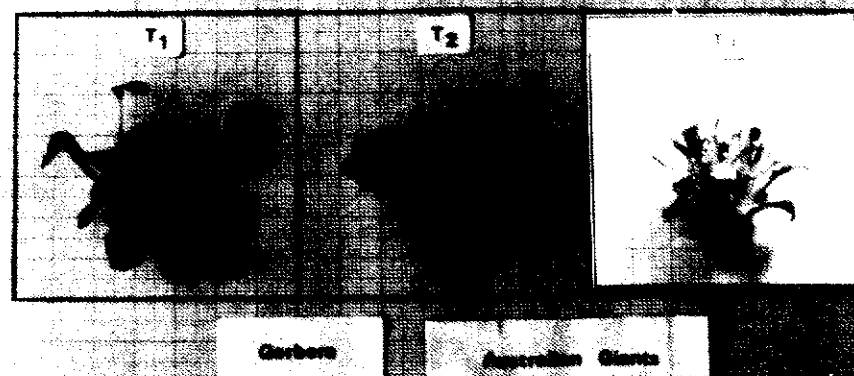
จากการทดลองถึงแนวทางการทดลอง T_3 จะให้จำนวนต้นมากแก่ต้นที่โค่นไม่แข็งแรง สภาพห้องเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมที่สุดต่อการเพาะเลี้ยงเยื่อปรีาทั้ง 3 พันธุ์ จึงต้องเพาะเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 23 - 27 องศาเซลเซียส และได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ตลอดวัน ส่วนพันธุ์ Van wijk นั้นสามารถเพาะเลี้ยงได้ในห้องที่ไม่ต้องควบคุมอุณหภูมิ แต่ต้องได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ตลอดวัน การเพาะเลี้ยงเยื่อปรีาในสภาพอุณหภูมิและแสงตามธรรมชาติเห็นถึงแม้บางพันธุ์จะให้จำนวนต้นมากแก่ต้นที่โค่นไม่แข็งแรง นอกจากนั้นยังเลี้ยงต่อการปนเปื้อนของราและแบคทีเรีย ซึ่งปัญหานี้แก้ไขได้โดยการปิดฝาขวดให้สนิท และใช้พลาสติกพ่นร้อนที่นำมาเชื้อแล้วชุบอีกครึ่งหนึ่ง จากภาพแสดงผลการทดลองจะเห็นว่าไม่สามารถถ่ายภาพการทดลองทั้ง 3 ชุดได้พร้อมกัน เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนของราและแบคทีเรียในชุดการทดลอง T_3 ผลการทดลองจึงต่ำกว่าชุดการทดลอง T_1 และ T_2 ประมาณ 2 สัปดาห์

ตาราง 10 จำนวนต้นเฉลี่ยของเยอบีรา 3 พันธุ์ จากต้นเริ่มต้น 1 ต้น เมื่อเพาะเลี้ยงในที่
อุณหภูมิต่างกัน 3 แห่ง เป็นเวลา 2 เดือน โดยเลี้ยงในอาหารสูตรมาตรฐานและสภาวะที่
ซึ่งเติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคติน 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

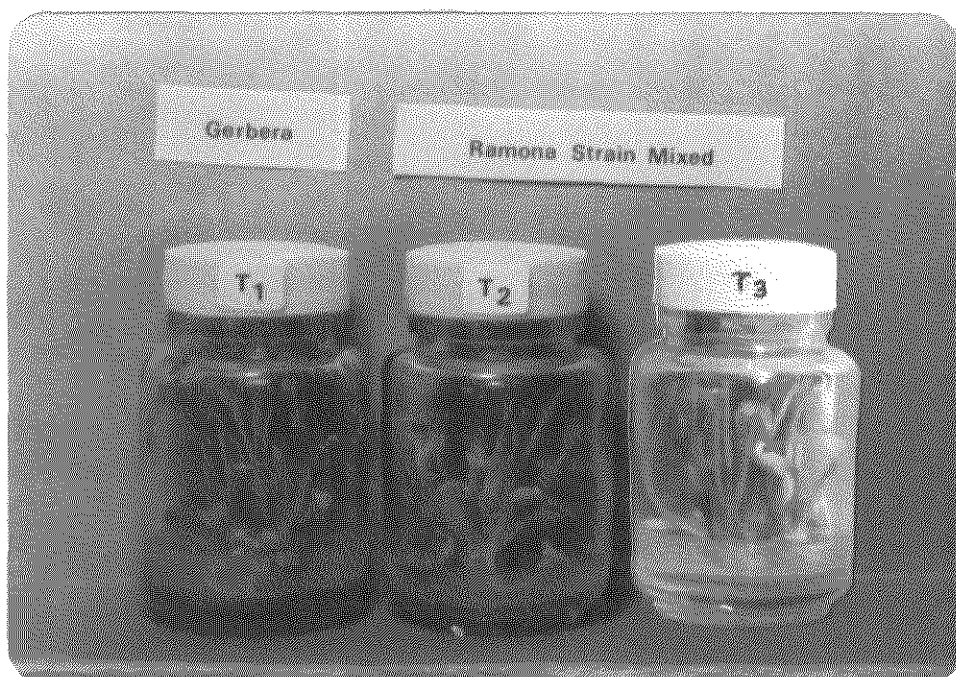
พันธุ์	อุณหภูมิ		
	T ₁	T ₂	T ₃
A	5	4.80	9.20
R	6.60	7.80	8.20
Vw	6.60	11	8.60
เฉลี่ย	6.06	7.86	8.66



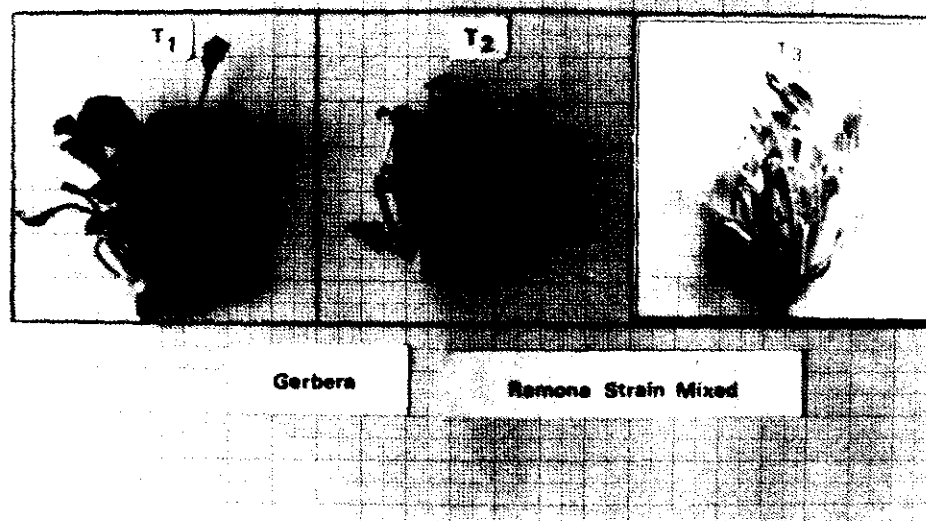
ภาพประกอบ 22 เปรียบเทียบการแตกกอของขิงเขตป่าพันธุ์ Australian giants
 ซึ่งเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรบวรวิจิตรและถูกหัดแปลงให้เติม IAA ในปริมาณ 0.25
 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคโตซินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งเลี้ยงในสภาพห้องที่มี
 อุณหภูมิและสภาพแสงแตกต่างกัน หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



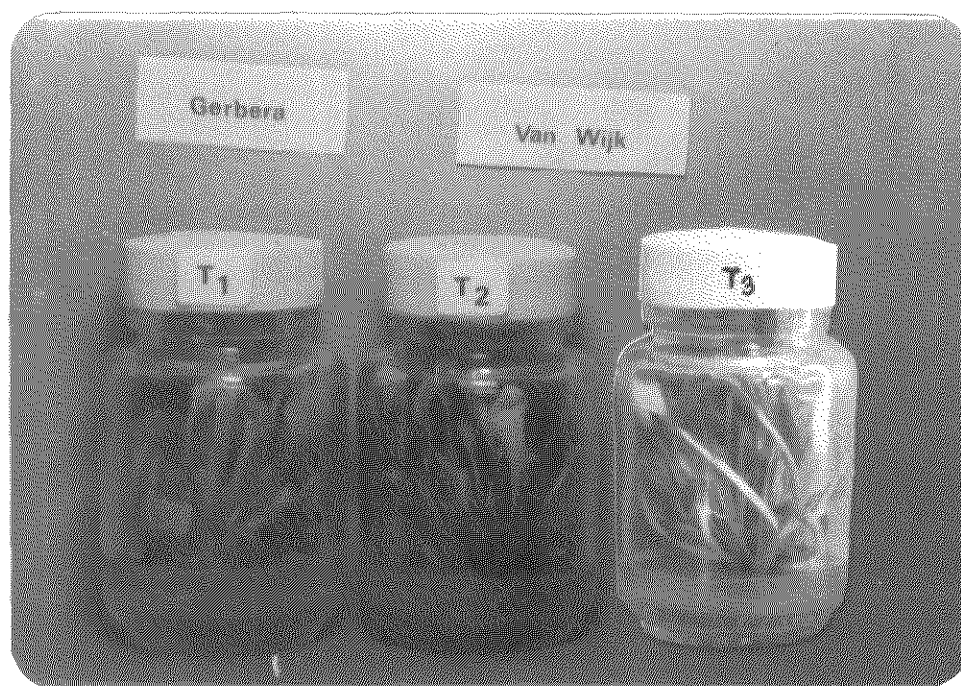
ภาพประกอบ 23 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเยอปีราพันธุ์
 Australian giants หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารแข็งสูตรมูราวิกีและถูก
 คัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนิตินในปริมาณ 4
 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเลี้ยงในสภาพห้องที่มีอุณหภูมิและสภาพแสงแตกต่างกัน



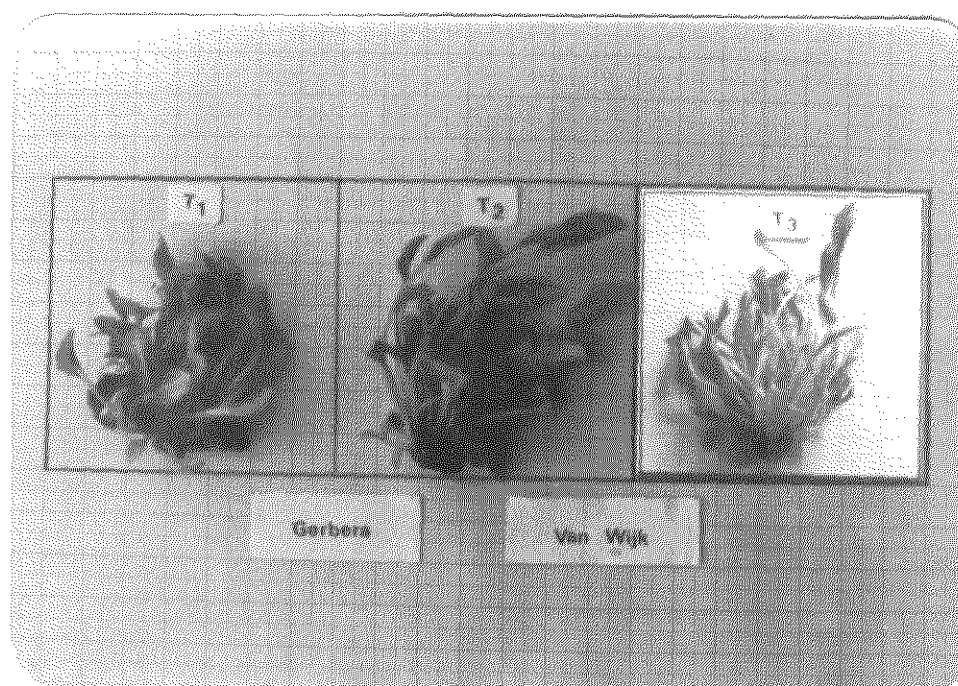
ภาพประกอบ 24 เปรียบเทียบการแตกกอของเยื่อปืราพันธุ์ Ramona strain mixed ซึ่งเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรมูราซิกิและสกุคัตต์แปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคไนทินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเลี้ยงในสภาพห้องที่ควบคุมอุณหภูมิและสภาพแสงแตกต่างกัน หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



ภาพประกอบ 25 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเขยิรา
พันธุ์ Ramona strain mixed หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารแข็งสูตร
มูราสกีและถูกดัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนีน
ในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเลี้ยงในสภาพห้องที่ปิดสนิทและสภาพแสงแตกต่างกัน



ภาพประกอบ 26 เปรียบเทียบการแตกกอของเยอบีราพันธุ์ Van wijk ซึ่งเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรราซิกิและถูกดัดแปลงที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคโตอินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเลี้ยงในสภาพห้องที่มีอุณหภูมิและสภาพแสงแตกต่างกัน หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน



ภาพประกอบ 27 เปรียบเทียบการแตกกอและลักษณะการเจริญเติบโตของเบอปีรา พันธุ์ Van wijk หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน บนอาหารแข็งสูตรนูราซีกิและถูกตัดแปลง ที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคโคดิน 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเลี้ยงในสภาพห้องที่มีอุณหภูมิและสภาพแสงแตกต่างกัน

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่าง IAA กับไคโตลินที่มีต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยอปีรา
เมื่อเพาะเลี้ยงต้นเยอปีรา (*Gerbera jamesonii* Hort.) ทั้ง 3 พันธุ์ ไคแก

พันธุ์ Australian giants พันธุ์ Ramona strain mixed และ พันธุ์ Van wijk ใน
อาหารสูตรมูราซิกิและสกุคคัลแปลง (ตาราง 1) เติบโต IAA และไคโตลินปริมาณต่างๆกัน พบว่า
เยอปีราทั้ง 3 พันธุ์ สามารถเจริญได้ในทุกความเข้มข้นของ IAA และไคโตลิน แต่ลักษณะของ
ต้นเยอปีราจะแตกต่างกัน

จากการศึกษาผลของ IAA และไคโตลินปริมาณต่างๆที่เติมลงในอาหารนั้น การเติม
IAA เพียงอย่างเดียวมีแนวโน้มในการกระตุ้นการเกิดราก ต้นเยอปีราที่นำลงเพาะเลี้ยงในอาหาร
ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือเติมเฉพาะ IAA โดยไม่เติมไคโตลิน ไคโตลินเยอปีราที่
สมบูรณ์มีรากเจริญดี แต่ไม่มีการเพิ่มจำนวนต้นใหม่ ต้นเยอปีราที่ได้สามารถนำออกปลูกใน
เครื่องปลูกได้เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 2 สัปดาห์ การใช้ IAA ความเข้มข้นต่ำๆคือ 0.25 - 0.5
มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นเยอปีราที่มีลักษณะแข็งแรงสมบูรณ์ ซึ่งอธิบายตามคำกล่าวของ
มิลเลอร์ และสกุค (Miller and Skoog) ใ้ว่าการเกิดเป็นต้น ราก หรือแคลลัสของพืช
แต่ละชนิด ขึ้นอยู่กับปริมาณสมดุลของออกซินและไซโตไคนินในอาหาร ถ้าอัตราส่วนของออกซินต่อ
ไซโตไคนินอยู่ในอัตราส่วนที่เหมาะสมเนื้อเยื่อจะเจริญเป็นรากและต้นที่สมบูรณ์ (Miller and
Skoog. 1957 : 118 - 131)

ต้นเยอปีราที่เพาะเลี้ยงเป็นต้นส่วนเริ่มต้นเมื่อย้ายลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร
มูราซิกิและสกุคคัลแปลงที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตนั้นสามารถสร้างรากได้ ทั้งนี้จะ
เนื่องมาจากภายในต้นพืชมีปริมาณออกซินและไซโตไคนินในปริมาณที่เหมาะสมที่จะกระตุ้นให้เกิด
การสร้างรากได้และเมื่อนำต้นเยอปีราที่เป็นต้นส่วนเริ่มต้นชุดเดียวกันลงเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี

IAA ปริมาณต่างๆกัน พบว่าประสิทธิภาพในการเกิดรากที่ทุกความเข้มข้นที่ทดลอง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปริมาณ IAA ที่เติมลงไปทำให้อัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินในเนื้อเยื่อสูงกว่าอัตราส่วนที่สมดุล เนื้อเยื่อจึงถูกกระตุ้นให้เจริญเป็นรากได้มาก ซึ่งมิลเลอร์และสคูกได้อธิบายไว้ว่าถ้าอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสูงกว่าอัตราส่วนสมดุลเนื้อเยื่อจะเจริญเป็นแคลลัสและราก (Miller and Skoog. 1957 : 118 - 131)

ต้นเยอปีราที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรมูราชิเกะและสคูกค์ดัดแปลง (ตาราง 1) ที่เติมไซโตไคนินในปริมาณ 2 4 6 8 10 และ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมไคนิตินความเข้มข้นดังกล่าวร่วมกับ IAA ในปริมาณ 0.25 0.50 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทุกความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกระตุ้นให้เกิดการสร้างต้นใหม่ได้ทั้งหมด แต่จะได้จำนวนต้นใหม่และความสมบูรณ์แข็งแรงของต้นแตกต่างกัน แสดงให้เห็นถึงผลรวมของ IAA และไคนิตินที่กระตุ้นให้เกิดการสร้างต้นใหม่ อาหารที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนิตินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงเยอปีราเพื่อเพิ่มปริมาณต้น ถึงแม้จำนวนต้นที่ได้ไม่สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติม IAA และไคนิตินในปริมาณอื่นก็ตามแต่ได้ต้นที่แข็งแรงกว่า

ต้นเยอปีราที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมเฉพาะไคนิตินความเข้มข้นในช่วง 10 - 12 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งอาหารที่เติมทั้งไคนิตินความเข้มข้นสูงร่วมกับ IAA ไคนิตินเยอปีราจำนวนมากแก่ต้นที่ไคนิตินกระตุ้น จึงเป็นสูตรอาหารที่ไม่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้น มิลเลอร์และสคูกกล่าวว่าอาหารที่เติมไคนิตินความเข้มข้นสูงเกินไปทำให้การเจริญเติบโตของต้นลดลง (Miller and Skoog. 1957 : 118 - 131) ซึ่งการทดลองของโอกะซะวะและคนอื่นๆ (Okazawa and others) เพาะเลี้ยงมันฝรั่ง กุนิซะกิ (Kunisaki) เพาะเลี้ยงหน่อกล้วย ฟอนเนสเบช (Fomesbech) เลี้ยงปลายยอดของกล้วยไม้คิมิเดียม (Cymbidium) ได้รายงานไว้ตรงกันว่าเมื่อเติมไซโตไคนินความเข้มข้นสูงมีผลยับยั้งการเจริญเติบโต ทำให้รูปร่างของพืชผิดปกติและแคระแกรน (Okazawa and others. 1967 : 862 - 869; Kunisaki. 1980 : 508 - 509; Fomesbech. 1972 : 310 - 316) ซึ่งลักษณะเหล่านี้พบ

ในการเพาะเลี้ยงเยื่อปรีราเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติม IAA ร่วมกับไคโตลินความเข้มข้นสูงๆ เช่นกัน และในการเพาะเลี้ยงเยื่อปรีราโดยมูราซิกิ เซอร์ปา และโจนส์ (Murashige, Serpa and Jones) ทำให้เห็นถึงผลของไคโตลินที่เติมลงในอาหารเกินกว่าปริมาณที่พอเหมาะจะไม่มีผลในการกระตุ้นให้จำนวนต้นเพิ่มขึ้น (Murashige, Serpa and Jones. 1974 : 175 - 180)

จากการเพาะเลี้ยงเยื่อปรีรา 3 พันธุ์ พบว่าการตอบสนองต่อปริมาณของ IAA และไคโตลินแตกต่างกันไปบ้าง ทั้งรูปร่างลักษณะและการเจริญของส่วนต่างๆ เช่น การสร้างรากของเยื่อปรีราทั้ง 3 พันธุ์นี้ พันธุ์ Australian giants สามารถสร้างรากได้ในอาหารที่เติมไคโตลินปริมาณต่ำ และพันธุ์ Van wijk สร้างรากได้บ้างในอาหารที่เติมไคโตลินปริมาณต่ำ แต่สร้างได้ในร่างที่จำกัดกว่าพันธุ์ Australian giants ส่วนพันธุ์ Ramona strain mixed ไม่สร้างรากเลยถึงแม้เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไคโตลินเพียงเล็กน้อย นอกจากนั้นรูปร่างลักษณะของเยื่อปรีราพันธุ์ Australian giants ยังมีลักษณะที่แตกต่างออกไป คือ ก้านใบสั้น แผ่นใบกลม มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนต้นค่อนข้างต่ำกว่าพันธุ์ Ramona strain mixed และพันธุ์ Van wijk ส่วนพันธุ์ Van wijk เป็นพันธุ์ที่มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนต้นได้สูงกว่าพันธุ์อื่น ลักษณะที่แตกต่างกันดังกล่าวนี้อาจจะเป็นผลจากความแตกต่างกันทางพันธุกรรม ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการสร้างออกซินและไซโตไคนินภายในพืช ทำให้พันเยื่อปรีราต่างพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงในสภาพเดียวกันมีการตอบสนองแตกต่างกันไปบ้าง แต่เยื่อปรีราทั้ง 3 พันธุ์จะเพิ่มปริมาณได้ดีและต้นที่ได้สมบูรณ์แข็งแรง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรมูราซิกิและสกุคค์ดัดแปลง (ตาราง 1) ที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรและไคโตลินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของ IAA และไคโตลินที่สูงหรือต่ำกว่านี้ทำให้ได้ต้นน้อย หรือได้ต้นที่มีลักษณะไม่สมบูรณ์ ไม่เหมาะที่จะใช้ในการขยายพันธุ์ต่อไป

จากการทดลองพบว่าอาหารสูตรมูราซิกิและสกุคค์ดัดแปลงที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ต้นเยื่อปรีราที่สมบูรณ์แข็งแรง และให้จำนวนต้นมากที่สุดของเติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคโตลินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอัตราส่วนของสารเร่งการเจริญ

เติบโตที่ต่ำกว่าที่มูราซิกิและสกุโกทดลองเพาะเลี้ยงเยื่อปรางไว้เมื่อปี ค.ศ. 1974 ซึ่ง รายงานว่าอาหารที่เติม IAA ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสัดส่วนของสารเร่งการเจริญเติบโตที่ให้ต้นจำนวนมากที่สุด จากการทดลองนี้จึง เป็นแนวทางในการเพาะเลี้ยงเยื่อปราง โดยใช้สารเร่งการเจริญเติบโตที่น้อยลง ซึ่งก็ให้ต้นที่ สมบูรณ์แข็งแรงไม่แคระแกรน และช่วยลดต้นทุนในการผลิตลงได้อีกทางหนึ่ง

2. การศึกษา pH ของอาหารที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยื่อปราง

เมื่อเพาะเลี้ยงเยื่อปรางในอาหารสูตรมูราซิกิและสกุโกดัดแปลง (ตาราง 1) ที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคนินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเพาะเลี้ยง ในสภาพ pH ของอาหาร 7 ถ้าได้แก่ 4 4.5 5 5.5 6 6.5 และ 7 พบว่าเยื่อปราง ทั้ง 3 พันธุ์ ตอบสนองต่อค่า pH ที่ทดลองเหมือนกันโดย pH ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนต้น แต่จะมีผลต่อความสมบูรณ์แข็งแรงของต้น แสดงให้เห็นว่าเยื่อปรางตอบสนองต่อ pH ของอาหารได้ใน ช่วงกว้าง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ อรดี อินทวงศ์ (Intuwong) ที่ได้ศึกษาการ ขยายพันธุ์ของกล้วยไม้ฟาแลนอปซิส (Phalaenopsis) โดยเลี้ยงในอาหารสูตรวาชินและเวนท์ ที่มีค่า pH ของอาหารต่างกัน ตั้งแต่ 4.5 - 6.5 ทั้งโปรโตคอร์มและต้นสามารถเจริญได้ดี ในทุก pH ของอาหารที่เพาะเลี้ยง (Intuwong. 1974 : 50 - 51) แต่ในพืชบางชนิด pH ของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงมีผลต่อการเจริญของพืชเป็นอย่างมาก เช่นการเพาะเลี้ยง เอนโดสเปิร์มของข้าวโพด เจริญดีเมื่อปรับ pH ของอาหารเป็น 6.1 (Straus and Larue. 1954 : 687 - 694) ในการเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงจึงต้องปรับ pH ของอาหาร ให้ได้ตามที่พืชชนิดนั้นๆต้องการ pH ของอาหารที่เหมาะสมคือ pH 5.7 - 5.8 ซึ่งมูราซิกิและ สกุโก (Murashige and Skoog) กล่าวว่าที่ pH นี้สารประกอบต่างๆที่เตรียมขึ้นเพื่อเป็น อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังคงสภาพเดิมอยู่ได้ เช่น มีปริมาณฟอสเฟต (phosphate) ละลายอยู่เพียงพอที่จะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงมีการเจริญเปลี่ยนแปลงต่อไปได้ (Murashige and Skoog. 1962 : 473 - 497) นิตซ์ และนิตซ์ (Nitsch and Nitsch) ได้รวบรวมผลการศึกษา pH ของอาหารจากผลการทดลองของชิเมนนี และชไนเคอร์

(Thimann and Schneider) บันเนอร์ (bonner) โคเกิล และคนอื่นๆ (Kogl and others) ฟรอสต์ และแมคอินไทร์ (Frost and McIntire) ซึ่งกล่าวสอดคล้องกับ มูราซิกิและสกุว่า pH ของอาหาร มีผลต่อการตกตะกอนของสารประกอบฟอสเฟต สารประกอบของโลหะหนักอื่นๆ และความแข็งหรือเหลวของอาหารวุ้น นอกจากนั้น pH ของอาหารยังมีผลต่อการคงสภาพของ IAA เมื่อ pH เปลี่ยนแปลงจึงมีผลต่อการตอบสนองของพืชต่อ IAA และ pH ของอาหารจะเปลี่ยนแปลงในขณะโง่ฆ่าเชื้อ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสารอินทรีย์ที่เติมลงในอาหาร (Nitsch and Nitsch. 1956 : 839 - 851) pH ของอาหารจึงมีผลต่อการใช้สารต่างๆ ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเยื่อปรีนาในอาหารที่มีค่า pH ค่าคือ 4 และ 4.5 ถึงแม้ว่าจะเพิ่มจนถึง 0.8 เปอร์เซ็นต์แล้วก็ตามอาหารยังคงมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ซึ่งเป็นผลของ pH ที่มีผลต่อการแข็งตัวของวุ้น ที่ pH ดังกล่าวต้นเยื่อปรีนาเจริญดีในระยะแรก แต่ตายในอาหารเกินนานกว่า 1 เดือน ต้นเยื่อปรีนาแสดงอาการใบเหลืองและตายในที่สุด ทั้งนี้ อาจเกิดจากพืชขาดไนโตรเจน ซึ่งเนื่องมาจากเมื่อ pH ค่าทำให้ความสามารถในการใช้ประโยชน์จากสารอาหารที่มีอยู่ลดน้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ มาร์ติน และคนอื่นๆ (Martin and others) ไคกอลด์ และเวอร์มา (Dougall and Verma) ซึ่งกล่าวว่าในการเพาะเลี้ยงเซลล์พืช (cell culture) จะต้องปรับ pH ของอาหารให้เกินกว่า 5.0 เซลล์พืชจึงจะสามารถใช้แอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) เพื่อเป็นแหล่งของไนโตรเจนได้ (Martin and others. 1977 : 2838 - 2843, Dougall and Verma. 1978 : 180 - 182) สำหรับการเพาะเลี้ยงเยื่อปรีนาในการทดลองครั้งนี้ pH ของอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นอยู่ในช่วง pH 5 - 6

3. การศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลระดับต่างๆที่มีต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยื่อปรีนา

เมื่อเพาะเลี้ยงเยื่อปรีนาในอาหารสูตรมูราซิกิและสกุที่ดัดแปลง (ตาราง 1) ที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคโคตินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อ

ทดสอบถึงผลของปริมาณน้ำตาที่ต่อการเพาะเลี้ยงเยื่อปรีรา ซึ่งได้ศึกษาความเข้มข้นของ
ซูโครส 12 ระดับ ตั้งแต่ 0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 และ 5.5
เปอร์เซ็นต์ ปริมาณซูโครสที่เหมาะสมต่อการเกิดต้นใหม่อยู่ในช่วง 3 - 3.5 เปอร์เซ็นต์

เมื่อเพาะเลี้ยงเยื่อปรีราบนอาหารที่ไม่เติมซูโครส หรือเติมซูโครสความเข้มข้นต่ำ
ในช่วง 0.5 - 1.5 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้ต้นเยื่อปรีราเจริญเติบโตขึ้นเท่าเดิมถึงแม้ว่าจะเพาะ
เลี้ยงจนครบ 2 เดือน ต้นกลับอ่อนแอและแกรน ใบมีสีเขียวใส ทั้งนี้อาจเกิดจากต้น
เยื่อปรีราขาดแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต โธร์ปี (Thorpe) มูราชิเก และสคูก
(Murashige and Skoog) กล่าวว่าโครงข่ายซูโครสเป็นแหล่งของคาร์บอนที่สำคัญทำหน้าที่
เป็นสารให้พลังงาน ส่วนมากใช้ซูโครสความเข้มข้น 2 - 4 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเนื้อเยื่อเยื่อ
เจริญดีในอาหารที่เติมซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ (Thorpe. 1974 : 115 - 132 Murashige
and Skoog. 1962 : 473 - 497)

การใช้ซูโครสความเข้มข้นต่ำหรือสูงกว่าปริมาณที่เหมาะสมจะไปยับยั้งการเจริญ
ของพืช เมื่อใช้ซูโครสความเข้มข้นสูงในช่วง 4 - 5.5 เปอร์เซ็นต์ ต้นเยื่อปรีราเจริญเติบโต
อย่างรวดเร็วให้จำนวนต้นมากในระยะแรก เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปพบว่าความแข็งแรงของต้น
ลดลง ก้านใบยาวอวบเปราะหักง่าย ใบอวบน้ำมีสีเขียวใส ซึ่งจากการทดลองของ ทะกะยะมะ
และมิซาวะ (Takayama and Misawa) รายงานว่าปลายยอดของดิสคิเลียในอาหารที่เติม
ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โตกลับหัวเจริญดีกว่าเมื่อเติมซูโครส 90 กรัมต่อลิตร ซึ่งยับยั้งการเจริญ
ของกลีบหัวเป็นผลจากซูโครสความเข้มข้นสูงที่เติมลงในอาหารไปยับยั้งการทำงานของไซโตไคนิน
(Takayama and Misawa. 1982 : 353 - 362)

ความสำคัญของซูโครสประการหนึ่งคือ ซูโครส ออกซิน และไซโตไคนินในปริมาณ
ที่เหมาะสมจะทำงานร่วมกันโดยกระตุ้นการสร้างท่อลำเลียงน้ำและอาหาร (Reinert and
Bajaj. 1975 : 675) เดนนิส และเดวิด (Dennis and David) พบว่าซูโครส 2
เปอร์เซ็นต์ กระตุ้นการสร้างท่อลำเลียงน้ำ ซูโครส 4 เปอร์เซ็นต์ กระตุ้นให้พืชสร้างท่อลำเลียง
อาหาร และถ้าใช้ซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ พืชจะสร้างทั้งท่อลำเลียงน้ำและอาหาร (Dennis
and David. 1976 : 21)

นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์หลายชนิด เพื่อนำไปใช้สร้างโครงสร้างทางกิ่งของรูปของกีฮอร์และเมห์ตา (Kishor and Mehta) ที่เพาะเลี้ยงแคลลัสของยาสูบและฝ้าย พบว่าแคลลัสของยาสูบสามารถเกิดขึ้นได้ แต่ไม่สามารถเลี้ยงแคลลัสของฝ้ายให้เกิดยอดและรากได้ เพราะปริมาณแป้งที่สะสมไว้มาก่อนการสร้างยอดและรากแตกต่างกัน ซึ่งในขณะที่มีการสร้างยอดและรากนั้นแป้งที่ถูกสะสมไว้ถูกทำลายอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส (amylase) เพิ่มขึ้น (Kishor and Mehta 1982 : 143 - 144)

ปริมาณฮอร์โมนที่พอเหมาะสำหรับพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน ดังเช่น โรสต์ และ โบเคิลแมนน์ (Roest and Bokelmann) เลี้ยงฐานรองดอกของไฟร์ทรีมเกิดขึ้นได้ในอาหารที่เติมฮอร์โมน 0.5 เปอร์เซ็นต์ (Roest and Bokelmann. 1973 : 120 - 122) ส่วนการเพาะเลี้ยงเยื่อปรีรา นั้น มูราชิเก เซร์ปา และโจนส์ (Murashige, Serpa and Jones) เลี้ยงปลายยอดในอาหารที่มีฮอร์โมน 4.5 เปอร์เซ็นต์ ชูว์ และหวาง (Chu and Huang) เลี้ยงก้านช่อดอกในอาหารที่มีฮอร์โมน 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารอื่นๆกระตุ้นให้สร้างต้นได้ (Murashige, Serpa and Jones. 1974 : 175 - 180, Chu and Huang. 1983 45 - 50) ชิ้นส่วนของพืชจึงเป็นอีกสิ่งหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับปริมาณสารที่พอเหมาะในอาหาร เพาะเลี้ยงเพื่อกระตุ้นให้เกิดส่วนของพืชที่ต้องการ สำหรับการเพาะเลี้ยงเยื่อปรีราจากต้นที่เพาะจากเมล็ดนั้น ปริมาณฮอร์โมนที่พอเหมาะในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์อยู่ในช่วง 3 - 3.5 เปอร์เซ็นต์

4. การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นเยื่อปรีรา

เมื่อเพาะเลี้ยงต้นเยื่อปรีราในอาหารสูตรมูราชิเกและสจุกกัคคัลเลง (ตาราง 1) ที่เติม IAA ในปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคไนตินในปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเพาะเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิแตกต่างกัน 3 สภาพ ต้นเยื่อปรีราเจริญดีในหึ่งเพาะเลี้ยงที่ควบคุมอุณหภูมิ 23 - 27 องศาเซลเซียส ได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ตลอดวัน ถึงแม้ว่าจำนวน

ต้นที่โตไม่สูงสุดแต่โคนมีสมบูรณ์แข็งแรงกว่าต้นที่เลี้ยงในสภาพอุณหภูมิห้องตามธรรมชาติ อุณหภูมิ 26 - 31 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่กว้างกว่า ต้นที่ได้มีความสมบูรณ์น้อยกว่า ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะค่าของอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงในช่วงกว้างมีผลต่อปฏิกิริยาเคมีและความสามารถในการทำงานของเซลล์ ซึ่ง กัทธีเรท (Gautheret) กล่าวว่า การเพาะเลี้ยงพืชที่อุณหภูมิพอเหมาะ พืชสามารถสร้างเนื้อเยื่อเจริญซึ่งจะพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อชนิดอื่นต่อไป โดยทั่วไปพืชแต่ละชนิดจะเจริญในอุณหภูมิที่พอเหมาะขนาดหนึ่ง การใช้อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิพอเหมาะมีแนวโน้มที่เนื้อเยื่อจะเจริญพัฒนาไปเป็นราก แต่การใช้อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิพอเหมาะเป็นการกระตุ้นให้พืชสร้างเนื้อเยื่อเจริญ (Gautheret. 1969 : 702 - 717)

นอกจากนั้นอุณหภูมิยังมีผลต่อการสร้างและสะสมสารภายในเซลล์พืช เกาท์แมน เบียร์ค และเพนเนอร์ (Kaufman, Beard and Penner) ได้รวบรวมผลการศึกษาค้นคว้าของ อุณหภูมิที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากผลการทดลองของ สมิทท์ และเบลเซอร์ (Schmidt and Blazer) ยังเนอร์ และนัจจ์ (Youngner and Nudge) กล่าวว่าอุณหภูมิสูงยับยั้ง การเจริญเติบโตของพืชเนื่องจากคาร์โบไฮเดรตที่เก็บสะสมไว้ถูกใช้หมดไป ยูนิส และคนอื่นๆ (Younis and others) ชราเดอร์ และคนอื่นๆ (Schrader and others) เฮจแมน และเฟลเชอร์ (Hageman and Flesher) กล่าวถึงผลของอุณหภูมิที่มีต่อการใช้สารประกอบไนโตรเจนว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเป็นผลให้ปริมาณ nitrate reductase สูงขึ้นซึ่งเอนไซม์นี้ เกี่ยวข้องกับการใช้สารประกอบไนโตรเจนของเซลล์ เช่น การสร้างกรดอะมิโน (Kaufman, Beard and Penner. 1971 : 378 - 381)

พืชแต่ละชนิดเจริญได้ดีในอุณหภูมิต่างกันซึ่งอยู่ในช่วง 20 - 30 องศาเซลเซียส พืชบางชนิดเจริญได้ดีเมื่อใช้อุณหภูมิสูงและต่ำสลับกันในช่วงวันของการเพาะเลี้ยง พืชบางชนิดเจริญได้ดีในสภาพอุณหภูมิคงที่ (Thrope. 1982 : 115 - 138) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วไปใช้อุณหภูมิคงที่ประมาณ 25 องศาเซลเซียส (ไพญญ์ กวินเลิศวัฒนา 2524 : 81) ในการเพาะเลี้ยงเยื่อปรางีให้ผลเช่นเดียวกัน ต้นเยื่อปรางีเจริญดีและให้ต้นจำนวนมาก เมื่อเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่ควบคุมอุณหภูมิ 23 - 27 องศาเซลเซียส ส่วนการเพาะเลี้ยงเยื่อปรางีใน

สภาพแสงและอุณหภูมิตามธรรมชาติได้ทันทีที่ไม่แข็งแรง ดังนั้นการที่จะเพาะเลี้ยงเยื่อปรีราในสภาพเช่นเดียวกันกับการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ก่อนนำออกปลูก โดยเพาะเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิและแสงตามธรรมชาตินั้นไม่สามารถทำได้ นอกจากอุณหภูมิในช่วงกว้างที่ไม่เหมาะสมแล้วปริมาณแสงทั้งความเข้มและระยะเวลาของการได้รับแสงยังไม่เพียงพอต่อการเจริญของเยื่อปรีรา เนื่องจากต้นเยื่อปรีราที่เพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมเช่นนี้ได้ต้นที่มีก้านใบยาว ใบมีขนาดเล็กมากและสีไม่เขียวเข้ม แสดงว่าพืชไม่สามารถสร้างคลอโรฟิลล์และสังเคราะห์แสงได้เต็มที่

จากการเพาะเลี้ยงเยื่อปรีรา 3 พันธุ์ ในสภาพอุณหภูมิต่างกัน พันธุ์ Van Wijk เป็นพันธุ์ที่เจริญดีและให้จำนวนต้นได้มากในสภาพอุณหภูมิห้องที่ได้รับแสงตลอดวัน แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่เยื่อปรีราพันธุ์ไทยต่อสภาพอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงได้ในช่วงกว้าง เยื่อปรีราพันธุ์นี้จึงอาจทนต่อสภาพอุณหภูมิได้สูงกว่าพันธุ์ Australian giants และพันธุ์ Ramona strain mixed

เนื่องจากเยื่อปรีราพันธุ์ยุโรปเจริญดีในสภาพอากาศเย็น เยื่อปรีราพันธุ์ยุโรปที่ปลูกในประเทศไทยจึงปลูกทางภาคเหนือที่จังหวัดเชียงใหม่เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งให้ผลผลิตที่ไม่แพทางประเทศ ถ้าสามารถคัดเลือกพันธุ์ที่ทนร้อนได้จะทำให้การปลูกเยื่อปรีราพันธุ์ยุโรปปลูกได้ในหลายพื้นที่มากขึ้นเป็นการเพิ่มผลผลิตได้อีกทางหนึ่ง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทดลองหาอัตราส่วนและความเข้มข้น ของออกซินและไซโตไคนินตัวอื่น ๆ ในการกระตุ้นให้เกิดต้นจำนวนมากและแข็งแรง และกระตุ้นให้เกิดราก
2. ควรทดลองใช้การึงยกรของสภาพความแห้ง และเหลวของอาหารวุ้น โดยเพิ่มวุ้นในอาหารปริมาณต่าง ๆ กัน
3. ควรทดลองหาความเข้มข้นของแสงที่เหมาะสม และหาระยะเวลาในการให้แสง ต่อวัน เพื่อให้ได้ต้นยอดมีรากจำนวนมากและแข็งแรง
4. หาพันธุ์ที่ทนเพื่อนำปลูกในสถานที่ต่าง ๆ ได้อย่างกว้างขวาง
5. ควรทดลองหาวิธีที่ดีที่สุดในการย้ายต้นยอดมีรากออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ให้สามารถมีชีวิตรอดได้มากที่สุด

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- ชัยชนะ เกษะศิลป์พิทักษ์ "เยอบีราพันธุ์ยุโรป" วารสารพืชสวน 10 : 11 - 14, 2526
- ไพฑูริย์ กวินเลิศวัฒนา หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 2524, 109 หน้า
- รกรอง วิเศษสุวรรณ และอรดี สหวัชรินทร์ "เทคนิคการเพาะเมล็ดและการเพิ่มปริมาณต้นเยอบีราในอาหารวิทยาศาสตร์" ใน รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่ 22 ภาคโปสเตอร์ หน้า 106 - 111 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2527
- สมเพียร เกษมทรัพย์ ไม้คอกกระถาง โรงพิมพ์อักษรพิทยา กรุงเทพมหานคร 2524, 244 หน้า
- สาบสมร มุขลาย การเปรียบเทียบอัตราการงอกของเมล็ดและการเพิ่มปริมาณต้นเยอบีราบางพันธุ์ในอาหารวิทยาศาสตร์ บัญหาพิเศษ กศ.ม. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร 2527, 42 หน้า พิมพ์ดีด
- อรดี สหวัชรินทร์ "ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทางด้านการเกษตร" วารสารพืชสวน 14 : 35 - 43, 2522
- _____. "การเพาะเลี้ยงอวัยวะของพืช 1. การเพาะเลี้ยงราก" วารสารพืชสวน 15 : 31 - 37, 2523
- _____. สูตรอาหารวิทยาศาสตร์สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ห้างหุ้นส่วนจำกัด พันธุ์พืชบลิ้ง 2526, 23 หน้า
- _____. คู่มือเกษตรกร เอกสารทางวิชาการ ฉบับที่ 2 สมาคมค้าปุ๋ยและธุรกิจการเกษตรไทย 143 - 147, 2527
- อุบลพงษ์ แสงวนิช การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์เยอบีราโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของเยอบีรา ปริญญาโท วท.ม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2519, 66 หน้า อัดสำเนา

- Bajaj, Y.P.S. and M. Mader. "Growth and Morphogenesis in Tissue Cultures of Anacallis arvensis," Physiol Plant. 32 : 43 - 40, 1974.
- Ben - Jaacov, J. and R.W. Langhans. "Rapid Multiplication of Chrysanthemum Plants by Stem Tip Proliferation," Hort Science. 7 : 289 - 290, 1972.
- Chaturvedi, H.C. and G.C. Mitra. "Clonal Propagation of Citrus from Somatic Callus Cultures," Hort Science. 9(2) : 116 - 120, 1974.
- Chien Y.C. and H.C. Huang. "In Vitro Formation of Gerbera (Gerbera hybrida Hort.) Plantlets Through Excised Scape Culture," J. Japan Soc.Hort. Sci. 52(1) : 43 - 50, 1983.
- Chvojka, L., K. Veres and J. Kozel. "The Effect of Kinins on The Growth of Apple - tree Buds and on Incorporation of Radioactive Phosphate," Biol. Plant. 3 : 140 - 147, 1961.
- Dennis N.E. and D.S. Ingram. Plant Tissue Culture. The Camelot Press Ltd, Southampton, 1976. 67 p.
- Dougall, D.K. and D.C. Verma. "Growth and Embryo Formation in Wild - carrot Suspension Cultures with Ammonium Ion as a Sole Nitrogen Source," In Vitro. 14 : 180 - 182, 1978.
- Earle, E.D. and J.G. Torrey. "Morphogenesis in Cell Colonies Grown from Convolvulus Cell Suspensions Planted on Synthetic Media," Am. J. Bot. 52 : 891 - 899, 1965.
- Earle, E.D. and R.W. Langhans. "Propagation of Chrysanthemum In Vitro I. Multiple Plantlets from Shoot Tips and the Establishment of Tissue Culture," J. Amer. Soc. Hortic. Sci. 99 : 182 - 182, 1974 a.
- Propagation of Chrysanthemum In Vitro II. Production Growth and Flowering of Plantlets from Tissue Culture," J.Amer.Soc.Hortic. Sci. 99 : 352 - 356, 1974 b.

Evans, D.A., W.R. Sharp and C.E. Flick. "Growth and Behavior of Cell Cultures," in D.T. Tomes and others, ed. Application of Plant Cell and Tissue Culture to Agriculture and Industry, P. 45 - 113, University of Guelph, Canada, 1982.

Evans, D.A. and R.H. Sharp. "Application of Tissue Culture Technology in the Agricultural Industry," in D.T. Tomes and others, ed. Application of Plant Cell and Tissue Culture To Agriculture and Industry. p. 210 - 211, University of Guelph, Canada, 1982.

Fennosbech, H. "Growth Hormones and Propagation of Cymbidium in Vitro," Physiol Plant. 27 : 310 - 316, 1972.

_____. "The Influence of NAA, BA and Temperature on Shoot and Root Development from Begonia cheimanthus Petiole Segments Grown In Vitro," Physiol Plant. 32 : 49 - 54, 1974.

✓ _____ . "Temperature on Shoot and Root Development from Begonia cheimanthus Petiole Segment Grown In Vitro," Physiol Plant. 32 : 202 - 205, 1974.

✓ Fridborg, C. "Growth and Organogenesis in Tissue Culture of Allium cepa var Proliferum," Physiol Plant. 25 : 436 - 440, 1971.

Gautherot, R.J. "Sur La Possibilité de Realiser La Culture Indéfinie des Tissure de Tubercules de Carotte," C.R. Hebel. Seanc. Acad. Sci., Paris 206 : 118 - 121, 1939.

_____. "Investigation on the Root Formation in the Tissue of Helianthus tuberosus Cultured In Vitro," Am. J. Bot. 56(7) : 702 - 717, 1969.

Intuwong, O. Clonal Propagation of Phalaenopsis. Doctor's Thesis. University of Hawaii, 1974. 81 p. mimeographed.

Jaacev B. and R.W. Langhans. "Rapid Multiplication of Chrysanthemum Plant by Stem Tip Proliferation," Hort Science. 7(3) : 289 - 290, 1972.

- Kaufmann, J.E., J.B. Beard and D. Penner. "The Influence of Temperature on Nitrate -- reductase Activity of Agrostis palustris and Cynodon dactylon," Physiol Plant., 25 : 378 - 384, 1971.
- Kavi Kishor, P.M. and A.R. Mohita. "Some Aspects of Carbohydrate Metabolism in Organ Differentiating Tobacco and Non - differentiating Cotton Callus Culture," in Proc. 5th Intl. Cong. Plant Tissue & Cell Culture. p. 143 - 144, 1962.
- Kunisaki, J.T. "In Vitro Propagation of Anthurium andraeanum Lind.," Hort Science. 15(4) : 500 - 502, 1980.
- Martin, S.M., D. Rose and V. Kui. "Growth of Plant Cell Suspension Culture with Ammonium as the Sole Source of Nitrogen," Can.J.Bot. 55 : 2030 - 2043, 1977.
- Meyer, H.M. Jr. "Propagation of Daylilies (Homocallis sp.) by Tissue Culture," Hort Science. 11 : 405 - 407, 1976.
- Miller, C.O. and F. Skoog. "Chemical Control of Bud Formation in Tobacco Stem Segments," Am. J. Bot. 40 : 760 - 773, 1953.
- _____. "Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissue Cultured In Vitro," Sym. Soc. Exp. Biol. 11 : 110 - 131, 1975.
- Murashige, T. and F. Skoog. "A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assay with Tobacco Tissue Culture," Physiol Plant. 15 : 473 - 497, 1962.
- Murashige, T., H. Serpa and J.B. Jones. "Clonal Multiplication of Gentiana Through Tissue Culture," Hort Science. 9 : 175 - 180, 1974.
- Murashige, T. "Plant Propagation Through Tissue Cultures," Ann.Rev. Plant Physiol. 25 : 135 - 166, 1974.
- _____. "The Impact of Tissue Culture on Agriculture," in T.A.Thorpe, ed., Frontiers in Plant Tissue Culture 1978. p. 15 - 26 Univ. of Calgary Press, Calgary, 1978.

- Nitsch, J.P. and C. Nitsch. "Auxin - dependent Growth of Excised Helianthus tuberosus Tissue. I." Amer. J. Bot., 43 : 859 - 851, 1956.
- Nobecourt, P. "sur la Perennite et l' Augmentation de Volume des de Tissue Vegetaux," C.R.Seanc. Soc. Biol., 130 : 1270 - 1271, 1939 a.
- Oglesby, R.P. "Tissue Cultures of Ornamentals and Flowers : Problems and Perspectives," in R.W. Hughes et al., eds. Propagation of Higher Plants Throug Tissue Culture. p. 59 - 61, U.S. Dept. Energy, Washington, 1978.
- Okazawa, Y., H. Katsura and T. Tagawa. "Effect of Auxin and Kinetin on the Development and Differentiation of Potato Tissue Culture In Vitro," Physiol Plant., 20(4) : 662 - 669, 1967.
- Orikowski, L., J. Hotman and D. Tjia. "Control of Seed Borne Botrytis cinerea (Pers ex. Fr.) on Gerbera jamesonii Bolus.," Hort Science. 9 : 238 - 240, 1974.
- Pierik, R.L.H., H.H.H., Stoermans and J.J. Narelis. "Gerbera Plantlets from In Vitro Cultivated Capitulum Explants," Scientia Horticulturæ. 1 : 117 - 119, 1973.
- Pierik, R.L.H. and J.L.H. Jansen, A. Maasdam and C.M. Binnendijk. "Optimalization of Gerbera Plantlet Production from Excised Capitulum Explants," Scientia Horticulturæ. 3 : 351 - 357, 1975.
- _____. "Effect of Cytokinin and Cultivar on Shoot Formation of Gerbera jamesonii In Vitro," Toth, J. Agric.Sci. 30 : 341 - 346, 1962.
- Reinert J. and Y.P.S. Bajaj. Applied and fundamental Aspect of Plant Cell Tissue and Organ Culture. Springer - Verlag Berlin Heidelberg Germany, 1977, 803 p.

- Robert, L.W., S. Daba, T. Shiraishi and A.R. Miller. "Progress in Cytodifferentiation Under In Vitro Conditions," in Proc. 5th Intl. Cong. Plant Tissue & Cell Culture., p. 87 - 90, 1982.
- Roest, S. and G.S. Boholmann. "Vegetative Propagation of Chrysanthemum cinerariaefolium In Vitro." Scientia Horticulturae. 1 : 120 - 122, 1973.
- Straus, J., C.D. Larue. "Maize Endosperm Tissue Grown In Vitro. I Culture Requirements," Am. J. Botany, 41 : 687 - 694, 1954.
- Street, H.E. "Growth in Organized and Unorganized System Knowledge Gained by Culture of Organs and Tissue Explants," in F.C. Steward, ed. Plant Physiology, Vol. 5B. p. 3 - 224 Academic Press, New York, 1969. .
- Takayama, S. and H. Hisawa. "A Scheme for Mass Propagation of Lilium In Vitro." Scientia Horticulturae, 18(83) : 363 - 379, 1982.
- Thorpe, T.A. "Callus Organization and de novo Formation of Shoots, Roots and Embryo In Vitro," in D.T. Tomes and others, ed. Application of Plant Cell and Tissue Culture to Agriculture and Industry. p. 115 - 130, University of Guelph, 1982.
- Walker, E.A., P.C. Yu, S.J. Sato and E.G. Jaworski. The Hormonal Control of Organ Patterning in Callus of Medicago sativa L. Cultured In Vitro," Am. J. Bot. 65 : 654 - 659, 1978.
- White, P.R. "Potentially Unlimited Growth of Excised Plant Callus in an Artificial Medium," Am. J. Bot. 26 : 59 - 64, 1939 a.
- _____. "A Comparison of Certain Procedures for the Maintenance of Plant Tissue Cultures," Am. J. Bot. 40 : 517 - 524, 1953.

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณทุนเขียวในสภาพปลอดเชื้อ

บทคัดย่อ

ของ

สายสมร มุขลาย

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

กุมภาพันธ์ 2529

บทคัดย่อ

สูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นเขยปีรา (*Gerbera jamesonii* Hort.) ได้อย่างรวดเร็วคือสูตรมูลราซิกและสกุคักแปลง (1974) ที่เติม IAA 0.25 มิลลิกรัม ต่อลิตร และไคนีน 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ pH ของอาหาร 5 - 6 และ เพาะเลี้ยงในสภาพควบคุมอุณหภูมิ 23 - 27 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 1,000 ลักซ์ต่อวัน ซึ่งเมื่อเพาะเลี้ยงได้ 2 เดือน จำนวนต้นเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 11 - 12 ต้น จาก 1 เมล็ด ถ้าเพาะเลี้ยงต่อไปโดยตัดแบ่งแล้วย้ายลงเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่ทุก 1 เดือน ก็จะโคทนเพิ่มมากขึ้นไปในอัตราส่วนเรขาคณิต เมื่อได้จำนวนต้นมากพอจึงย้ายลงเลี้ยงในอาหารที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อให้เกิดราก สามารถนำออกปลูกในเครื่องปลูกได้

FACTORS AFFECTING MULTIPLICATION RATE OF GERBERA

(Gerbera jamesonii Hort.) IN ASEPTIC CULTURE

AN ABSTRACT

BY

SAYSAMORN MOOKLAI

Present in partial fulfillment of the requirements

for the Master of Education degree

at Srinakharinwirot University

February 1986

Abstract

Suitable medium for rapid shoot multiplication of *Gerbera* (*Gerbera jamesonii* Hort.) in vitro was Modified Murashige and Skoog media in addition of 0.25 mg./l IAA, 4mg./l kinetin, 3% sucrose, pH 5 - 6. Number of shoots increased from 1 to 11 - 12 within 2 months, after culturing in the airconditioned room at the temperature of 23 - 27 °C exposing with light intensity of 1,000 lux for all day. By monthly division and subculturing into fresh media, number of shoots increased as geometric progression. For root formation, Modified Murashige and Skoog media in addition of 0.5 mg./l IAA was recommended. Plantlets could be successfully transplanted into the soil.