ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์)

ปริญญา

พฤกษศาสตร์ — **สาขา**

พฤกษศาสตร์ — **ภาควิชา**

เรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกันภัยมหิดล

In Vitro Culture of *Afgekia mahidoliae* Burtt et Chermsir.

นามผู้วิจัย นางสาวสาวินี ลายทอง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตราจารย์มาลี ณ นคร, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์ศรีสม สุวรรณวงศ์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์สรัญญา วัชโรทัย, Dr.rer.nat.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกันภัยมหิดล

In Vitro Culture of *Afgekia mahidoliae* Burtt et Chermsir.

โดย

นางสาวสาวินี ลายทอง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์)

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สาวินี ลายทอง 2555: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกันภัยมหิดล ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์) สาขาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์มาลี ณ นคร, Ph.D. 58 หน้า

ในการเพิ่มปริมาณยอดกันภัยมหิดล โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตนาน 4 สัปดาห์ พบว่า TDZ ความเข้มข้น 0.5-4.0 ไมโครโมลาร์ชักนำให้เกิดยอดได้ (3.0-3.8 ยอด) มากกว่า BA ความเข้มข้น 0.5-4.0 ไมโครโมลาร์ (1.6-3.0 ยอด) และ TDZ ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดใหม่มีค่าเฉลี่ยความยาวยอดสูงสุด 11.8 มิลลิเมตร เนื่องจากยอดใหม่ค่อนข้างสั้น จึงหาวิธีกระตุ้นให้ยอดใหม่ที่ได้ยืดยาวด้วย GA_3 2 วิธี คือ 1) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ 2) เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0-10.0 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ พบว่าวิธีที่ 1 เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ ตามด้วยอาหารที่เติม GA_3 10.0 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้ยอดใหม่มีความยาวสูงสุด 14.0 มิลลิเมตร หรือ 1.8 เท่าของความยาวยอดที่ไม่ได้รับ GA_3 ซึ่งดีกว่าวิธีที่ 2 สำหรับการชักนำราก นำยอดมาชักนำให้เกิดรากด้วย NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS นาน 4 สัปดาห์ หรือจุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-5.0 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที แล้วย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติมออกซิน นาน 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 15.0 ไมโครโมลาร์เท่านั้นที่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 12.5 เปอร์เซ็นต์ และรากมีความยาวเฉลี่ย 12.3±3.3 มิลลิเมตร

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องของกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า NAA ความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 1.223±0.744 กรัม แต่แคลลัสที่ได้ไม่เกิดการพัฒนาเป็นโครงสร้างอื่น

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Savinee Laithong 2012: *In Vitro* Culture of *Afgekia mahidoliae* Burtt et Chermsir. Master of Science (Botany), Major Field: Botany, Department of Botany. Thesis Advisor: Associate Professor Malee Nanakorn, Ph.D. 58 pages.

In vitro shoot multiplication of *Afgekia mahidoliae* Burtt et Chermsir. was conducted by using nodal explants and cultured on ½MS semi-solid medium supplemented with 0.0-4.0 µM TDZ or BA for 4 weeks followed by sub-culturing on the same medium without growth regulator for 4 weeks. TDZ at 0.5-4.0 µM gave higher shoot number (3.0-3.8 shoots) than BA 0.5-4.0 µM (1.6-3.0 shoots) and 1.0 µM TDZ gave the highest shoot length of 11.8 mm. However, new shoots were too short; therefore, two methods for shoot elongation with GA_3 were studied: 1) cultured nodes on ½MS semi-solid medium supplemented with 2.0 µM TDZ for 4 weeks followed by sub-culturing on the same medium supplemented with 0.0–15.0 µM GA_3 for 4 weeks 2) cultured nodes on semi-solid MS medium supplemented with 2 µM TDZ in combination with 0.0-10.0 µM GA_3 for 4 weeks. The results showed that the first method, cultured the explants on TDZ and followed by using 10 µM GA_3 gave the highest shoot length of 14.0 mm or the shoot length was 1.8 folds higher than when cultured on GA_3 free medium and it also showed better result than the second method. For root induction, *in vitro* shoot were cultured on ½MS semi-solid medium supplemented with 0.0-15.0 µM NAA or IAA for 4 weeks or dipped the shoot end in 0.0-5.0 mM NAA or IAA solution for 5 minutes and implanted on growth regulator free ½MS semi-solid medium for 4 weeks. Only 15.0 µM NAA was able to induce root at 12.5 % and root length of 12.3±3.3 mm.

Internodes of *A. mahidoliae* were cultured on MS semi-solid medium supplemented with 0.0–15.0 µM 2,4-D, NAA or IAA for 4 weeks. NAA at 5 µM gave the highest callus weight of 1.223 g but callus could not develop to any structures.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มาลี ณ นคร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และรองศาสตราจารย์ ดร.ศรีสม สุวรรณวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัย ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประศาสตร์ เกื้อมณี ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และรองศาสตราจารย์ ดร. สุรียา ตันติวิวัฒน์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกที่กรุณาให้คำแนะนำข้อเสนอแนะต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้และคำแนะนำในการศึกษา อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งที่ข้าพเจ้าจะนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคต และขอขอบคุณเจ้าของผลงานวิจัยทุกท่าน ที่ข้าพเจ้าได้นำมาใช้เป็นเอกสารอ้างอิงในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ รวมทั้งกลุ่มวิจัยพฤกษศาสตร์ และพิพิธภัณฑ์พืช กองคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ที่เอื้อเฟื้อชิ้นส่วนพืชที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณพี่ๆ และน้องๆ ทุกคนในภาควิชาพฤกษศาสตร์ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ ชี้แนะและสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครอบครัวของข้าพเจ้า ที่ช่วยส่งเสริม และเป็นแรงสนับสนุนให้ข้าพเจ้ามุ่งมั่นที่จะศึกษาต่อ พร้อมทั้งยินดีเสียสละความสุขในครอบครัวที่พึงมีเพื่อให้ข้าพเจ้าได้ใช้เวลาอย่างเต็มที่ในการศึกษา รวมทั้งเป็นกำลังใจให้แก่ข้าพเจ้าตลอดมา

สาวินี ลายทอง

พฤษภาคม 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	15
อุปกรณ์	15
วิธีการ	16
ผลและวิจารณ์	19
ผล	19
วิจารณ์	34
สรุปและข้อเสนอแนะ	41
สรุป	41
ข้อเสนอแนะ	41
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	43
ภาคผนวก	49
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	58

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอด จำนวนยอดและความยาวยอดของกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์	20
2	จำนวนยอด ความยาวยอด และปริมาณแคลลัสของกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	24
3	จำนวนยอด และความยาวยอดของกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0-10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	25
4	จำนวนยอดที่เกิดราก จำนวนราก ความยาวราก และปริมาณแคลลัสของกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	28
5	น้ำหนักสด และลักษณะของแคลลัสกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงปล้องบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	32

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	องค์ประกอบอาหารพื้นฐานสูตร MS	50
2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์	51
3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์	51
4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดรวม เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์	52
5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์	52
6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร ก่อนได้รับ GA_3 เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	53

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร ก่อนได้รับ GA_3 เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	53
8	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร หลังได้รับ GA_3 เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	54
9	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร หลังได้รับ GA_3 เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	54
10	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดรวม เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	55
11	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	55

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
12	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0-10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	56
13	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0-10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	56
14	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักของแคลลัสกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงปล้องบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	57

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของกันภัยมหิดล (*Afgekia mahidoliae* Burtt et Chermsir.)	4
2	ลักษณะยอดใหม่ที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์	21
3	ลักษณะยอดใหม่ที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	26
4	ลักษณะยอดใหม่ที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0-10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	26
5	ลักษณะยอดที่ชักนำให้เกิดรากบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	29
6	ลักษณะยอดที่ชักนำให้เกิดราก โดยจุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-5.0 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที จากนั้นเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์	30
7	ลักษณะของแคลลัสกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	33

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกันภัยมหิดล

In Vitro Culture of *Afgekia mahidoliae* Burtt et Chermsir.

คำนำ

กันภัยมหิดลเป็นพรรณไม้ในสกุล *Afgekia* จัดเป็นพรรณไม้ถิ่นเดียวและหายาก (สำนักเลขาธิการนายกรัฐมนตรี สำนักนายกรัฐมนตรี, 2543) พบครั้งแรกเมื่อวันที่ 14 กันยายน พ.ศ.2510 โดยผศ.จิรายุพิน จันทรประสงค์ (เจิมศิริวัฒน์) และอาจารย์เกษม จันทรประสงค์ ที่ภูเขาหลังสถานีรถไฟวังโพ จังหวัดกาญจนบุรี และได้รับการรับรองเมื่อเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2514 กันภัยมหิดล *Afgekia mahidoliae* Burtt et Chermsir. เป็นชื่อที่ตั้งขึ้นเพื่อเฉลิมพระเกียรติแด่สมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี (ศศิวิมล และทยา, 2552) จากการที่พระองค์ท่านได้ทรงสนับสนุน ทรงริเริ่มโครงการต่างๆ ด้านการอนุรักษ์ และฟื้นฟูทรัพยากรความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทยอย่างจริงจังต่อเนื่อง และเพื่อความเป็นสิริมงคลในวงการพฤกษศาสตร์ของประเทศไทย รวมทั้งกันภัยมหิดลมีลักษณะช่อดอกที่สวยงาม และมีศักยภาพในการที่จะพัฒนาเป็นไม้ดอกไม้ประดับได้ จึงควรมีการส่งเสริมให้เป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลายมากขึ้น

เนื่องจากในปัจจุบันสภาพแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงไป และภัยธรรมชาติมีโอกาสเกิดมากขึ้น และรุนแรงมากขึ้น ซึ่งจะสร้างความเสียหายเป็นวงกว้างแก่ทรัพยากรพืช เนื่องจากกันภัยมหิดลเป็นพรรณไม้ถิ่นเดียวและจัดเป็นพืชหายาก รวมทั้งมีการติดฝัก และจำนวนเมล็ดต่อฝักน้อย ทำให้การขยายพันธุ์โดยเมล็ดให้จำนวนต้นน้อย การอนุรักษ์กันภัยมหิดลในสภาพธรรมชาติ หรือในเรือนเพาะชำจึงมีความเสี่ยงต่อการสูญเสียได้หากประสบภัยธรรมชาติ ดังนั้นจึงทำการศึกษาทดลองขยายพันธุ์กันภัยมหิดลโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากเทคนิคนี้สามารถขยายพันธุ์พืชได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ประโยชน์ และการอนุรักษ์ต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณยอด

2. เพื่อหาความเข้มข้นของ gibberellic acid (GA_3) ที่เหมาะสมในการกระตุ้นการยืดยาวของยอด

3. เพื่อหาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดเกิดราก

4. เพื่อหาชนิดและความเข้มข้นของออกซินที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแคลลัส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

กันภัยมหิดลมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Afgekia mahidoliae* Burtt et Chermsir. อยู่ในวงศ์ Fabaceae วงศ์ย่อย Papilionoideae (ราชบัณฑิตยสถาน, 2546) จัดเป็นพรรณไม้ถิ่นเดียว และหายาก (สำนักเลขาธิการนายกรัฐมนตรี สำนักนายกรัฐมนตรี, 2543) ค้นพบโดยผศ.จิรายุพิน จันทรประสงค์ (เจิมศิริวัฒน์) และอาจารย์เกษม จันทรประสงค์ บริเวณภูเขาหลังสถานีรถไฟวังโพ จังหวัดกาญจนบุรี (ศศิวิมล และทยา, 2552)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กันภัยมหิดลเป็นไม้เถาขนาดกลาง อายุยืนหลายปี กิ่งอ่อนสีเขียว มีขนนุ่มทั่วไป ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกปลายคี่ ออกสลับ กว้าง 8-12 เซนติเมตร ยาว 15-18 เซนติเมตร แกนกลางด้านบนเป็นร่อง ก้านใบพอง มีหูใบ 2 อันเป็นแผ่นติดกับลำต้น ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร ใบย่อย 5-6 คู่ เรียงตรงข้าม ใบย่อยรูปไข่หรือรูปไข่กลับ ปลายใบมน มีติ่งแหลมสั้น โคนใบมน ขอบใบเรียบ กว้าง 2.2-3.5 เซนติเมตร ยาว 5-6.5 เซนติเมตร แผ่นใบบาง มีขน ด้านล่างมีขนหนาแน่นกว่าด้านบน ก้านใบย่อยสั้น มีรยางค์เป็นเส้นสั้นๆ ที่โคนก้านใบย่อย ดอกออกเป็นช่อตามปลายกิ่ง และซอกใบ ช่อดอกแบบกระจะ ยาว 12-28 เซนติเมตร ทยอยบานจากโคนช่อมายังปลายช่อ แต่ละดอกบาน 1 วัน วันละ 4-6 ดอก ดอกย่อยมีใบประดับเรียวแหลมสีเขียวอมม่วง หลุดร่วงง่าย ดอกรูปดอกถั่ว ส่วนต่างๆ ของดอกมีขน ก้านดอกยาว 5-7 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยงสีม่วงอ่อน โคนเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 5 แฉก กลีบดอก 5 กลีบ กลีบกลางสีม่วงมีแถบสีเหลืองรูปสามเหลี่ยมอยู่ตรงกลาง กลีบคู่ข้างสีม่วงเข้ม กลีบคู่ล่างสีขาวนวล เกสรเพศผู้ 10 อัน โคนเชื่อมติดกัน 9 อัน โค้งตามแนวของกลีบล่าง รังไข่มีก้านสั้น อยู่เหนือวงกลีบ มี 1 ช่อง ภายในมี 1-3 ออวุล ผลเป็นผลแห้ง แตกเป็น 2 ซีก สีน้ำตาล มีขน โดยทั่วไปมี 2 เมล็ด เมล็ดแข็ง ค่อนข้างกลม สีดำเป็นมัน การกระจายพันธุ์ พบกันภัยมหิดลเจริญเติบโตอยู่ตามป่าเต็งรัง ภูเขาหินปูน ทางภาคตะวันตกของประเทศไทย (จิรายุพิน และอฤชร, 2541; ราชบัณฑิตยสถาน, 2546; ศศิวิมล และทยา, 2552) (ภาพที่ 1)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 1 ลักษณะของกันภัยมหิดล (*Afgekia mahidoliae* Burtt et Chermsir.)
(ก) ต้นกันภัยมหิดล (ข) ช่อดอก (ค) ดอก (ง) ฝัก

ที่มา: มูลนิธิสวนหลวง ร.9 (2542)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การชักนำให้ชิ้นส่วนของพืชวงศ์ Fabaceae เกิดยอด

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชวงศ์ Fabaceae ส่วนใหญ่นิยมใช้ชิ้นส่วนของข้อจากต้นที่โตเต็มที่ เช่น *Baptisia* “Purple Smoke” (Ault and Havens, 1999), *Ceratonia siliqua* L. (Romano *et al*., 2002) และ *Clitoria ternatea* L. (Rout, 2005) ชิ้นส่วนข้อ และปลายยอดจากต้นในสภาพปลอดเชื้อ เช่น *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi (Thiem, 2003) และ *Sophora flavescens* (Zhao *et al*., 2003) นอกจากนี้มีการใช้ใบอ่อนของ *Arachis correntina* (Vidoz *et al*., 2006) และเมล็ดของ pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp) (Singh *et al*. 2003) มาใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น โดยมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อกระตุ้นให้ชิ้นส่วนของพืชทดลองเกิดยอด เช่น การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินหลายชนิด เช่น N_6-benzyladenine (BA), zeatin, kinetin, 2-isopentenyl adenine (2iP) และ thidiazuron (TDZ) (Ault and Havens, 1999; Romano *et al*., 2002; Singh *et al*. 2003; Zhao *et al*., 2003) หรือใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ร่วมกับกลุ่มออกซิน เช่น α - naphthalene acetic acid (NAA), indole-3-acetic acid (IAA), indole-3-butyric acid (IBA) และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) (Ault and Havens, 1999; Romano *et al*., 2002; Thiem, 2003; Zhao *et al*., 2003; Rout, 2005; Vidoz *et al*., 2006) ตัวอย่างผลการศึกษา ดังนี้

สาวินี (2549) ศึกษาผลของ NAA ร่วมกับ BA ต่อการเพิ่มปริมาณยอดกันภัยมหิดลจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นที่เพาะเลี้ยงได้ในสภาพหลอดทดลอง พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.50 และ 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 1 และ 2.5 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดรวมสูงสุด 3.5±1.0 ยอด ส่วนใหญ่เป็นยอดที่มีความยาวน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าชิ้นส่วนของกันภัยมหิดลมีแคลลัสเกิดขึ้นทุกชิ้นส่วน โดยอาหารที่ไม่เติม NAA ชิ้นส่วนมีแคลลัสเกิดขึ้นน้อยกว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA และผลของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณยอดกันภัยมหิดลจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นที่ปลูกในเรือนเพาะชำ โดยเพาะเลี้ยงข้อของกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม BA 0.50 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด โดยเกิดยอดที่มีความยาวมากกว่า 2 มิลลิเมตร 1.1±0.6 ยอด และยอดที่มีความยาวน้อยกว่า 2 มิลลิเมตรได้สูงสุด 2.4±2.5 ยอด ส่งผลให้จำนวนยอดรวมสูงสุด 3.5±2.5 ยอด และชิ้นส่วนที่ทดลองมีแคลลัสเกิดขึ้นเกือบทุกชิ้นส่วน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kaneda *et al.* (1997) เพาะชิ้นส่วนข้อใบเลี้ยงและไฮโปคอทิลของถั่วเหลือง (*Glycine max*) บนอาหารสูตร ½ L2 ที่เติม BA ความเข้มข้น 5.06 ไมโครโมลาร์ หรือ TDZ ความเข้มข้น 9.08 ไมโครโมลาร์ เพื่อเปรียบเทียบผลของ BA และ TDZ ต่อการกระตุ้นการเกิดยอดของชิ้นส่วนทั้ง 2 ชนิด พบว่า TDZ สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนทั้ง 2 ชนิดเกิดยอดได้ดีกว่า BA และชิ้นส่วนไฮโปคอทิลเกิดยอดได้ดีกว่าข้อใบเลี้ยง 1.5-2 เท่า ส่วนการศึกษาหาความเข้มข้นของ TDZ ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดนั้นได้เพาะเลี้ยงไฮโปคอทิลบนอาหารสูตร MSB ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0-18.16 ไมโครโมลาร์ พบว่า TDZ ความเข้มข้น 9.08 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนไฮโปคอทิลเกิดยอดได้สูงสุด 39.3 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดโดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนไฮโปคอทิลบนอาหารพื้นฐาน 4 สูตร คือ Murashige and Skoog (MS), B5, L2 และ MSB และอาหารสูตรดัดแปลง 3 สูตร คือ ½MS, ½B5 และ ½L2 พบว่า อาหารสูตรดัดแปลงที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้ดีกว่า

Ault and Havens (1999) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Baptisia* พันธุ์ “Purple Smoke” โดยเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 2.22, 4.44, 8.87, 17.74 และ 35.48 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ชนิด potassium salt (K-IBA) ความเข้มข้น 0 และ 4.14 ไมโครโมลาร์ พบว่าชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ มีจำนวนยอดมากที่สุด 4.1 ยอดต่อชิ้นส่วน และบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ K-IBA ให้ยอดที่มีความยาวสูงสุด 1.3 เซนติเมตร และทุกชิ้นส่วนที่ทดลองเกิดแคลลัส ยกเว้นในชุดควบคุม

Khalafalla and Hattori (1999) ทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อใบเลี้ยง ไฮโปคอทิล และอิพิคอทิลของ faba bean (*Vicia faba* L.) อายุ 7 14 และ 21 วัน บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.40-17.80 ไมโครโมลาร์ (1.0-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) TDZ ความเข้มข้น 4.54-18.16 ไมโครโมลาร์ (1.0-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) หรือ BA ร่วมกับ TDZ พบว่า เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกัน (มิลลิกรัมต่อลิตร) TDZ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่า BA แต่เมื่อใช้ TDZ ร่วมกับ BA จะสามารถกระตุ้นให้ faba bean เกิดยอดได้ดีที่สุด โดยการเติม BA ความเข้มข้น 8.90 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 9.08 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อใบเลี้ยงอายุ 7 14 และ 21 วัน เกิดยอดได้สูงสุด 15.7, 10.7 และ 10.0 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ

Romano *et al*. (2002) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Ceratonia siliqua* L. พันธุ์ Galhosa และ Mulata โดยเพาะเลี้ยงข้อที่ได้จากต้นโตเต็มที่ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS หรืออาหารสูตร GD (Gresshoff and Doy, 1972) ที่เติมไซโตไคนิน 4 ชนิด คือ BA, kinetin, zeatin หรือ 2iP ความเข้มข้น 0.5 และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว หรือ BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA, IAA หรือ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า การเติมไซโตไคนินเพียงอย่างเดียว สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดยอดได้ดีกว่าการใช้ไซโตไคนินร่วมกับออกซิน สำหรับชนิดของไซโตไคนิน พบว่าพันธุ์ Mulata ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA และ zeatin มีจำนวนยอดสูงสุด 1.4 และ 1.5 ยอด ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ Galhosa ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม zeatin มีจำนวนยอดสูงสุด 1.3 ยอด ในส่วนของความเข้มข้นไซโตไคนินนั้น พบว่าพันธุ์ Mulata ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมไซโตไคนิน 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดสูงสุด 1.5 ยอด ส่วนพันธุ์ Galhosa ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมไซโตไคนิน 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอด 1.1 และ 1.2 ยอด ตามลำดับ

Singh *et al*. (2003) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp) โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0-20 ไมโครโมลาร์ พบว่าบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.05 ไมโครโมลาร์ มีการงอกเป็นต้นกล้า 75 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนยอดต่อต้นสูงสุด 13.0 ยอด

Thiem (2003) เพาะเลี้ยงปลายยอดของ *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 4.6 และ 9.3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.1, 5.7 และ 11.4 ไมโครโมลาร์ พบว่าชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 9.3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.1 ไมโครโมลาร์ มีการสร้างยอดในทุกชิ้นส่วน มีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนสูงสุด 4.4 ยอด และทุกชิ้นส่วนเกิดแคลลัส

Zhao *et al*. (2003) ทดลองชักนำให้ข้อที่ได้จากต้นในสภาพปลอดเชื้อของ *Sophora flavescens* เกิดยอด โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA, TDZ, 2,4-D และ NAA เป็นเวลา 30 วัน พบว่าชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 4.54 ไมโครโมลาร์ มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 8.4 ยอดต่อชิ้นส่วน และทุกชิ้นส่วนเกิดแคลลัส ยกเว้นในชุดควบคุม

Cheepala *et al*. (2004) การทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของ *Sesbania drummondii* จากต้นในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.27 และ 4.54 ไมโครโมลาร์ พบว่า TDZ ความเข้มข้น 2.27 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้มากที่สุด 6.20 ยอดต่อชิ้นส่วน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Rout (2005) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Clitoria ternatea* Linn. โดยเพาะเลี้ยงข้อจากต้นที่โตเต็มที่ให้เกิดยอด บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-17.8 ไมโครโมลาร์ หรือ kinetin ความเข้มข้น 0-18.6 ไมโครโมลาร์ เพียงอย่างเดียว หรือ BA ความเข้มข้น 6.66-11.1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.34-5.37 ไมโครโมลาร์ หรือ BA ความเข้มข้น 8.9-13.3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.42-5.71 ไมโครโมลาร์ พบว่าชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 8.9 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.34 ไมโครโมลาร์ มีการเพิ่มปริมาณยอด 85.6 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนยอดสูงสุด 5.21 ยอดต่อชิ้นส่วน และเกิดแคลลัสที่ฐาน เมื่อเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นสูง

Vidoz *et al*. (2006) เพาะเลี้ยงใบอ่อนของ *Arachis correntina* บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA หรือ 2,4-D เป็นเวลา 50 วัน พบว่าบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.044 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 10.74 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนใบอ่อนเกิดตาพิเศษได้สูงสุด 12.5 เปอร์เซ็นต์

Parveen and Shahzad (2010) ทดลองชักนำให้ข้อใบเลี้ยงของ *Cassia sophera* อายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน เกิดยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0-10.0 ไมโครโมลาร์ พบว่าข้อใบเลี้ยง อายุ 21 วัน มีการตอบสนองต่อ TDZ ได้เร็วและดีที่สุด โดย TDZ ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้สูงสุด 93 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 6.7 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อ TDZ มีความเข้มข้นสูงขึ้นชิ้นส่วนจะมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดลดลง

Perveen *et al.* (2011) ทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนรากจากต้นกล้า *Albisia lebbect* อายุ 15 วัน บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, Kinetin หรือ 2iP ความเข้มข้น 0.5-10.5 ไมโครโมลาร์ ในการชักนำให้เกิดยอด และไซโตไคนินทั้ง 3 ชนิด ความเข้มข้น 7.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 01-2.0 ไมโครโมลาร์ ในการชักนำให้เกิดยอดและกระตุ้นการยืดยาวของยอด พบว่า BA ความ-เข้มข้น 7.5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 74.6 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 16.0 ยอดต่อชิ้นส่วน และความยาวยอดเฉลี่ย 5.16 เซนติเมตร ส่วน kinetin และ 2iP เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้ต่ำกว่าการใช้ BA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของ GA_3 ต่อการยืดยาวของยอดพืชวงศ์ Fabaceae และพืชวงศ์อื่นๆ

GA_3 เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการกระตุ้นให้ยอดยืดยาวในพืชหลายชนิด โดยอาจใช้ GA_3 เพียงชนิดเดียว เช่น *Acacia sinuata* (Vengadesan *et al*., 2000, 2003a) และ *Andrographis paniculata* (Purkayastha *et al.*, 2008) เป็นต้น หรือพืชบางชนิดอาจจะตอบสนองต่อ GA_3 ได้ดีกว่าเมื่อใช้ร่วมกับไซโตไคนิน เช่น *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi (Thiem, 2003), sweet viburnum (*Viburnum odoratissimum*) (Schoene and Yeager, 2005) และ northern red oak (*Quercus rubra* L.) (Vengadesan and Pijut, 2009) เป็นต้น

Thiem (2003) เพาะเลี้ยง *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์เพียงอย่างเดียว หรือ BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 5.8 ไมโครโมลาร์ พบว่า เมื่อได้รับ GA_3 ความเข้มข้น 5.8 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนมีการยืดยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 2.5 เป็น 2.7 เซนติเมตร

Vengadesan *et al*. (2000, 2003a) โดยนำยอดของ *Acacia sinuata* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากชิ้นส่วนไฮโปคอทิล มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.58-4.33 ไมโครโมลาร์ พบว่ายอดมีความยาวเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับ GA_3 ความเข้มข้นสูงขึ้นถึง 1.73 ไมโครโมลาร์ ซึ่งกระตุ้นให้ยอดมีความยาวสูงสุด 5.8 เซนติเมตร และยอดมีความยาวลดลง เมื่อความเข้มข้นของ GA_3 เพิ่มขึ้น หลังจากนั้นได้ทดลองเพาะเลี้ยงยอดของ *A. sinuata* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.6-4.3 ไมโครโมลาร์ พบว่ายอดที่ได้รับ GA_3 ความเข้มข้น 1.8 ไมโครโมลาร์ มีความยาวสูงสุด 6.7 เซนติเมตร และยอดมีความยาวลดลง เมื่อความเข้มข้นของ GA_3 เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการทดลองข้างต้น

Schoene and Yeager (2005) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ sweet viburnum (*Viburnum odoratissimum*) บนอาหารกึ่งแข็งสูตร WPM ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-4.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0-28 ไมโครโมลาร์ พบว่า ชิ้นส่วนมีการยืดยาวเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ GA_3 เพิ่มขึ้น โดยอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 28 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้ยอดมีความยาวสูงสุด 27.3 มิลลิเมตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hoque *et al.* (2006) เพาะเลี้ยง water chestnut (*Trapa* sp.) บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.1 และ 2.2 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA_3 ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า การเติม GA_3 ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยง สามารถกระตุ้นให้ยอดของ water chestnut มีความยาวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับการไม่เติม GA_3

Purkayastha *et al.* (2008) ทดลองกระตุ้นการยืดยาวของยอด *Andrographis paniculata* โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-5.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเมื่อ GA_3 ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นถึง 1.0 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้ยอดมีความยาวสูงสุด 3.9±0.13 เซนติเมตร และเมื่อได้รับ GA_3 ความเข้มข้นสูงขึ้นยอดที่ได้มีความยาวลดลง

Vengadesan and Pijut (2009) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อใบเลี้ยง northern red oak (*Quercus rubra* L.) บนอาหารกึ่งแข็งสูตร WPM ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-17.6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0-2.9 ไมโครโมลาร์ พบว่า ชิ้นส่วนมีการยืดยาวเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ GA_3 เพิ่มขึ้นเป็น 0.29 ไมโครโมลาร์ และลดลงเมื่อชิ้นส่วนได้รับ GA_3 ความเข้มข้น 2.9 ไมโครโมลาร์ โดยอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.29 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้ยอดมีความยาวสูงสุด 1.7 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบว่า การเติม GA_3 ส่งผลให้การตรวจนับจำนวนยอดในสัปดาห์ที่ 6 เพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 3

การชักนำให้ชิ้นส่วนของพืชวงศ์ Fabaceae เกิดราก

ในการชักนำให้เกิดราก มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินในการชักนำให้เกิดราก เช่น NAA, IAA และ IBA หรือใช้ออกซิน 2 ชนิดร่วมกัน โดยพืชแต่ละชนิดจะมีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน ตัวอย่างผลการศึกษาดังนี้

Vengadesan *et al*. (2000, 2003a, 2003b) นำยอดที่เกิดจากแคลลัสของ *Acacia sinuata* ยาว 4-5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA หรือ IBA พบว่าชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 7.36 ไมโครโมลาร์ เกิดรากได้ 80 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวน 4.5 รากต่อชิ้นส่วน ส่วนบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 10.74 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนเกิดราก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ได้ 75 เปอร์เซ็นต์ และต่อมาได้เพาะเลี้ยงยอดที่เกิดจากแคลลัสของ *A. sinuata* บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA, IBA หรือ NAA ร่วมกับ IBA พบว่าชิ้นส่วนบนอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 7.4 ไมโครโมลาร์ เกิดรากได้ดีที่สุด 78.0 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวน 4.2 รากต่อชิ้นส่วน ส่วนการใช้ NAA ร่วมกับ IBA พบว่า ชิ้นส่วนเกิดรากได้ดีกว่าการใช้ NAA เพียงอย่างเดียว แต่เกิดรากได้น้อยกว่าการใช้ IBA เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้พบว่าอาหารสูตรที่เติม NAA และ NAA ร่วมกับ IBA ชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสที่ฐาน ในส่วนของการชักนำรากของยอด *A. sinuata* ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อนั้น ทดลองโดยการเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA, IBA หรือ IAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า อาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 7.4 ไมโครโมลาร์ เกิดรากได้ 65.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ช่วยลดการเกิดแคลลัสที่ฐานของชิ้นส่วนได้

Thiem (2003) เพาะเลี้ยงยอด *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อของ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA, IBA หรือ IAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าชิ้นส่วนเกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.68 ไมโครโมลาร์ IAA ความเข้มข้น 2.85 และ 11.42 ไมโครโมลาร์ ส่วนบนอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนเกิดรากได้สูงสุดเพียง 80 เปอร์เซ็นต์ และบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้นสูง พบว่ารากสั้น หนา ไม่มีการแตกแขนง และเกิดแคลลัสปกคลุม

Mroginski *et al*. (2004) นำยอดที่เกิดจากแคลลัสของ *Arachis correntina* ที่ยาว 1-2 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.0, 0.05, 0.5 และ 5 ไมโครโมลาร์ พบว่าชิ้นส่วนสามารถเกิดรากได้ 45 และ 54 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 5 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ ส่วนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และ อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.05 ไมโครโมลาร์ ไม่สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดรากได้

Rout (2005) เพาะเลี้ยงยอดซึ่งเกิดจากข้อของ *Clitoria ternatea* Linn. ที่โตเต็มที่ความยาว 1-2 เซนติเมตร บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA, IBA หรือ ใช้ทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน พบว่าชิ้นส่วนเกิดรากได้ 90.2 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.34 ไมโครโมลาร์ ส่วนการใช้ NAA ร่วมกับ IBA นั้น พบว่าชิ้นส่วนเกิดรากได้ดีกว่าการใช้ IBA เพียงอย่างเดียว แต่เปอร์เซ็นต์ การเกิดรากของชิ้นส่วนลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ NAA เพียงอย่างเดียว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Parveen and Shahzad (2010) เพาะเลี้ยงยอดของ *Cassia sophera* ที่มีความยาว 4-5 เซนติเมตร บนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 0-2.5 ไมโครโมลาร์ พบว่าชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับออกซินเกิดราก 65.0 เปอร์เซ็นต์ และ IBA สามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ 80.3-93.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งดีกว่า NAA ที่กระตุ้นให้เกิดรากได้ 67.0-78.3 เปอร์เซ็นต์ โดย IBA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้สูงสุด 93.7 เปอร์เซ็นต์ และมจำนวนรากเฉลี่ย 5.7 รากต่อยอด

Perveen *et al.* (2011) ทดลองชักนำให้ยอดของ *Albizia lebbeck* เกิดรากโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 0.5-2.5 ไมโครโมลาร์ พบว่า IBA กระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดรากได้ดีกว่า NAA โดย IBA ความเข้มข้น 2.0 และ 2.5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดรากได้ 66 และ 62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับออกซินเกิดรากเพียง 11.33 เปอร์เซ็นต์

Xiao-jie *et al.* (2011) เพาะเลี้ยงยอดของ *Caragana fruticosa* ที่ยาว 2-3 เซนติเมตร บนอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมลาร์ เพื่อชักนำให้เกิดราก พบว่าชิ้นส่วนสามารถเกิดรากได้ 36-74 เปอร์เซ็นต์ โดย NAA ความเข้มข้น 0.27 และ 2.69 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 74 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ที่ NAA ความเข้มข้น 0.57-2.69 ไมโครโมลาร์ รากที่เกิดขึ้นมีลักษณะอ้วน สั้น และมีสีเหลืองน้ำตาลรวมทั้งมีแคลลัสเกิดขึ้น ส่วนที่ NAA ความเข้มข้น 0.27 ไมโครโมลาร์ รากมีลักษณะอ้วนยาว มีสีขาว และมีขนรากจำนวนมาก

การชักนำให้ชิ้นส่วนของพืชวงศ์ Fabaceae เกิดแคลลัส และการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสเป็นอวัยวะหรือ somatic embryo

สาวินี (2549) ศึกษาผลของการใช้ NAA ร่วมกับ BA ต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนใบเลี้ยงของกันภัยมหิดลเกิดแคลลัส โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0-2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0-2.5 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตไม่มีการสร้างแคลลัส ส่วนบนอาหารที่เติม BA หรือ NAA เพียงอย่างเดียว มีการสร้างแคลลัส 80-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนบนอาหารที่เติม NAA ร่วมกับ BA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณแคลลัสมากกว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA หรือ BA เพียงอย่างเดียว โดยอาหารที่เติม NAA 2.5 ไมโครโมลาร์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ร่วมกับ BA 2.5 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด แคลลัสมีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีขาว เกาะตัวกันค่อนข้างแน่น เมื่อแคลลัสมีอายุมากขึ้นจะมีสีน้ำตาลเข้มขึ้นและเกาะกันแน่นมากขึ้น

Rey *et al*. (2000) เพาะเลี้ยงใบย่อยของ *Arachis pintoi* บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA, 2,4-D หรือ picloram ความเข้มข้น 5-30 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA, KIN หรือ 2iP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนสามารถเกิดแคลลัสได้ดีในทุกสิ่งทดลอง และแคลลัสที่เกิดขึ้นสามารถพัฒนาไปเป็นยอด และ somatic embryo ได้ โดยอาหารที่เติม picloram 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดเป็น somatic embryo ได้สูงสุด 20 เปอร์เซ็นต์ และอาหารที่เติม NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดเป็นยอดได้สูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์

Vengadesan *et al*. (2000) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนไฮโปคอทิล ใบเลี้ยง และใบอ่อนจากต้นในสภาพปลอดเชื้อ *Acacia sinuata* (Lour.) Merr. เพื่อศึกษาผลของออกซินชนิดต่างๆ ต่อการเกิดแคลลัส บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.26-13.56 ไมโครโมลาร์ NAA ความเข้มข้น 2.69-16.14 ไมโครโมลาร์ และ IAA ความเข้มข้น 2.85-17.10 ไมโครโมลาร์ และผลของ 2,4-D ความเข้มข้น 2.26-9.04 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.22 และ 4.44 ไมโครโมลาร์ หรือ KIN ความเข้มข้น 2.32 และ 4.65 ไมโครโมลาร์ พบว่าชิ้นส่วนไฮโปคอทิลที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6.78 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ เกิดแคลลัสได้สูงสุด 90 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำแคลลัสไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ผงถ่านกัมมันต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ BA ความเข้มข้น 4.44-22.19 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.0-5.17 ไมโครโมลาร์ พบว่าบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 13.31 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 3.42 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุด 85 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดสูงสุด 12.2 ยอด และมีความยาวยอดสูงที่สุด 2.3 เซนติเมตร

Vengadesan *et al*. (2003b) ทดลองชักนำให้ชิ้นส่วนใบเลี้ยงของ *A. sinuata* (Lour.) Merr. จากต้นในสภาพปลอดเชื้อให้เกิดแคลลัสบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.7-13.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.2 และ 4.4 ไมโครโมลาร์ หรือ KIN ความเข้มข้น 2.3 และ 4.7 ไมโครโมลาร์ พบว่าชิ้นส่วนใบเลี้ยงเกิดแคลลัสได้สูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 10.6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.2 ไมโครโมลาร์ แล้วนำแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 8.1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความเข้มข้น 2.2 ไมโครโมลาร์ ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ผงถ่านกัมมันต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ BA ความเข้มข้น 4.44-22.2 ไมโครโมลาร์ หรือ zeatin ความเข้มข้น 1.0-5.0 ไมโครโมลาร์ เพียงชนิดเดียว หรือ BA ร่วมกับ zeatin พบว่าแคลลัสมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุด 75 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดสูงสุด 25.3 ยอด บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 13.3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ zeatin ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ส่วนยอดที่มีความยาวมากที่สุดพบบนอาหารที่เติม zeatin ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ เพียงชนิดเดียว

Mroginski *et al*. (2004) เพาะเลี้ยงใบย่อย และก้านใบย่อยของ *Arachis correntina* บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA, KIN ความเข้มข้น 0.05-25 ไมโครโมลาร์ หรือ TDZ ความเข้มข้น 0.05-65 ไมโครโมลาร์ เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ NAA, 2,4-D หรือ picloram ความเข้มข้น 0.1-100 ไมโครโมลาร์ เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 1 เดือน แล้วย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ พบว่าใบย่อย และก้านใบย่อยเกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และ 96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ บนอาหารชักนำแคลลัสที่เติม TDZ ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ และมีการพัฒนาของตาพิเศษ 13 ตาต่อชิ้นส่วนใบย่อย ส่วนแคลลัสที่เกิดจากก้านใบย่อยนั้นพบว่า มีการพัฒนาเป็นตา 13 ตาต่อชิ้นส่วน และพัฒนาไปเป็นยอด 1 ยอด

Devi and Narmathabai (2011) ทดลองชิ้นส่วนใบเลี้ยงของ *Desmodium motorium* ให้เกิด embryogenic callus โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D, IAA, NAA หรือ BA เพียงชนิดเดียวหรือใช้ร่วมกัน พบว่า อาหารที่เติม IAA ความเข้มข้น 2.9 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4.4 และ 8.8 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 2.7 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 8.8 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนใบเลี้ยงเกิด embryogenic callus ได้ ส่วนการใช้ BA ร่วมกับออกซินความเข้มข้นอื่นๆ สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัส (ไม่ใช่ embryogenic callus) บริเวณผิวของชิ้นส่วนใบเลี้ยง และการได้รับออกซินเพียงอย่างเดียว ชิ้นส่วนใบเลี้ยงไม่มีแคลลัสเกิดขึ้น และชิ้นส่วนตายในที่สุด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง ได้แก่ กันภัยมหิดล (*Afgekia mahidoliae* Burtt et Chermsir.) ที่ปลูกในเรือนเพาะชำของภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และกลุ่มวิจัยพฤกษศาสตร์ และพิพิธภัณฑ์พืช กองคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร

2. เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง เตาไมโครเวฟ หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องแก้วชนิดต่างๆ ได้แก่ บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต ขวดรูปชมพู่ ขวดปรับปริมาตร และขวดบรรจุอาหาร

3. สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของอาหารพื้นฐานสูตร Murashige and Skoog (MS) (Murashige and Skoog, 1962)

4. สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ N_6-benzyladenine (BA) และ thidiazuron (TDZ) กลุ่มออกซิน ได้แก่ α - naphthalene acetic acid (NAA), indole-3-acetic acid (IAA) และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)

5. สารเคมีที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อ และทำความสะอาด ได้แก่ เอธิลแอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์ คลอรอกซ์® (โซเดียมไฮโปคลอไรด์ 6 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) สารลดแรงตึงผิว (tween 20) และ Teepol®สำหรับล้างชิ้นส่วนพืช

6. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนพืช ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ มีดผ่าตัด ปากคีบ ตะเกียงแอลกอฮอล์ และจานแก้ว

7. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีอุณหภูมิประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส พร้อมชั้นวางที่มีหลอดไฟเรืองแสงสีขาว ความเข้มของแสงประมาณ 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที

8. อุปกรณ์บันทึกภาพ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

การเตรียมชิ้นส่วนพืชทดลอง

นำส่วนข้อที่ 2-5 และปล้องของต้นกันภัยมหิดลที่เจริญเติบโตในเรือนเพาะชำ มาล้างในสารละลาย Teepol® 5 นาที และล้างออกด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง แช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์® ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที โดยผสมสารลดแรงตึงผิว 2–3 หยดต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร และล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดแต่งชิ้นส่วน และนำไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อน 2 สัปดาห์ นำชิ้นส่วนข้อ และปล้องที่ปลอดเชื้อไปใช้ในการทดลองต่อไป

การทดลองที่ 1 ผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดยอดจำนวนมาก

นำชิ้นส่วนข้อที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำ คือ 1 ชิ้นส่วนต่อขวดทดลอง บันทึกจำนวนยอด และความยาวยอดเฉพาะที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร สังเกตการเกิดแคลลัส และบันทึกภาพ

การทดลองที่ 2 ผลของ GA_3 ต่อการชักนำให้ยอดยืดยาว

การทดลองที่ 2.1 นำชิ้นส่วนข้อที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0, 5.0, 10.0 และ 15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำ คือ 1 ชิ้นส่วนต่อขวดทดลอง บันทึกจำนวนยอด และความยาวยอดเฉพาะที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร สังเกตการเกิดแคลลัส และบันทึกภาพ

การทดลองที่ 2.2 นำชิ้นส่วนข้อที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0, 5.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำ คือ 1 ชิ้นส่วนต่อขวดทดลอง บันทึกจำนวนยอด และความยาวยอดเฉพาะที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร สังเกตการเกิดแคลลัส และบันทึกภาพ

การทดลองที่ 3 ผลของ NAA และ IAA ต่อการชักนำให้ยอดเกิดราก

การทดลองที่ 3.1 นำยอดที่ได้จากการทดลองที่ 2.1 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0, 5.0, 10.0 และ 15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการทดลอง 8 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำ คือ 1 ชิ้นส่วนต่อขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD บันทึกจำนวนรากต่อยอด ความยาวราก สังเกตการเกิดแคลลัส และบันทึกภาพ

การทดลองที่ 3.2 นำยอดที่ได้จากการทดลองที่ 2.1 มาจุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที จากนั้นเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการทดลอง 8 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำ คือ 1 ชิ้นส่วนต่อขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD บันทึกจำนวนรากต่อยอด ความยาวราก สังเกตการเกิดแคลลัส และบันทึกภาพ

การทดลองที่ 4 การชักนำให้ชิ้นส่วนปล้องเกิดแคลลัส และการเปลี่ยนแปลงของแคลลัส

นำชิ้นส่วนปล้องของกันภัยมหิดลที่ปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0, 5.0, 10.0 และ 15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงในสภาพมืด ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำ คือ 1 ชิ้นส่วนต่อขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD บันทึกจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัส ปริมาณแคลลัส ลักษณะของแคลลัส การเกิดราก และบันทึกภาพ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง

ห้องเพาะเลี้ยงมีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงประมาณ 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที

การวิเคราะห์ผลของการทดลอง

วิเคราะห์ความแปรปรวนของสิ่งทดลอง เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least significant different (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง	เดือนมกราคม 2552
สิ้นสุดการทดลอง	เดือนมีนาคม 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

ผล

ผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดยอดจำนวนมาก

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อกันภัยมหิดลบนอาหารอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 ไมโครโมลาร์ และ BA ทุกความเข้มข้น สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดยอดได้ 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ในส่วนของจำนวนยอดใหม่ที่เกิดขึ้น พบว่าอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดรวมได้ 2.8±1.6 ยอด โดยอาหารที่เติม TDZ สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดยอดได้ดีกว่า BA เล็กน้อย ซึ่ง TDZ ความเข้มข้น 4.0 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดยอดรวมได้มากที่สุด 3.8±2.8 ยอด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจาก TDZ หรือ BA ความเข้มข้นอื่น ยกเว้นที่ BA ความเข้มข้น 0.5 และ 4.0 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเกิดยอดรวมเพียง 1.8±0.8 และ 1.6±0.9 ยอดตามลำดับ โดยยอดที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เป็นยอดที่มีความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2)

ส่วนความยาวของยอดที่ได้รับ TDZ หรือ BA พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยยอดมีความยาวระหว่าง 8.0-11.8 มิลลิเมตร ซึ่งมากกว่ายอดที่เกิดบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความยาว 7.2±1.9 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1) และชิ้นส่วนที่ทดลองมีแคลลัสเกิดขึ้นบริเวณฐาน โดยเมื่อความเข้มข้นของ TDZ หรือ BA เพิ่มขึ้น แคลลัสจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วย (ภาพที่ 2)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอด จำนวนยอดและความยาวยอดของกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)		จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอด (เปอร์เซ็นต์) [1/]	จำนวนยอด		จำนวนยอดรวม ± SD	ความยาวยอด (มิลลิเมตร) ± SD [2/]	ปริมาณแคลลัส [3/]
			ความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร ± SD	ความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร ± SD			
-	0.0	100	1.8±1.5	1.0±0.7	2.8±1.6	7.2±1.9	+
TDZ	0.5	80	2.8±3.3	0.8±0.4	3.6±2.9	8.0±2.7	++
	1.0	80	2.2±3.3	0.8±0.8	3.0±3.1	11.8±5.1	++
	2.0	100	2.2±1.8	1.2±0.4	3.4±2.2	10.0±6.7	++
	4.0	100	2.4±2.1	1.4±0.9	3.8±2.8	10.7±7.5	+++
BA	0.5	100	0.8±0.8	1.0±0.0	1.8±0.8	8.8±4.8	+
	1.0	100	1.0±1.0	1.0±0.0	2.0±1.0	9.4±3.1	+
	2.0	100	1.8±0.8	1.2±0.4	3.0±0.7	8.3±2.9	++
	4.0	100	0.6±0.9	1.0±0.0	1.6±0.9	10.4±4.2	++
F-test			ns	ns	*	ns	
$LSD_{0.05}$					1.9		
CV (%)			113.5	51.5	72.5	52.1	

[1/] จำนวนชิ้นส่วนที่ทำการทดลอง 5 ชิ้น

[2/] คำนวณจากยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร

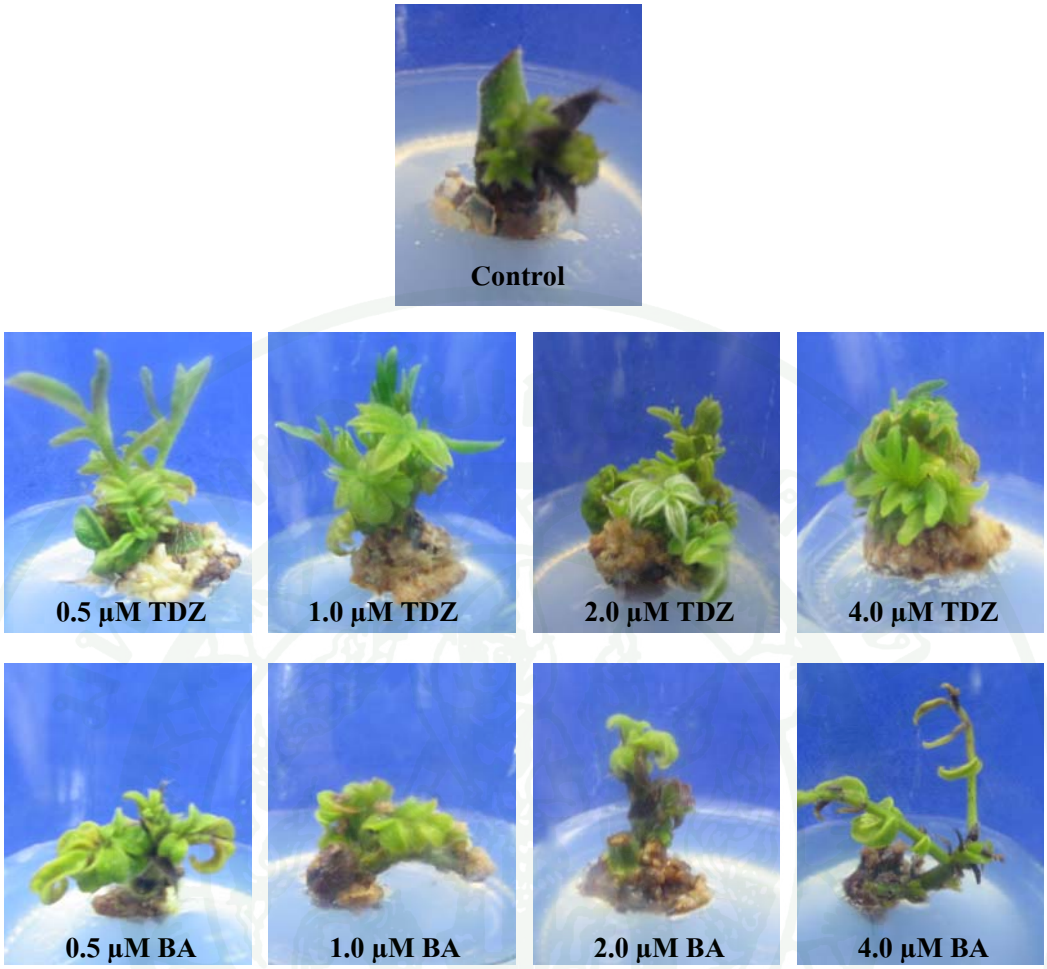
[3/] ปริมาณแคลลัส ใช้เครื่องหมายแทน ดังนี้

- \- ไม่เกิดแคลลัส
- \+ เกิดแคลลัสปริมาณน้อย
- ++ เกิดแคลลัสปริมาณปานกลาง
- +++ เกิดแคลลัสปริมาณมาก

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 2 ลักษณะยอดใหม่ที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของ GA_3 ต่อการชักนำให้ยอดยืดยาว

เนื่องจากยอดที่ได้จากการกระตุ้นด้วย TDZ หรือ BA มีลักษณะกระจุกตัวรวมกันเป็นกลุ่ม จึงศึกษาผลของ GA_3 ต่อการยืดยาวของยอด 2 วิธี โดยวิธีที่ 1 ให้ TDZ แล้วตามด้วย GA_3 และวิธีที่ 2 ให้ GA_3 พร้อมกับ TDZ ได้ผลดังนี้

วิธีการที่ 1 จากการเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ายอดที่มีความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตรมีจำนวนใกล้เคียงกัน โดยมีจำนวนระหว่าง 2.0-2.8 ยอด ส่วนยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตรมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อความเข้มข้นของ GA_3 ที่ชิ้นส่วนได้รับเพิ่มขึ้น โดยชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับ GA_3 มียอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร 1.3±1.0 ยอด และเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 6.0±1.4 ยอด เมื่อได้รับ GA_3 ความเข้มข้น 15.0 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 3)

ในส่วนความยาวยอด พบว่ายอดใหม่มีความยาวแตกต่างกันทางสถิติ โดยชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับ GA_3 ยอดใหม่มีความยาว 7.8±2.3 มิลลิเมตร และเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 14.0±5.4 มิลลิเมตร เมื่อได้รับ GA_3 ความเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์ หรือ 1.8 เท่าของยอดที่ไม่ได้รับ GA_3 (ตารางที่ 2 และภาพที่ 3) และความยาวยอดลดลงเมื่อได้รับ GA_3 ความเข้มข้นสูงถึง 15.0 ไมโครโมลาร์ นอกจากนี้ยังพบว่ายอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 15.0 ไมโครโมลาร์ มีลักษณะผอมบาง และใบมีขนาดเล็กกว่าปกติ (ภาพที่ 3) นอกจากนี้พบการเกิดแคลลัสบริเวณฐานของชิ้นส่วน โดยชิ้นส่วนที่ได้รับ GA_3 มีแคลลัสเกิดขึ้นมากกว่าชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับ GA_3

วิธีการที่ 2 จากการเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0, 5.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกความเข้มข้นของ GA_3 ที่ใช้ร่วมกับ TDZ ไม่มีผลทำให้จำนวนยอดของกันภัยมหิดลแตกต่างกันทางสถิติ มีจำนวนยอด 0.7±0.6 ถึง 1.0±0.0 ยอด (ตารางที่ 3 และภาพที่ 4)

ในส่วนของความยาวยอด พบว่าทุกความเข้มข้นของ GA_3 ที่ใช้ร่วมกับ TDZ ไม่มีผลทำให้ความยาวยอดของกันภัยมหิดลแตกต่างกันทางสถิติ แต่ GA_3 ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ มีแนวโน้มกระตุ้นให้ยอดกันภัยมหิดลมีความยาวยอดสูงที่สุด 18.3±3.2 มิลลิเมตร หรือ 1.36 เท่าของยอด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ที่ไม่ได้รับ GA_3 (ตารางที่ 3 และภาพที่ 4) และการเติม GA_3 ในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลทำให้ยอดของกันภัยมหิดลมีลักษณะแตกต่างจากยอดที่ไม่ได้รับ GA_3 โดยยอดที่ได้รับ GA_3 สามารถเห็นข้อปล้องและใบที่คลี่กางออกอย่างชัดเจน ส่วนยอดที่ไม่ได้รับ GA_3 จะไม่สามารถสังเกตเห็นข้อปล้องได้และใบไม่คลี่กางออก (ภาพที่ 4)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 จำนวนยอด ความยาวยอด และปริมาณแคลลัสของกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ GA_3 (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอดก่อนได้รับ GA_3		จำนวนยอดหลังได้รับ GA_3		จำนวนยอดรวม ± SD	ความยาวยอด (มิลลิเมตร) ± SD [1/]	ปริมาณแคลลัส[2/]
	ความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร ± SD	ความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร ± SD	ความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร ± SD	ความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร ± SD			
0.0	3.0±0.8	1.0±0.8	2.8±1.7	1.3±1.0	4.8±3.3	7.8±2.3	+
5.0	2.3±0.5	1.0±0.8	2.3±1.0	1.8±1.5	4.0±2.2	7.9±2.2	++
10.0	3.5±1.3	1.0±0.8	2.0±2.3	5.3±3.5	7.3±4.3	14.0±5.4	++
15.0	3.0±0.8	1.3±0.5	2.8±1.0	6.0±1.4	8.8±2.2	10.8±4.3	++
F-test	ns	ns	ns	*	ns	*	
$LSD_{0.05}$				3.7		3.1	
CV (%)	31.6	64.0	65.2	58.6	50.7	39.4	

[1/] คำนวณจากยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร

[2/] ปริมาณแคลลัส ใช้เครื่องหมายแทน ดังนี้

- \- ไม่เกิดแคลลัส
- \+ เกิดแคลลัสปริมาณน้อย
- ++ เกิดแคลลัสปริมาณปานกลาง
- +++ เกิดแคลลัสปริมาณมาก

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 จำนวนยอด และความยาวยอดของกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0-10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ GA_3 (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด ± SD	ความยาวยอด (มิลลิเมตร) ± SD [1/]	ปริมาณแคลลัส [2/]
0	0.7 ± 0.6	13.5 ± 2.1	+
5	1.0 ± 0.0	18.3 ± 3.2	+
10	0.7 ± 0.6	15.0 ± 1.4	+
F-test	ns	ns	
CV (%)	60.6	16.3	

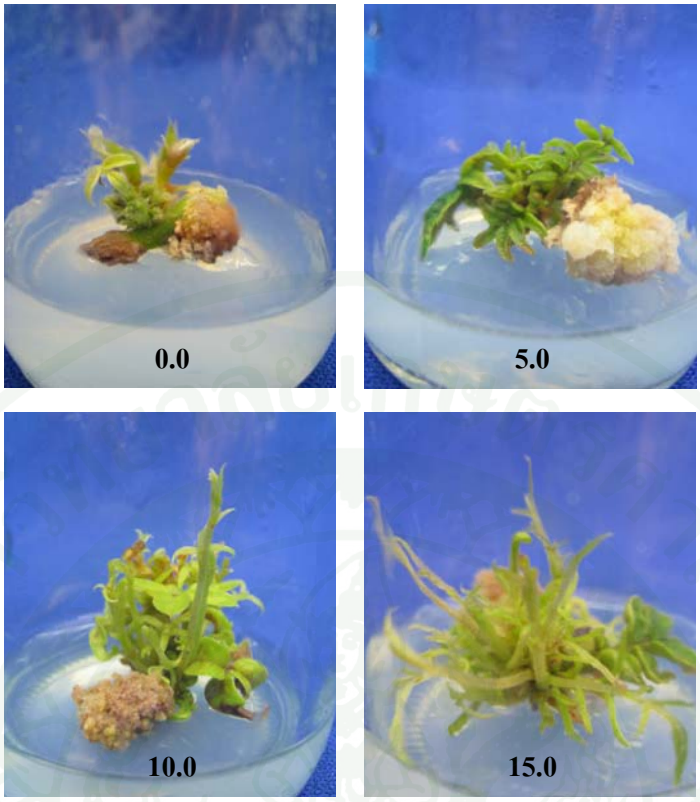
[1/] คำนวณจากยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร

[2/] ปริมาณแคลลัส ใช้เครื่องหมายแทน ดังนี้

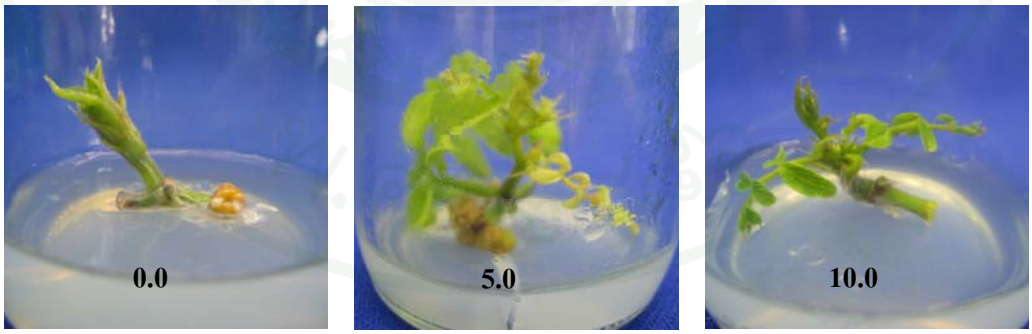
- \- ไม่เกิดแคลลัส
- \+ เกิดแคลลัสปริมาณน้อย
- ++ เกิดแคลลัสปริมาณปานกลาง
- +++ เกิดแคลลัสปริมาณมาก

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 3 ลักษณะยอดใหม่ที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4 ลักษณะยอดใหม่ที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0-10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของ NAA และ IAA ต่อการชักนำให้ยอดเกิดราก

การทดลองที่ 3.1 จากการเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA และ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า NAA ความเข้มข้น 15.0 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ 12.5 เปอร์เซ็นต์ และมีแคลลัสเกิดขึ้นปกคลุมที่บริเวณรอยตัดที่ฐาน และผิวด้านนอกของราก ส่วนในสิ่งทดลองอื่นไม่สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดรากได้ ซึ่งชิ้นส่วนที่ไม่เกิดราก มีแคลลัสเกิดขึ้นที่รอยตัดบริเวณฐานของชิ้นส่วน (ตารางที่ 4 และภาพที่ 5)

โดยอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 15.0 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ 6 ราก และมีความยาว 12.3±3.3 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4 และภาพที่ 5)

การทดลองที่ 3.2 ส่วนการชักนำให้เกิดรากโดยการจุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-5.0 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ไม่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดรากได้ และพบการเกิดแคลลัสที่ฐานของชิ้นส่วน โดยชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับออกซินมีแคลลัสเกิดขึ้นน้อยกว่าชิ้นส่วนที่ได้รับออกซิน และปริมาณแคลลัสเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของออกซินเพิ่มขึ้นด้วย (ภาพที่ 6)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 จำนวนยอดที่เกิดราก จำนวนราก ความยาวราก และปริมาณแคลลัสของกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ชนิดของออกซิน	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอดที่เกิดราก (เปอร์เซ็นต์) [1/]	จำนวนราก	ความยาวราก (มิลลิเมตร)± SD [2/]	ปริมาณแคลลัส [3/]
-	0.0	0	0	0	+
NAA	5.0	0	0	0	++
	10.0	0	0	0	++
	15.0	12.5	6	12.3±3.3	+++
IAA	5.0	0	0	0	++
	10.0	0	0	0	++
	15.0	0	0	0	++

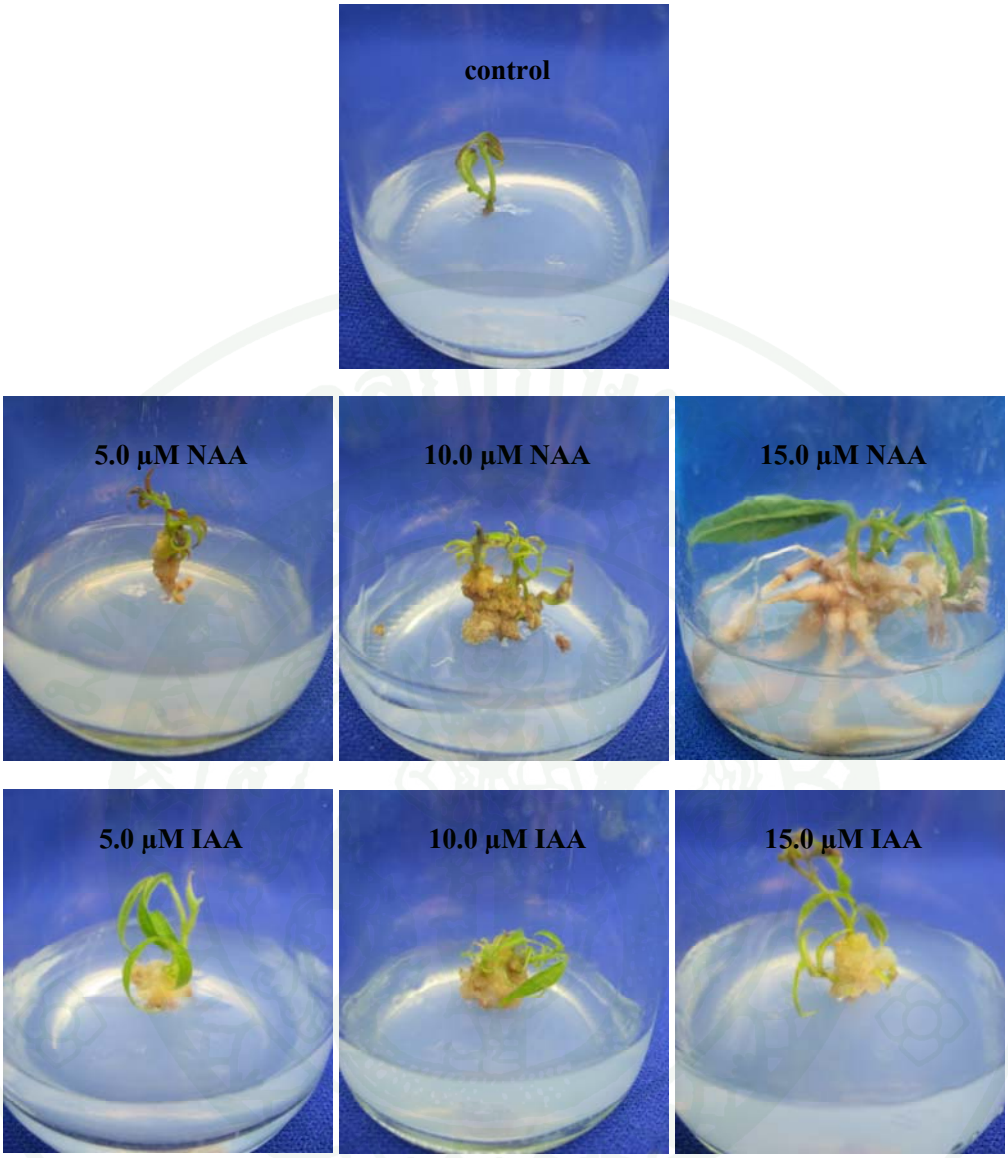
[1/] จำนวนชิ้นส่วนที่ทำการทดลอง 8 ชิ้น

[2/] คำนวณจากรากที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร

[3/] ปริมาณแคลลัส ใช้เครื่องหมายแทน ดังนี้

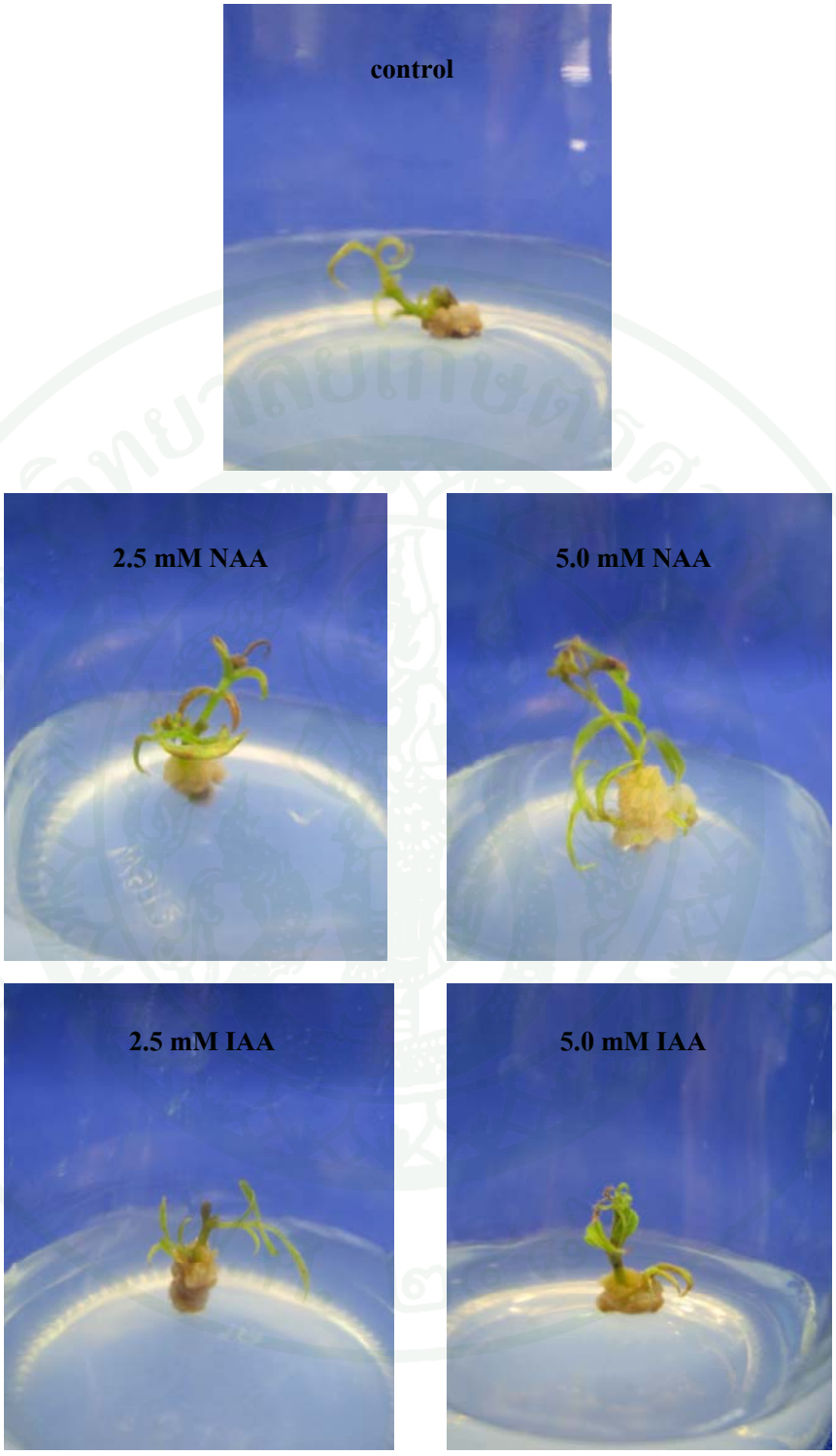
- \- ไม่เกิดแคลลัส
- \+ เกิดแคลลัสปริมาณน้อย
- ++ เกิดแคลลัสปริมาณปานกลาง
- +++ เกิดแคลลัสปริมาณมาก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 5 ลักษณะยอดที่ชักนำให้เกิดรากบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 ลักษณะยอดที่ชักนำให้เกิดราก โดยจุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-5.0 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที จากนั้นเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การชักนำให้ชิ้นส่วนปล้องเกิดแคลลัส และการเปลี่ยนแปลงของแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 5.0 และ 15.0 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้ชิ้นส่วนปล้องเกิดแคลลัสมากที่สุด 0.964±0.825, 1.223±0.744 และ 1.004±0.839 กรัม ตามลำดับ โดยแคลลัสเริ่มเกิดจากบริเวณรอยตัดทั้ง 2 ด้าน และปกคลุมทั้งชิ้นส่วน (ตารางที่ 5 และภาพที่ 7)

ชิ้นส่วนที่ทดลองสามารถเกิดแคลลัสได้บนอาหารทุกสูตร แต่แคลลัสจะมีลักษณะแตกต่างกัน เมื่อได้รับออกซินต่างชนิดกัน โดยชิ้นส่วนที่ได้รับ 2,4-D แคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีน้ำตาล เกาะกันแน่น และมีลักษณะที่ฉ่ำน้ำ ส่วนชิ้นส่วนที่ได้รับ NAA แคลลัสมีสีน้ำตาลอมเหลือง เกาะกันแน่น และมีรากเกิดขึ้นในทุกระดับความเข้มข้น ชิ้นส่วนที่ได้รับ IAA แคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีเขียวอมเหลือง เกาะกันแน่น และมีรากเกิดขึ้น เฉพาะ IAA ความเข้มข้น 5.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์ และชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับออกซิน เกิดแคลลัสสีน้ำตาลที่เกาะกันแน่น (ภาพที่ 7)

จากนั้นได้มีการทดลองเพิ่มเติม โดยนำแคลลัสที่ได้ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมออกซินชนิดเดิมที่ลดความเข้มข้นลงเป็น 1.0 และ 2.5 ไมโครโมลาร์ หรือ อาหารที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ พบว่าแคลลัสมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้น แต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นเอ็มบริโอหรืออวัยวะอื่นได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 น้ำหนักสด และลักษณะของแคลลัสกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงปล้องบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ชนิดของออกซิน	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	น้ำหนักสด (กรัม)	ลักษณะของแคลลัส[1/]	การเกิดราก [2/]
-	0	0.150±0.076	BC	-
2,4-D	5	0.964±0.825	BCV	-
	10	0.503±0.489	BCV	-
	15	0.398±0.250	BCV	-
NAA	5	1.223±0.744	GyCR	+
	10	0.465±0.463	GyCR	+
	15	1.004±0.839	GyCR	++
IAA	5	0.297±0.177	ByCR	+
	10	0.436±0.244	ByCR	+
	15	0.373±0.196	ByC	-
F-test		*		
$LSD_{0.05}$		0.446		
CV (%)		87.6		

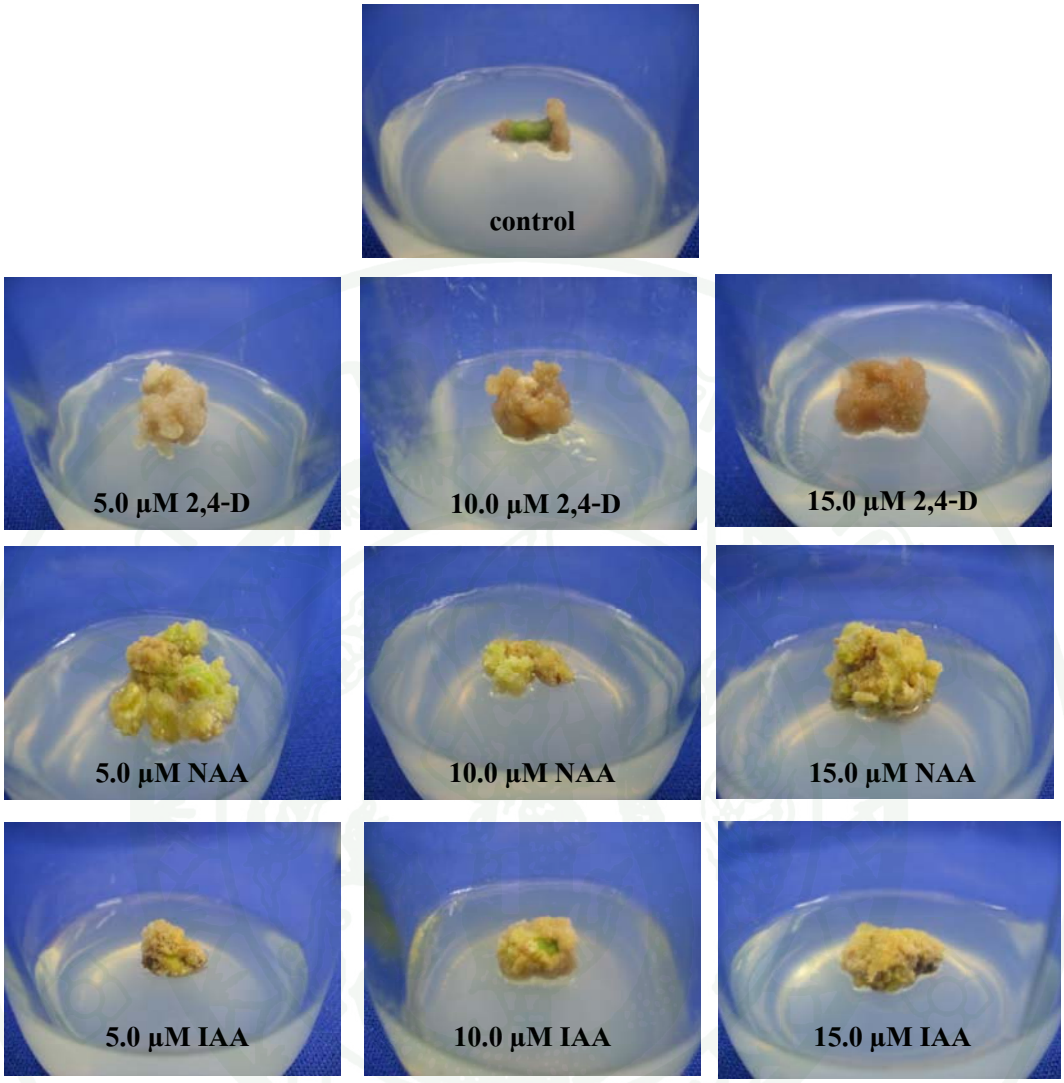
[1/] B: สีน้ำตาล; By: สีน้ำตาลอมเหลือง; Gy: สีเขียวอมเหลือง; C: เกาะกันแน่น; R: เกิดราก; V: เกิดการฉ่ำน้ำ

[2/] การเกิดราก ใช้เครื่องหมายแทน ดังนี้

- ไม่เกิดราก
+ เกิดรากปริมาณน้อย
++ เกิดรากปริมาณปานกลาง
+++ เกิดรากปริมาณมาก

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 7 ลักษณะของแคลลัสกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิจารณ์

ผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดยอดจำนวนมาก

ชิ้นส่วนข้อกันภัยมหิดลที่ได้รับ TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ พบว่า TDZ สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้ดีกว่า BA เล็กน้อย โดย TDZ 4.0 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้เกิดการเพิ่มปริมาณยอดรวมมากที่สุด 3.8±2.8 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน จะมีผลในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ โดยการส่งเสริมการสังเคราะห์ RNA และโปรตีน ซึ่งมีความสำคัญต่อการแบ่งเซลล์ จึงมีการกระตุ้นให้เกิดการสร้างยอด รวมทั้งกระตุ้นการเติบโตของตาข้าง (สัมฤทธิ์, 2544; Taiz and Zeiger, 2002) และอาหารที่เติม TDZ สามารถกระตุ้นให้กันภัยมหิดลเกิดยอดได้ดีกว่า BA อาจเป็นเพราะ TDZ เป็นไซโตไคนินที่มีฤทธิ์แรงกว่า BA จึงสามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้ดีกว่า ซึ่งสอดคล้องกับพืชอีกหลายชนิด เช่น การทดลองของ Kaneda *et al*. (1997) ที่ศึกษาการเกิดยอดจากชิ้นส่วนไฮโปคอทิลและข้อใบเลี้ยงของถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½L2 ที่เติม BA ความเข้มข้น 5.06 ไมโครโมลาร์ (1.15 มิลลิกรัมต่อลิตร) หรือ TDZ ความเข้มข้น 9.08 ไมโครโมลาร์ (2 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า TDZ สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้ดีกว่า BA โดยชิ้นส่วนไฮโปคอทิลที่ได้รับ TDZ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 36.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ได้รับ BA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 30.0 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนข้อใบเลี้ยงที่ได้รับ TDZ และ BA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 21.0 และ 14.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนี้ในการทดลองของ Khalafalla and Hattori (1999) ที่เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อใบเลี้ยงของ *Vicia faba* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (4.4-17.8 ไมโครโมลาร์) หรือ TDZ 1.0-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (4.54-18.16 ไมโครโมลาร์) หรือ BA ร่วมกับ TDZ พบว่า TDZ สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดยอดได้ดีกว่า BA เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกัน แต่ชิ้นส่วนเกิดยอดได้สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ร่วมกับ TDZ และในการศึกษาของ Zhao *et al*. (2003) ทดลองเพาะเลี้ยงข้อที่ได้จากต้นในสภาพปลอดเชื้อของ *Sophora flavescens* บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA, TDZ, 2,4-D และ NAA เป็นเวลา 30 วัน พบว่าอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 4.54 ไมโครโมลาร์ มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 8.4 ยอดต่อชิ้นส่วน และทุกชิ้นส่วนเกิดแคลลัส ยกเว้นในชุดควบคุม รวมทั้งในการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อใบเลี้ยงอายุ 7, 14 และ 21 วันของ *Morus alba* 3 สายพันธุ์ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA หรือ TDZ ความเข้มข้น 2.0, 5.0, 7.0 และ 9.0 ไมโครโมลาร์ พบว่า TDZ ทุกความเข้มข้น สามารถกระตุ้นให้ *Morus alba* ทั้ง 3 สายพันธุ์ เกิดยอดได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA (Thomas, 2003) และในการทดลองเพาะเลี้ยงข้อของ *Cardiospermum halicacabum* บนอาหาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ, BA, 2-isopentenyladenine หรือ kinetin ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า TDZ สามารถกระตุ้นการเพิ่มปริมาณยอดได้ดีที่สุด (Jahan and Anis, 2009)

ในส่วนของความยาวยอดของกันภัยมหิดล พบว่าอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ มีแนวโน้มกระตุ้นให้ยอดใหม่มีความยาวสูงสุด 11.8±5.1 มิลลิเมตร แต่ยอดส่วนใหญ่มีความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร ซึ่งอาจเกิดจากไซโตไคนินที่มีผลในการกระตุ้นการเกิดยอด แต่ยับยั้งการยืดยาวของยอด (Huetteman and Preece, 1993; Brassard *et al*., 1996) ซึ่งผลเช่นนี้พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ถั่วเหลือง (Kaneda *et al*., 1997) *Vicia faba* L. (Khalafalla and Hattori, 1999)

จากการทดลองของสาวินี (2549) เมื่อเพาะเลี้ยงกันภัยมหิดล โดยใช้ชิ้นส่วนข้อของต้นที่เพาะเลี้ยงได้ในสภาพหลอดทดลอง และ ชิ้นส่วนข้อของต้นที่ปลูกในเรือนเพาะชำบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ เพียงอย่างเดียว หรือ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าในอาหารทุกสูตรรวมทั้งสูตรที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสที่ฐานปริมาณมาก ดังนั้น ในการทดลองครั้งนี้ จึงลดความเข้มข้นของอาหารเพาะเลี้ยงลงเหลือเพียงครึ่งเดียว (½ MS) พบว่าชิ้นส่วนมีการสร้างแคลลัสที่ฐานลดลง อาจเป็นผลมาจากปริมาณธาตุอาหาร วิตามิน และองค์ประกอบทางอินทรีย์อื่นๆ ที่ลดลง จึงส่งผลให้พืชมีการแบ่งเซลล์ลดลงด้วย จึงทำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสน้อยลง แต่เมื่อได้รับ TDZ หรือ BA ความเข้มข้นสูงขึ้น แคลลัสจะเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาในส่วนของเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และจำนวนยอดรวมที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่าง TDZ ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 ไมโครโมลาร์ จึงเลือกใช้ TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ในการทดลองต่อไป

ผลของ GA_3 ต่อการชักนำให้ยอดยืดยาว

จากยอดที่เกิดขึ้นในการทดลองที่ 1 ส่วนใหญ่มีความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร ซึ่งไม่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้เพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณยอด หรือชักนำให้เกิดรากต่อไป รวมทั้งยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะกระจุกตัวรวมกันเป็นกลุ่ม ทำให้สังเกตได้ยากว่าเป็นยอดที่เกิดขึ้นใหม่ หรือใบประกอบของยอดใหม่ จึงศึกษาผลของ GA_3 ในการกระตุ้นให้ยอดใหม่มีการยืดยาวขึ้น โดยการเพาะเลี้ยง 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 เพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำให้เกิดยอดจำนวนมาก (จากการทดลองที่ 1) แล้ว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0–15.0 ไมโครโมลาร์ พบว่า GA_3 สามารถกระตุ้นให้ยอดยืดยาวมากขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้ยอดมีความยาวมากที่สุด 14.0±5.4 มิลลิเมตร หรือ 1.8 เท่าของยอดที่ไม่ได้รับ GA_3 เนื่องจากคุณสมบัติของ GA_3 มีผลกระตุ้นการยืดยาวของเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณลำต้นที่ต่ำจากปลายยอดลงมา (Taiz and Zeiger, 2002) และความยาวยอดเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ GA_3 ที่ได้รับสูงขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นถึง 15.0 ไมโครโมลาร์ การยืดยาวของยอดจะลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Vengadesan *et al*. (2000, 2003a) ที่เพาะเลี้ยงยอดของ *Acacia sinuata* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากชิ้นส่วนไฮโปคอทิล และชิ้นส่วนข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS หรือ ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.58-4.33 ไมโครโมลาร์ พบว่ายอดมีแนวโน้มในการตอบสนองต่อ GA_3 ในแนวทางเดียวกัน โดยยอดมีความยาวเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับ GA_3 ความเข้มข้นสูงขึ้นถึง 1.73 และ 1.7 ไมโครโมลาร์ ซึ่งกระตุ้นให้ยอดมีความยาวสูงสุด 5.8 และ 3.5 เซนติเมตร ตามลำดับ และยอดมีความยาวลดลง เมื่อความเข้มข้นของ GA_3 เพิ่มขึ้น และในการทดลองกระตุ้นการยืดยาวของยอด *Andrographis paniculata* (Purkayastha *et al.*, 2008) โดยเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-5.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเมื่อ GA_3 ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นถึง 1.0 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้ยอดมีความยาวสูงสุด 3.9±0.13 เซนติเมตร และเมื่อได้รับ GA_3 ความเข้มข้นสูงขึ้น ยอดที่ได้กลับมีความยาวลดลง ส่วนในการทดลองเพาะเลี้ยงยอด *Jatropha curcas* บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0–5.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 10 วัน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ GA_3 เพิ่มขึ้นถึง 0.5 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้ยอดมีความยาวสูงสุด 1.5 เซนติเมตร และ GA_3 ความเข้มข้นสูงขึ้นการยืดยาวของยอดจะลดลง (Purkayastha *et al.*, 2010) นอกจากความเข้มข้นของ GA_3 ที่สูงเกินไปจะไม่สามารถกระตุ้นการยืดยาวของยอดกันภัยมหิดลได้แล้ว ยังพบว่ายอดที่ได้มีลักษณะผอมบาง และใบมีขนาดเล็กกว่าปกติเมื่อเปรียบเทียบกับหลายชนิดที่กล่าวมาข้างต้น ความเข้มข้นของ GA_3 ที่กระตุ้นการยืดยาวของยอดกันภัยมหิดลจะสูงกว่ามาก

ในส่วนของจำนวนยอดนั้น พบว่าเมื่อได้รับ GA_3 จะมียอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตรเพิ่มขึ้น โดยที่ GA_3 ความเข้มข้น 0.0 ไมโครโมลาร์ มียอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร จำนวน 1.3±1.0 ยอด และเพิ่มขึ้นประมาณ 4 เท่าเป็น 5.3±3.5 และ 6.0±1.4 ยอด เมื่อความเข้มข้นของ GA_3 เพิ่มขึ้นเป็น 10.0 และ 15.0 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ และยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตรมีจำนวนเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 1 ประมาณ 5 เท่า เมื่อได้รับ GA_3 ความเข้มข้น 10.0 และ 15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นผลมาจากยอดที่มีขนาดเล็กจำนวนหนึ่งที่ไม่สามารถตรวจนับได้ มีการเจริญยืดยาวทำให้มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากการตรวจนับในสัปดาห์ที่ 4 ซึ่งสอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อใบเลี้ยง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

northern red oak (*Quercus rubra* L.) บนอาหารกึ่งแข็งสูตร WPM ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-17.6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0-2.9 ไมโครโมลาร์ พบว่า การเติม GA_3 ส่งผลให้จำนวนยอดที่ตรวจนับได้ในสัปดาห์ที่ 6 เพิ่มขึ้นจากจำนวนยอดที่ตรวจนับได้ในสัปดาห์ที่ 3 (Vengadesan and Pijut, 2009) ถึงแม้ว่าการเติม GA_3 ความเข้มข้น 10.0 และ 15.0 ไมโครโมลาร์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงจะส่งผลให้จำนวนยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตรมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลให้จำนวนยอดรวมมีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 4.8±3.3 ยอด เป็น 7.3±4.3 และ 8.8±2.2 ยอด เมื่อยอดได้รับ GA_3 ความเข้มข้น 10.0 และ 15.0 ไมโครโมลาร์ตามลำดับ

วิธีที่ 2 เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อกันภัยมหิดลบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0–10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า GA_3 ไม่มีผลทำให้จำนวนยอดและความยาวยอดแตกต่างกันทางสถิติ โดยชิ้นส่วนที่ทำการทดลองไม่มีการเพิ่มปริมาณยอด เนื่องจากในการทดลองนี้ใช้อาหารสูตร MS ซึ่งต่างจากการทดลองที่ 1 และวิธีการที่ 1 ที่ใช้อาหารสูตร ½MS แม้ว่าจะใช้ TDZ 2 ไมโครโมลาร์ เพียงอย่างเดียว ก็ไม่สามารถกระตุ้นให้มีการเพิ่มจำนวนยอดได้ สอดคล้องกับการทดลองของ Kaneda *et al*. (1997) ที่ศึกษาผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเกิดยอด โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนไฮโปคอทิลของถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) บนอาหารสูตร 7 สูตร ดังนี้ MS, ½MS, B5, ½B5, L2, ½L2 และ MSB พบว่าการใช้อาหารเพาะเลี้ยงที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง (½MS, ½B5 และ ½L2) กระตุ้นให้เกิดยอดได้มากกว่าการใช้ความเข้มข้นเต็มสูตร ทั้งนี้อาจเป็นผลจากความเข้มข้นขององค์ประกอบต่างๆในอาหารที่มีมากเกินไปมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้ แต่ GA_3 ความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้ยอดใหม่ของกันภัยมหิดลมีความยาวเพิ่มขึ้น 1.36 เท่าของยอดที่ไม่ได้รับ GA_3 แม้จะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยยอดที่ได้รับ GA_3 จะมีลักษณะปล้องที่ยืดยาวขึ้น และใบที่คลี่กางออกอย่างชัดเจน ส่วนยอดที่ไม่ได้รับ GA_3 จะไม่สามารถสังเกตเห็นข้อปล้องได้ และใบไม่คลี่กางออก

เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการที่ 1 ที่เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารที่เติม TDZ แล้วตามด้วย GA_3 กระตุ้นให้เกิดยอดใหม่ และการยืดยาวของยอดดีกว่า ดังนั้นในการเพิ่มปริมาณยอดกันภัยมหิดลช่วงแรกควรเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารที่เติม TDZ เพียงอย่างเดียวเพื่อเพิ่มปริมาณยอด และย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารที่เติม GA_3 เพื่อกระตุ้นการยืดยาวของยอดใหม่ที่เกิดขึ้น สำหรับการเพิ่มปริมาณยอด และกระตุ้นการยืดยาวของยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม TDZ 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้นต่างๆ ควรมีการศึกษาในโอกาสต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของ NAA และ IAA ต่อการชักนำให้ยอดเกิดราก

จากการชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดรากโดยเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารที่เติม NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ พบว่าชิ้นส่วนสามารถเกิดรากได้เฉพาะบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 15.0 ไมโครโมลาร์ เพียง 12.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Thiem (2003) ที่เพาะเลี้ยงยอดของ *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA, IBA หรือ IAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าชิ้นส่วนเกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.68 ไมโครโมลาร์ หรือ IAA ความเข้มข้น 2.85 และ 11.42 ไมโครโมลาร์ เช่นเดียวกับการทดลองของ Rout (2005) ที่เพาะเลี้ยงยอดของ *Clitoria ternatea* Linn. บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม NAA, IBA หรือ ใช้ทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน พบว่าชิ้นส่วนเกิดรากได้สูงสุด 90.2 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.34 ไมโครโมลาร์ ในการทดลองครั้งนี้ ชิ้นส่วนยอดของกันภัยมหิดลเกิดรากได้น้อยมาก แม้จะเลือกใช้ชนิด และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ประสบความสำเร็จในการชักนำรากของพืชหลายชนิด เช่น *Acacia sinuate* (Vengadesan *et al*., 2000) *Pueraria lobata* (Thiem, 2003) *Arachis correntina* (Mroginski *et al*., 2004) และ *Clitoria ternatea* (Rout, 2005) แต่ก็มีพืชอีกหลายชนิดเช่นเดียวกันที่ประสบความสำเร็จค่อนข้างต่ำในการชักนำรากด้วยวิธีที่คล้ายกันนี้ เช่น สร้อยสยาม (*Bauhinia siamensis*) (ฐิติมา, 2552) และ *Ceratonia siliqua* (Romano *et al*., 2002) เป็นต้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพืชแต่ละชนิดมีความสามารถในการตอบสนองต่อการชักนำรากได้แตกต่างกันซึ่งเป็นผลจากพันธุกรรมของพืชเอง และ Dhar and Upreti (1999) รายงานการชักนำให้เกิดรากของชิ้นส่วนที่เจริญเติบโตเต็มที่จะประสบความสำเร็จโดยการเลือกใช้วิธีจากการแนะนำของ Gasper and Coumans (1987) โดยใช้ 2 ขั้นตอนในการชักนำให้เกิดราก คือการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนที่เจริญเติบโตเต็มที่บนอาหารที่เติมออกซิน จากนั้นย้ายชิ้นส่วนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยวิธีการนี้ให้ผลดีในพืชตระกูลถั่วหลายชนิด เช่น *Dalbergia latifolia* (Ravishankar and Jagdish, 1988) *Prosopis cineraria* (Shekhawat *et al*., 1993) *Bauhinia vahlii* (Dhar and Upreti, 1999) และ *Acacia sinuata* (Vengadesan *et al*., 2003a) เป็นต้น

จากรายงานของ Blakesley *et al.* (1991) ที่ว่าพืชไม่ได้ต้องการออกซินในทุกระยะของการเกิดราก และประสิทธิภาพของออกซินในการกระตุ้นให้เกิดรากจะสูงสุด เมื่อใช้ความเข้มข้นสูงในระยะแรกหลังจากตัดชิ้นส่วน จึงทดลองชักนำรากโดยการจุ่มโคนยอดกันภัยมหิดลในสารละลาย NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที จากนั้นเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า การจุ่มโคนยอดใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารละลาย NAA หรือ IAA ไม่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดรากได้ และเกิดแคลลัสที่รอยตัดบริเวณฐานปริมาณมาก อาจเกิดจากความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการทดลองต่ำเกินไปจึงไม่สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดรากได้ หรือความเข้มข้นอาจจะสูงเกินไปจนยับยั้งการเกิดราก แต่กระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดการแบ่งเซลล์เป็นแคลลัสแทน ผลที่ได้มีความแตกต่างจากฐิติมา (2552) ที่มีการรายงานการศึกษาในสร้อยสยาม (*Bauhinia siamensis*) ซึ่งเป็นไม้เลื้อยในวงศ์ Fabaceae เช่นเดียวกัน ว่าการจุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0-5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที หรือสารเร่งรากเซราดิกซ์ชนิดผง สามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้สูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งดีกว่าการเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารที่เติม NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0-5 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเกิดรากสูงสุดเพียง 40 เปอร์เซ็นต์ และในการทดลองของ Romano *et al*. (2002) ที่ทดลองเปรียบเทียบการชักนำราก *Ceratonia siliqua* 2 วิธี พบว่าการจุ่มโคนยอดในสารละลายออกซินสามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ดีกว่าการเติมออกซินลงในอาหารเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกัน

การชักนำให้ชิ้นส่วนปล้องเกิดแคลลัส และการเปลี่ยนแปลงของแคลลัส

การชักนำชิ้นส่วนปล้องให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 5.0 และ 15.0 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้ชิ้นส่วนปล้องเกิดแคลลัสมากที่สุด 0.964, 1.223 และ 1.004 กรัม ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองเพิ่มปริมาณแคลลัสของ *Phyllanthus caroliniensis* (Catapan *et al*, 2000) โดยใช้ชิ้นส่วนข้อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA, IBA หรือ IAA ความเข้มข้น 0-40 ไมโครโมลาร์ พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D หรือ NAA สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ ส่วนอาหารที่เติม IBA หรือ IAA ไม่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ และในการทดลองของ Gopi and Vatsala (2006) ซึ่งทดลองเพิ่มปริมาณแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของ *Gymnema sylvestre* บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA, IBA หรือ IAA ความเข้มข้น 0-5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D หรือ NAA สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้มากกว่าอาหารที่เติม IBA หรือ IAA แต่ในพืชบางชนิดจะเกิดแคลลัสได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมออกซิน ร่วมกัน 2 ชนิด หรือ ออกซินร่วมกับไซโตไคนิน เช่น *Rauvolfia tetraphylla* (Anitha and Kumari, 2007) *Capsicum annuum* (Ummaheswari and Lalitha, 2007) และ *Ceropegia juncea* (Nikam and Savant, 2009) เป็นต้น

นอกจากนั้นยังพบว่า ชนิดและความเข้มข้นของออกซินที่ใช้มีผลทำให้แคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่แตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากออกซินต่างชนิดกันส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของพืชใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ระดับเซลล์ที่แตกต่างกัน (Krikorian *et al*, 1987) จึงทำให้ลักษณะของแคลลัสแตกต่างกันด้วย โดยอาหารที่เติม 2,4-D ทุกความเข้มข้นมีผลทำให้แคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะฉ่ำน้ำ และอาหารที่เติม NAA ทุกความเข้มข้น และ IAA ความเข้มข้น 5.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดรากได้ สำหรับการเกิดแคลลัสของพืชนั้นจะมีการตอบสนองต่อชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญ เติบโตแตกต่างกันไป เช่น การเกิดแคลลัสลักษณะต่างๆ ของ *Astragalus adsurgens* (Luo and Jia, 1998) จากส่วนใต้ใบเลี้ยงได้แก่ แคลลัสเกาะกันหลวมๆ สีเหลือง จากอาหารสูตรที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 9 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.2 ไมโครโมลาร์ และแคลลัสลักษณะเกาะกันหลวมๆ สีน้ำตาลจากอาหารสูตรที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 9 ไมโครโมลาร์ เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังมีแคลลัสเกาะกันแน่นสีเขียว และสีเขียวปนน้ำตาลเกิดขึ้นปะปนกับแคลลัสทั้งสองชนิด และแคลลัสสีเขียวปนขาวจากรากของ *Clitoria ternatea* (Shahzad *et al*, 2007) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่มี BA ความเข้มข้น 10-20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์

เมื่อนำแคลลัสที่เกิดขึ้น ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมออกซินที่มีความเข้มข้นต่ำลงเป็น 1.0 และ 2.5 ไมโครโมลาร์ หรือ อาหารที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ พบว่าแคลลัสไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดหรือเอ็มบริโอได้ แต่แคลลัสมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลจากชนิดของชิ้นส่วนเริ่มต้น หรืออัตราส่วนระหว่างออกซิน และไซโตไคนินที่ไม่เหมาะสมทำให้แคลลัสไม่สามารถพัฒนาเป็นยอด รากหรือเอ็มบริโอได้ (Krikorian *et al*, 1987)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. TDZ ความเข้มข้น 4.0 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อกันภัยมหิดลเกิดยอดรวมได้สูงสุด 3.8±2.8 ยอด และ TDZ ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดมีความยาวสูงสุด 11.75±5.12 มิลลิเมตร

2. เมื่อเปรียบเทียบการกระตุ้นยอดให้ยืดยาวด้วย 2 วิธี คือ การใช้ TDZ แล้วตามด้วย GA_3 และการใช้ TDZ ร่วมกับ GA_3 พบว่า การใช้ TDZ แล้วตามด้วย GA_3 ความเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดกันภัยมหิดลมีความยาวสูงสุด 14.0±5.4 มิลลิเมตร เป็น 1.8 เท่าของยอดที่ไม่ได้รับ GA_3 ส่วนการใช้ TDZ ร่วมกับGA_3 ความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้ยอดกันภัยมหิดลมีความยาวสูงสุด 18.3±3.2 มิลลิเมตร เป็น 1.36 เท่าของยอดที่ไม่ได้รับ GA_3

3. NAA ความเข้มข้น 15.0 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ยอดกันภัยมหิดลเกิดรากได้ 12.5 เปอร์เซ็นต์ และมีความยาวรากเฉลี่ย 12.33±3.27 มิลลิเมตร

4. ในการเพาะเลี้ยงปล้องกันภัยมหิดล อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด 1.223±0.744 กรัม แคลลัสที่เกิดขึ้นไม่เกิดการพัฒนาเป็นโครงสร้างอื่นๆ

ข้อเสนอแนะ

ในการเพิ่มปริมาณยอดกันภัยมหิดล ช่วงแรกควรเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารที่เติม TDZ เพียงอย่างเดียวเพื่อเพิ่มปริมาณยอด และย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารที่เติม GA_3 เพื่อกระตุ้นการยืดยาวของยอดใหม่ที่เกิดขึ้น สำหรับการเพิ่มปริมาณยอด และกระตุ้นการยืดยาวของยอดบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม TDZ 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้นต่างๆ ควรมีการศึกษาในโอกาสต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนการชักนำรากควรเพิ่มความเข้มข้นของ NAA และ IAA ขึ้น และลดระยะเวลาที่ได้รับออกซินลง อาจทำให้กันภัยมหิดลเกิดรากได้ดีขึ้น หรือทดลองใช้ IBA ในการชักนำราก เนื่องจากเป็นออกซินที่สามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ดีในพืชหลายชนิด ซึ่งอาจให้ผลดีในการชักนำรากกันภัยมหิดลเช่นกัน

การชักนำชิ้นส่วนปล้องให้เกิดแคลลัส และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแคลลัส พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการทดลองไม่สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสได้ จึงควรมีการศึกษาหาชนิด และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นให้แคลลัสเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเอ็มบริโอหรืออวัยวะอื่นในโอกาสต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จิรายุพิน จันทรประสงค์ และ อฤชร พงษ์ไสว. 2541. **ไม้เลื้อยประดับ.** บ้านและสวน, กรุงเทพฯ.

ฐิติมา ธาราวุฒิ. 2552. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นสร้อยสยาม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มูลนิธิสวนหลวง ร.9. 2542. **พรรณไม้ในสวนหลวง ร.9.** บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด(มหาชน), กรุงเทพฯ.

ราชบัณฑิตยสถาน. 2546. **อนุกรมวิธานพืช อักษร ก.** พิมพ์ครั้งที่ 2. อรุณการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ศศิวิมล แสวงผล และ ทยา เจนจิตติกุล. 2552. **กันภัยมหิดล.** มหาวิทยาลัยมหิดล. แหล่งที่มา: http://www.mahidol.ac.th/muthai/kanphai_mu.htm, 3 มีนาคม 2554.

สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์. 2544. **สรีรวิทยาการพัฒนาการพืช.** โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.

สาวินี ป้อมภา. 2549. **การเพิ่มปริมาณยอด และการชักนำให้เกิดแคลลัสในกันภัยมหิดล.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำนักเลขาธิการนายกรัฐมนตรี สำนักนายกรัฐมนตรี. 2543. **พืชถิ่นเดียวและพืชหายากของประเทศไทย.** สำนักนายกรัฐมนตรี, กรุงเทพฯ.

Anitha, S. and B.D.R. Kumari. 2007. Influence of auxins combinations on accumulation of reserpine in callus of *Rauvolfia tetraphylla* L. **Pakis. J. Biol. Sci.** 10(21): 3900-3904.

Ault, J.R. and K. Havens. 1999. Micropropagation of Baptisia 'Purple Smoke'. **HortScience** 34: 353-354.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Blakesley, D., G.D. Weston and J.F. Hall. 1991. The role of endogenous auxin in root initiation. part I: evidence from studies on auxin application and analysis of endogenous levels. **Plant Growth Regul.** 10: 341-353.

Brassard, N., L. Brissette, D. Lord and S. Laliberte. 1996. Elongation, rooting and acclimatization of micropropagated shoots from mature material of hybrid larch. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 44: 37–44.

Catapan, E., M.F. Otuki and A.M. Viana. 2000. *In vitro* culture of *Phyllanthus caroliniensis* (Euphorbiaceae). **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 62: 195–202.

Cheepala, S.B., N.C. Sharma and S.V. Sahi. 2004. Rapid *in vitro* regeneration of *Sesbania drummondii*. **Biol. Plant.** 48 (1): 13-18.

Devi, B.C. and V. Narmathabai. 2011. Somatic embryogenesis in the medicinal legume *Deamodium motorium* (Houtt.) Merr. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 106: 409-418.

Dhar, U. and J. Upreti. 1999. *In vitro* regeneration of a mature leguminous liana (*Bauhinia vahlii* Wight & Arnott). **Plant Cell Rep.** 18: 664-669.

Gaspar, T.H. and M. Coumans. 1987. Root formation, pp. 202-217. *In* J.M. Bonga and D.J. Durzan, eds. **Cell and Tissue Culture in Forestry vol 2.** Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.

Gopi, C. and T.M. Vatsala. 2006. *In vitro* studies on effects of plant growth regulators on callus and suspension culture biomass yield from *Gymnema sylvestre* R.Br. **Afr. J. Biotechnol.** 5(12): 1215-1219.

Gresshoff, P.M. and C.H. Doy. 1972. Development and differentiation of haploid Lycopersicon esculentum (Tomato). **Planta** 170:161–170.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hoque, A., A. Nahar, M.A. Razvy, M.K. Biswas and A.H. Kabir. 2006. Micropropagation of Water Chesnut (*Trapa* sp.) through local varieties of Rajshahi division. **Asian J. Plant Sci.** 5(3): 409-413.

Huetteman, C.A. and J.E. Preece. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 33: 105-119.

Jahan, A.A. and M. Anis. 2009. *In vitro* rapid multiplication and propagation of *Cardiospermum halicacabum* L. through axillary bud culture. **Acta Physiol. Plant.** 31: 133-138.

Kaneda, Y., Y. Tabei, S. Nishimura, K. Harada, T. Akihama and K. Kitamura. 1997. Combination of thidiazuron and basal media with low salt concentrations increases the frequency of shoot organogenesis in soybeans [*Glycine max* (L.) Merr.]. **Plant Cell Rep.** 17: 8-12.

Khalafalla, M.M. and K. Hattori. 1999. A combination of thidiazuron and benzyladenine promotes multiple shoot production from cotyledonary node explants of faba bean (*Vicia faba* L.). **Plant Growth Regul.** 27: 145-148.

Krikorian, A.D., K. Kelly and D.L. Smith. 1987. Hormones in tissue culture and micropropagation, pp. 593-613. *In* P.J. Davies, ed. **Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development.** Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.

Luo, J. P. and J. F. Jia. 1998. Callus induction and plant regeneration from hypocotyl explants of forage legume *Astragalus adsurgens*. **Plant Cell Rep.** 17: 567-570.

Mroginski, E., H.Y. Rey, A.M. Gonzalez and L.A. Mroginski. 2004. Thidiazuron promotes *in vitro* plant regeneration of *Arachis correntina* (Leguminosae) via organogenesis. **J. Plant Growth Reg.** 23: 129-134.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

Nikam, T.D. and R.S. Savant. 2009. Multiple shoot regeneration and alkaloid cerpegin accumulation in callus culture of *Ceropegia juncea* Roxb. **Physiol. Mol. Biol. Plants** 15(1): 71-77.

Parveen, S. and A. Shahzad. 2010. TDZ-induced high frequency shoot regeneration in *Cassia sophera* Linn. via cotyledonary node explants. **Physiol. Mol. Biol. Plants** 16(2): 201-206.

_____, A. Varshney, M. Anis and I.M. Aref. 2011. Influence of cytokinins, basal media and pH on adventitious shoot regeneration from excised root cultures of *Albizia lebbeck*. **J. For. Res.** 22(1): 47-52.

Purkayastha, J., T. Sugla, A. Paul, S. Solleti and L. Sahoo. 2008. Rapid *in vitro* multiplication and plant regeneration from nodal explants of *Andrographis paniculata*: a valuable medicinal plant. **In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant** 44: 442-447.

_____, _____, _____, _____, P. Mazumdar, A. Basu, A. Mohommad, Z. Ahmed and L. Sahoo. 2010. Efficient *in vitro* plant regeneration from shoot apices and gene transfer by particle bombardment in *Jatropha curcas*. **Biol. Plant.** 54 (1): 13-20.

Ravishankar, R.V. and C.K.S. Jagdish. 1988. *In vitro* regeneration of plantlets from shoot callus of mature trees of *Dalbergia latifolia*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 18: 77-83.

Rey, H.Y., A.M. Scocchi and A.M. Gonzalez. 2000. Plant regeneration in *Arachis pintoi* (Leguminosae) through leaf culture. **Plant Cell Rep.** 19: 856-862.

Romano, A., S. Barros and M.A. Martins-Loução. 2002. Micropropagation of the Mediterranean tree *Ceratonia siliqua*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 68: 35-41.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Rout, G.R. 2005. Micropropagation of *Clitoria ternatea* Linn. (Fabaceae) an important medicinal plant. **In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant** 41: 516-519.

Schoene, G and T. Yeager. 2005. Micropropagation of sweet viburnum (*Viburnum odoratissimum*). **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 83: 271-277.

Shahzad, A., M. Faisal and M. Anis. 2007. Micropropagation through excised root culture of *Clitoria ternatea* and comparison between *in vitro*-regenerated plants and seedlings. **Ann. Biol.** 150: 341-349.

Shekhawat, N.S., T.S. Rathore, R.P. Singh, N.S. Doera and S.R. Rao. 1993. Factors affecting *in vitro* clonal propagation of *Prosopis cineraria.* **Plant Growth Regul.** 12: 273-280.

Singh, N.D., L. Sahoo, N.B. Sarin and P.K. Jaiwal. 2003. The effect of TDZ on organogenesis and somatic embryogenesis in pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp). **Plant Sci.** 164: 341-347.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. **Plant Physiology.** 3rd ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland.

Thiem, B. 2003. *In vitro* propagation of isoflavone-producing *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi. **Plant Sci.** 165: 1123-1128.

Thomas, T.D. 2003. Thidiazuron induced multiple shoot induction and plant regeneration from cotyledonary explants of mulberry. **Biol. Plant.** 46 (4): 529-533.

Umamaheswari, A. and V. Lalitha. 2007. *In vitro* effect of various growth hormones in *Capsicum annuum* L. on the callus induction and production of capsaicin. **J. Plant Sci.** 2(5): 545-551.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Vengadesan, G., A. Ganapathi, R.P. Anand and V.R. Anbaznagan. 2000. *In vitro* organogenesis and plant formation in *Acacia sinuata.* **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 61: 23-28.

_____, _____, R.P. Anand and N. Selvarai. 2003a. *In vitro* propagation of *Acacia sinuata* (Lour.) Merr. from nodal segments of a 10-year-old tree. **In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant** 39: 409-414.

_____, _____, S. Amutha and N. Selvarai. 2003b. High-frequency plant regeneration from cotyledon callus of *Acacia sinuata* (Lour.) Merr. **In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant** 39: 28-33.

Vengadesan, G. and P.M. Pijut. 2009. *In vitro* propagation of northern red oak (*Quercus rubra* L.). **In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant** 45: 474-482.

Vidoz, M.L., P. Klusacek, H.Y. Rey and L.A. Mroginski. 2006. *In vitro* plant regeneration of *Arachis correntina* (Leguminosae) through somatic embryogenesis and organogenesis. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 86: 111-115.

Xiao-jie, Z., Y. Ling and S. Hai-long. 2011. Shoot multiplication and plant regeneration in *Caragana fruticosa* (Pall.) Besser. **J. For. Res.** 22(4): 561-567.

Zhao, D.L., G.Q. Guo, X.Y. Wang and G.C. Zheng. 2003. *In vitro* micropropagation of a plant species *Sophora flavescens*. **Biol. Plant.** 47: 117-120.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 1 องค์ประกอบอาหารพื้นฐานสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

ชื่อสารเคมี	มิลลิกรัมต่อลิตร
Macroelements	
NH_4NO_3	1,650.000
KNO_3	1,900.000
$CaCl_2.2H_2O$	440.000
$MgSO_4.7H_2O$	370.000
KH_2PO_4	170.000
Microelements	
H_3BO_3	6.200
$MnSO_4.H_2O$	16.900
$ZnSO_4.7H_2O$	6.140
KI	0.830
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.250
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Na_2EDTA	37.250
$FeSO_4.7H_2O$	27.850
Organic compounds	
Glycine	2.000
Myo-inositol	100.000
Nicotinic acid	0.500
Pyridoxcine-HCl	0.500
Thaiamine-HCl	0.100
Sucrose	30,000.000
Agar	8,000.000
pH	5.6-5.7

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	Df	SS	MS	F
Treatment	8	23.6000	2.9500	0.76^{ns}
Error	36	139.2000	3.8667	
Total	44	162.8000		

CV = 113.45%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	8	1.5111	0.1889	0.65^{ns}
Error	36	10.4000	0.2889	
Total	44	11.9111		

CV = 51.46%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดรวม เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	8	25.7778	3.2222	0.79*
Error	36	146.0000	4.0556	
Total	44	171.7778		

CV = 72.50%

$LSD_{0.05}$ = 1.9

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ หรือ BA ความเข้มข้น 0.0-4.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	8	81.9775	10.2472	0.42ns
Error	38	917.5119	24.1451	
Total	46	999.4894		

CV = 52.13%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร ก่อนได้รับ GA_3 เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	3	3.1875	1.0625	1.31^{ns}
Error	12	9.75	0.8125	
Total	15	12.9375		

CV = 31.62%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร ก่อนได้รับ GA_3 เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	3	0.5	0.1667	0.27^{ns}
Error	12	7.5	0.625	
Total	15	8.0		

CV = 64.09%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร หลังได้รับ GA_3 เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	3	1.6875	0.5625	0.22^{ns}
Error	12	30.2500	2.5208	
Total	15	31.9375		

CV = 65.17%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดที่มีความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร หลังได้รับ GA_3 เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	3	69.6875	23.2292	5.33^{*}
Error	12	52.2500	4.3542	
Total	15	121.9375		

CV = 58.57%

$LSD_{0.05}$ = 3.7

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดรวม เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	3	58.1875	19.3958	1.97^{ns}
Error	12	118.25	9.85417	
Total	15	176.4375		

CV = 50.73%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	3	325.9467	108.649	5.56^{*}
Error	55	1074.189	19.5307	
Total	58	1400.136		

CV = 39.39%

$LSD_{0.05}$ = 3.1

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0-10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	2	0.2222	0.1111	0.5^{ns}
Error	6	1.3333	0.2222	
Total	8	1.5556		

CV = 60.61%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงข้อกันภัยมหิดลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.0-10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	2	30.8333	15.4167	2.2699^{ns}
Error	4	27.1667	6.7917	
Total	6	246.2222		

CV = 16.28%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักของแคลลัสกันภัยมหิดล เมื่อเพาะเลี้ยงปล้องบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.0-15.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F
Treatment	9	11.2135	1.2459	4.81*
Error	90	23.2953	0.2588	
Total	99	34.5087		

CV = 87.55%

$LSD_{0.05}$ = 0.446

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวสาวินี ลายทอง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	21 พฤษภาคม 2527
สถานที่เกิด	อ.บางละมุง จังหวัดชลบุรี
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนจุฬาภรณราชวิทยาลัย ชลบุรี
	วท.บ. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์