



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์)
ปริญญา

พฤกษศาสตร์

สาขา

พฤกษศาสตร์

ภาควิชา

เรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุล *Uvaria* บางชนิด

In Vitro Culture of Some Species in Genus *Uvaria*

นามผู้วิจัย นางสาววรรธน์ บุญสนองสุภา

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์มาลี ณ นคร, Ph.D.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ลลิต์ กาวิตะ, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิตราพรรณ พิลัง, วท.ม.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์นรินทร์ จันทวงศ์, Dr.nat.tech.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อัจฉกหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 26 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2549

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุล *Uvaria* บางชนิด

In Vitro Culture of Some Species in Genus *Uvaria*

โดย

นางสาววรรรัตน์ บุญสนองสุภา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์)

พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1952-9

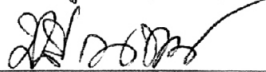
วรรณัน บุญสนองสุภา 2549: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุล *Uvaria* บางชนิด ปริญญาวิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์) สาขาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ ประชานกรรมการที่ปรึกษา:
รองศาสตราจารย์มาลี ณ นคร, Ph.D. 109 หน้า
ISBN 974-16-1952-9

การขยายพันธุ์พืชสกุล *Uvaria* บางชนิด ได้แก่ กล้วยไอ้พอน กล้วยหนูสัง และพิพานน้อยในสภาพปลอดเชื้อ ได้นำชิ้นส่วนของพืชทั้ง 3 ชนิดที่เก็บในฤดูต่าง ๆ มาฟอกฆ่าเชื้อ พบว่าในฤดูร้อน (เดือนมีนาคม-พฤษภาคม) มีการปนเปื้อนต่ำสุด และรอดชีวิตสูงสุด เมื่อศึกษาผลของยาปฏิชีวนะ 4 ชนิดในการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงของกล้วยไอ้พอน พบว่า rifampicin ลดการปนเปื้อนได้สูงสุด

การเพิ่มปริมาณยอดพบปัญหาการหลุดร่วงของใบ จึงทดสอบผลการเติมและไม่เติม $AgNO_3$ 29.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA 0-20 ไมโครโมลาร์ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตร basal-MS 4 สัปดาห์ พบว่า การเติม $AgNO_3$ สามารถลดการหลุดร่วงของใบได้ 80 และ 81.3 เปอร์เซ็นต์ ในกล้วยไอ้พอนและกล้วยหนูสัง ตามลำดับ ในกล้วยไอ้พอน พบว่าการเติมและไม่เติม $AgNO_3$ ไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของจำนวนและความยาวยอด แต่ความเข้มข้นของ BA มีผล ที่ 10-15 ไมโครโมลาร์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด 2.1-2.3 ยอด และที่ BA 0 ไมโครโมลาร์ ยอดใหม่มีค่าเฉลี่ยความยาวยอดสูงสุด 0.84 เซนติเมตร ในกล้วยหนูสัง $AgNO_3$ ไม่มีผลต่อจำนวนยอด แต่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของความยาวยอดใหม่ ยอดที่ได้รับ $AgNO_3$ มีความยาวมากกว่ายอดที่ไม่ได้รับ $AgNO_3$ และที่ BA 15 ไมโครโมลาร์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด 4.2 ยอด และที่ BA 0 ไมโครโมลาร์ ความยาวยอดมีค่าเฉลี่ยสูงสุด 0.97 เซนติเมตร เนื่องจากยอดใหม่ของกล้วยไอ้พอนที่เพิ่มปริมาณได้จะค่อนข้างสั้น จึงทดลองผลของ GA_3 ในการกระตุ้นให้ยอดยืดยาว โดยเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารที่เติม BA 10 ไมโครโมลาร์ $AgNO_3$ 29.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 0-5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตร basal-MS 4 สัปดาห์ พบว่า GA_3 3 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้ยอดใหม่ยืดยาวได้สูงสุด และยอดหลักมีจำนวนข้อมากที่สุด นอกจากนี้ได้ศึกษาผลของ TDZ ความเข้มข้น 0-20 ไมโครโมลาร์ ในการเพิ่มปริมาณยอดกล้วยไอ้พอน พบว่าที่ 15 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดยอดได้สูงสุด 2.6 ยอด และความเข้มข้น 0, 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดมีความยาวสูงสุด 0.84 เซนติเมตร การชักนำให้ยอดของกล้วยไอ้พอนและกล้วยหนูสังเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อยังไม่ประสบความสำเร็จ แต่การชักนำรากกล้วยไอ้พอนในสภาพธรรมชาติโดยจุ่มโคนลงในสารละลาย IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 2,500-10,000 ไมโครโมลาร์ นาน 1-2 นาที แล้วนำไปย้ายปลูก เมื่อครบ 35 วัน พบว่า IBA 8,000 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดรากได้ 20 เปอร์เซ็นต์

การเพาะเลี้ยงใบอ่อนของกล้วยไอ้พอนและพิพานน้อยบนอาหารที่เติม NAA 0-2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA 0-30 ไมโครโมลาร์ เพื่อชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน พบว่า ในกล้วยไอ้พอนเกิดแคลลัสเพียงอย่างเดียว แต่ในพิพานน้อยเกิดทั้งแคลลัส โครงสร้างรูปกลม (module) และโซมาติกเอ็มบริโอระยะ globular

วรรณัน บุญสนองสุภา
ลายมือชื่อนี้


ลายมือชื่อประธานกรรมการ

19 / พ.ค. / 49

Worarat Boonsanongsupa 2006: *In Vitro* Culture of Some Species in Genus *Uvaria*. Master of Science (Botany), Major Field: Botany, Department of Botany. Thesis Advisor: Associate Professor Malee Nanakorn, Ph.D. 109 pages.
ISBN 974-16-1952-9

In vitro shoot multiplication of some *Uvaria* spp.; *U. lurida* Hook.f. & Thomson, *U. grandiflora* Roxb. ex Hornem. var. *grandiflora* and *U. rufa* Blume, were conducted. Nodal explants collected in three seasons were compared for surface sterilization. The explants collected in summer (March-May) gave the lowest percentage of contamination and the highest percentage of survival. Antibiotics were used for prevention of contamination from endophytic microorganisms. Among 4 antibiotics, rifampicin was most effective.

Leaf abscission was the main problem for *in vitro* culture of these three species. Therefore, the effects of AgNO_3 at 0 and 29.4 μM were determined in the combination with 0-20 μM BA in MS semi-solid medium on shoot growth for 4 weeks, followed with culturing on the same medium without BA for 4 weeks. The addition of AgNO_3 could effectively reduce leaf abscission at 80% in *U. lurida* and 81.3% in *U. grandiflora*. AgNO_3 had no effect on shoot multiplication (average shoot number and shoot length) of *U. lurida* while BA had some effects on both parameters. BA at 10-15 μM gave the highest average shoot number of 2.1-2.3 shoots and 0 μM gave the highest average shoot length of 0.84 cm. In *U. grandiflora*, AgNO_3 affected on new shoot length but not on shoot number. The addition of AgNO_3 gave a higher average shoot length than without AgNO_3 . BA at 15 μM gave the highest average shoot number of 4.2 shoots while BA at 0 μM gave the highest average shoot length of 0.97 cm. In *U. rufa*, 10-15 μM BA gave the highest shoot number of 1.8-2.1 shoots and 0 μM BA gave the highest shoot length of 0.64 cm. In *U. lurida*, the new proliferated shoots were short, therefore, the effect of 0-5 μM GA_3 on shoot elongation was determined in combination with 10 μM BA and 29.4 μM AgNO_3 . After 4 weeks, explants were transferred onto the basal MS medium for another 4 weeks. It was found that GA_3 can stimulate shoot elongation with the best result at 3 μM . The effects of TDZ on shoot multiplication were also studied. The nodal explants were cultured on MS medium added with 0-20 μM TDZ for 4 weeks and then transferred onto the basal MS medium for 4 weeks. TDZ at 15 μM gave the highest shoot number of 2.6 shoots while TDZ at 0 and 10 μM gave the highest shoot length of 0.84 cm. Rooting of new shoots was attempted both under *in vitro* and *in vivo* conditions. However, root induction in *U. lurida* and *U. grandiflora* under *in vitro* culture did not succeed. *In vivo*, the cut ends of the shoots were dipped in aqueous solution of IBA or NAA and implanted into growing media. Only shoots of *U. lurida* dipped in IBA at 8,000 μM could induce root of 20 %.

Young leaves of *U. lurida* and *U. rufa* were cultured on MS medium supplemented with 0-2.5 μM NAA in combination with 0-30 μM BA to induce morphological change. In *U. lurida* only the callus was found while in *U. rufa* the callus, nodule and globular somatic embryo were induced.

Worarat Boonsanongsupa
Student's signature

Malee Nanakorn 19 / May / 06
Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. มาลี ณ นคร ประธานกรรมการที่ปรึกษา และ รศ.ดร. ลิลลี่ กาวิฑ์ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอกที่กรุณาถ่ายทอดวิชาความรู้ต่าง ๆ ให้ข้อคิด คำปรึกษา และ คำแนะนำในด้านการเรียน การทำงานวิจัย และการทำวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. จิตราพรรณ พิลึก กรรมการที่ปรึกษาวิชาการ และ ผศ. พิรุณ จอมพุก ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุริยา ตันติวิวัฒน์ และอาจารย์ภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความรู้ และให้ความกรุณาตลอดมา

ขอขอบพระคุณ คุณยุพดี เผ่าพันธุ์ นักวิจัยงานกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้บริการการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง อีกทั้งยังให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำสไลด์ถาวรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณกมลรินทร์ พรหมรัตน์รักษ์ ที่ให้คำปรึกษา และความช่วยเหลือในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ขอขอบคุณ คุณวินิจ พลศักดิ์ ที่คอยรับฟังปัญหา ให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา ขอขอบคุณ คุณชูชัย เนตรฐกุล รวมถึงพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกคนที่คอยช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อบุญยะ และคุณแม่อุบลรัตน์ บุญสนองสุภา ที่ให้ความรัก ความเข้าใจ ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจที่ดีที่สุด

วรรธน์ บุญสนองสุภา

พฤษภาคม 2549

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(8)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	19
อุปกรณ์	19
วิธีการ	20
สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง	27
ผลการทดลอง	28
วิจารณ์	65
สรุป	80
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	82
ภาคผนวก	98

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนและการรอดชีวิต เมื่อฟอกชิ้นส่วนของกล้วย ไอพอน กล้วยหมูสัง และพีพวนน้อยที่เก็บใน 3 ช่วงฤดู	29
2	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงของ ชิ้นส่วนของกล้วยไอพอน	30
3	เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไอ พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไม โครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ ($+\text{AgNO}_3$) และไม่เติม ($-\text{AgNO}_3$) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหาร สูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	34
4	จำนวนยอดและความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไอพอน บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโม ลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ ($+\text{AgNO}_3$) และไม่ เติม ($-\text{AgNO}_3$) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	34
5	จำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไอพอนบน อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ ($+\text{AgNO}_3$) และไม่เติม ($-\text{AgNO}_3$) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal- MS นาน 4 สัปดาห์	35
6	เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยหมูสัง บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโม ลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ ($+\text{AgNO}_3$) และไม่ เติม ($-\text{AgNO}_3$) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
7	จำนวนยอดและความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยหมูสับบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	37
8	จำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยหมูสับบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	38
9	จำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของพิพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	41
10	ความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ และเติม GA_3 ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA นาน 4 สัปดาห์	44
11	จำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	47

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
12	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเกิดราก จำนวนรากและความยาวรากของกล้วยไ้พอนเมื่อครบ 35 วันหลังย้ายปลูกและกระตุ้นให้เกิดรากในสภาพธรรมชาติ	50
13	จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลง และคะแนนการเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน จำนวนชิ้นส่วนที่ปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร และจำนวนชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชิ้นเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.50 และ 2.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ นาน 8 สัปดาห์	54
14	จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลง และคะแนนการเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน จำนวนชิ้นส่วนที่เกิด module จำนวนชิ้นส่วนที่ปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร และจำนวนชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชิ้น เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ นาน 8 สัปดาห์	56
15	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนแผ่นใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ นาน 8 สัปดาห์	57
ตารางผนวกที่		
1	องค์ประกอบอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)	99
2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	100

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	101
4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	102
5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยหนุ่สบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	103
6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยหนุ่สบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	104
7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยหนุ่สบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	105

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
8	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของพืช พืชน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการ AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยง ต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	106
9	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของ พืชพืชน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไป เพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	106
10	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนของพืชพืชน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	107
11	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของ กล้วยไ้พอบบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโม ลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 และเติม GA_3 ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	107
12	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอบบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 และเติม GA_3 ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบน อาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	108
13	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของ กล้วยไ้พอบบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้าย ไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	108

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
14	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	109
15	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	109

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะดอกของกล้วยไ้พอน กล้วยหมูสัง และพีพวนน้อย	6
2 ชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์	31
3 ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอน เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	36
4 ลักษณะยอดของกล้วยหมูสัง เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	39
5 ลักษณะยอดของพีพวนน้อยที่มีการหลุดร่วงของใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	42
6 ลักษณะยอดของพีพวนน้อย เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	42
7 ลักษณะการเกิดสีดำ เมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่ได้จากการชักนำต่อไปอีกระยะหนึ่ง โดยเริ่มเกิดสีดำจากบริเวณใกล้ปลายยอดจนกระทั่งยอดเปลี่ยนเป็นสีดำ และตายในที่สุด	43
8 ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอน เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ และเติม GA_3 ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
9	ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอน เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์	48
10	การชักนำให้ยอดกล้วยไ้พอนเกิดรากในสภาพธรรมชาติ	51
11	การเกิดแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.50 และ 2.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ (รวม 12 สูตร) นาน 8 สัปดาห์	55
12	การเกิดแคลลัสและ nodule เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ (รวม 12 สูตร) นาน 8 สัปดาห์	58
13	ลักษณะของ nodule ที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 4) นาน 8 สัปดาห์	59
14	การพัฒนาของ nodule เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 3) นาน 8 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ	60
15	การพัฒนาของ nodule ที่เกิดบนแผ่นใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน 12 สัปดาห์	61
16	การพัฒนาของ nodule ที่เกิดบนแผ่นใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน 12 สัปดาห์ ถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	62
17	กระบวนการเกิดอวัยวะโดยตรงจากชิ้นส่วนใบ (direct organogenesis) เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน 8 สัปดาห์ ดัดชิ้นส่วนตามขวางแสดงโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเชิงประกอบ	63

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	กระบวนการเกิดไซมาติกเอ็มบริโอ (embryogenesis) เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพืช พวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหาร สูตรที่ 2) นาน 8 สัปดาห์ ตัดชิ้นส่วนตามขวางแสดงโครงสร้างภายในได้กล้อง จุลทรรศน์ชนิดเชิงประกอบ	64

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุล *Uvaria* บางชนิด

In Vitro Culture of Some Species in Genus *Uvaria*

คำนำ

การอนุรักษ์ทำลายพื้นที่ป่า การแสวงหาประโยชน์จากทรัพยากรป่าไม้ที่มากเกินไป ตลอดจนปัญหาผลกระทบโดยตรงต่อถิ่นที่อยู่ของพรรณพืชชนิดต่าง ๆ ทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชของโลกลดลงอย่างรวดเร็ว (อิสรา, 2539) พืชวงศ์ Annonaceae ก็เช่นกัน แม้ว่าบางชนิดจะมีการปลูกกันอย่างแพร่หลาย เช่น กระดังงา จำปูน และสายหยุด เป็นต้น แต่ยังมีอีกหลายชนิดที่ยังไม่เป็นที่รู้จัก เนื่องจากเป็นพรรณไม้ป่า ทำให้การปลูกมีน้อย หลายชนิดอยู่ในภาวะใกล้สูญพันธุ์ และเกือบทุกชนิดมีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องหาแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมไม้ป่าเหล่านี้ไว้อย่างเร่งด่วน (กองเลขานุการ โครงการบิอาร์ที, 2541) ในประเทศไทยมีพืชวงศ์ Annonaceae หลายชนิดที่ยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลาย หลายชนิดมีดอกและลักษณะลำต้นที่สวยงาม เหมาะที่จะพัฒนาเป็นไม้ดอกไม้ประดับได้ เช่น ในสกุล *Uvaria* ได้แก่ กล้วยไอ้พอน (*U. lurida* Hook.f. & Thomson) ดอกสวยงาม สีแดงสด มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ กล้วยหมูสัง (*U. grandiflora* Roxb. ex Hornem. var. *grandiflora*) ดอกมีขนาดใหญ่ สีแดงเลือดนก มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ มีความสวยงามโดดเด่น และพืชน้อย (*U. rufa* Blume) ดอกสีแดงเข้ม มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ อีกทั้งมีคุณค่าทางสมุนไพร เป็นต้น (วงศ์สถิตย์ และคณะ, 2543; ณรงค์, 2544; ปิยะ, 2544)

การขยายพันธุ์ในสภาพธรรมชาติโดยเมล็ดของพืชวงศ์ Annonaceae มีความไม่สม่ำเสมอในแต่ละเขตการกระจายพันธุ์และการงอกของเมล็ดใช้ระยะเวลานาน อีกทั้งไม่ได้ออกดอกตลอดปีจึงทำให้เพิ่มจำนวนได้ช้า (Smet *et al.*, 1999) ในทางการค้านิยมขยายพันธุ์พืชวงศ์ Annonaceae ด้วยวิธีการติดตาและการเสียบกิ่งบนต้นตอที่ได้มาจากการเพาะเมล็ด แต่ก็ยังประสบปัญหาเรื่องความแข็งแรงและความต้านทานโรคของต้นตอ สำหรับการตอนกิ่งและการปักชำพืชในวงศ์นี้ต้องใช้ระยะเวลานานและมักไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร (ทอม, 2546; George and Nissen, 1987; Rasai *et al.*, 1995 a) ดังนั้นจึงนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเข้ามาใช้ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น และสามารถคงลักษณะทางพันธุกรรมเดิมไว้ได้ แต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในวงศ์ Annonaceae มักประสบปัญหาเกี่ยวกับการปนเปื้อนสูง อันเนื่องมาจากจุลินทรีย์

ภายนอกและที่อยู่ภายในท่อลำเลียงเอง การหลุดร่วงของใบ (leaf abscission) การเกิดสีดำนองขึ้นส่วน การปลดปล่อย phenolic compounds ลงในอาหารปริมาณสูง การตอบสนองต่อการชักนำให้เกิด กระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน (morphogenesis) ของขึ้นส่วนต่ำ โดยเฉพาะการเกิดราก ทำให้ เกิดข้อจำกัดในความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในวงค์นี้ (George and Nissen, 1987; Rasai, 1995 a, 1995 c; Lemos and Black, 1996 a; Castro *et al.*, 1999; Bridg, 2000) จึงควรมีการศึกษาหา วิธีการที่เหมาะสมในการป้องกันและแก้ไขปัญหที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยง เพื่อเป็นการพัฒนาเทคนิค การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในวงค์นี้ และเพื่อเป็นการส่งเสริมให้กล้วยไ้พอน กล้วยหอมสัง และพิพวน น้อยเป็นที่รู้จักแพร่หลาย เมื่อมีการปลูกกันมากขึ้นจะสามารถพัฒนาให้เกิดประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้ มากขึ้น เป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยอนุรักษ์พันธุ์ไม้ป่าเหล่านี้ไว้ไม่ให้สูญพันธุ์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน กล้วยหมุสัง และพิพวนน้อยมาฟอกฆ่าเชื้อ
2. เพื่อหาชนิดของยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมในการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ภายในท่อลำเลียงของชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน
3. เพื่อชักนำให้ชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน กล้วยหมุสัง และพิพวนน้อยเกิดยอด และการป้องกันการหลุดร่วงของใบ
4. เพื่อชักนำให้ยอดของกล้วยไ้พอน และกล้วยหมุสังเกิดราก
5. เพื่อชักนำให้ชิ้นส่วนใบของกล้วยไ้พอน และพิพวนน้อยเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน

การตรวจเอกสาร

วงศ์ Annonaceae เป็นวงศ์ที่มีความเก่าแก่และมีลักษณะหลายประการแสดงถึงความดึกดำบรรพ์ (primitive) มากที่สุดวงศ์หนึ่งในบรรดาพืชมีดอกเช่นเดียวกับพืชในวงศ์ Magnoliaceae ทั่วโลกมีพืชวงศ์นี้ประมาณ 128 สกุล รวมจำนวน 2,300 ชนิด (Kessler, 1993) เช่น น้อยหน่า น้อยหน่าออสเตรเลีย ทูเรียนเทศ ลำควน และกระดังงา เป็นต้น ประเทศไทยเท่าที่มีการสำรวจแล้วและจำแนกออกเป็น 41 สกุล รวมจำนวน 195 ชนิด (ปิยะ และคณะ, 2545) หนึ่งในจำนวนนี้คือสกุล *Uvaria* ที่มีลักษณะทั่วไปเป็นไม้เถาเนื้อแข็ง แตกกิ่งน้อย ใบและดอกมีขนรูปดาว (stellate hairs) ปกคลุม ดอกเดี่ยวหรือเป็นช่อกระจุก มีสีส้มสวยงามและมักมีกลิ่นหอม จากการรายงานของณรงค์ (2544) สามารถจำแนกสกุล *Uvaria* ในประเทศไทยได้ประมาณ 12 ชนิด ในขณะที่ปิยะ (2544) รายงานว่าพบถึง 18 ชนิด

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ศึกษาพืชในสกุล *Uvaria* 3 ชนิด ได้แก่ กล้วยไฉ้พอน กล้วยหมูตัง และพิพวนน้อย มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ดังนี้

1. *Uvaria lurida* Hook.f. & Thomson กล้วยไฉ้พอน หรือบัวบก (ชลบุรี)

ไม้เถาเนื้อแข็ง ยาวประมาณ 10 เมตร กิ่งอ่อนมีขนรูปดาวประปราย กิ่งแก่เกลี้ยง ใบหนาคล้ายแผ่นหนัง รูปหอกกลับแกมรูปขอบขนาน ยาว 23.4-27.0 เซนติเมตร กว้าง 8.0-8.3 เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.6-0.7 เซนติเมตร หนาและย่น โคนใบมน ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่นเล็กน้อย ใบอ่อนด้านบนเกลี้ยงเป็นมัน ด้านล่างมีขนรูปดาวประปราย สีสนิม เกือบเกลี้ยงในใบแก่ มีเส้นแขนงใบ 13-17 คู่ ดอก เดี่ยว ออกปลายกิ่งหรือตรงข้ามใบ เส้นผ่านศูนย์กลางดอกบาน 4-6 เซนติเมตร ก้านดอกยาว 1.5-1.8 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันหุ้มกลีบดอกมิดจนกระทั่งดอกบาน ปลายกลีบเป็นติ่งแหลม เมื่อบานแยกออกจากกันเป็นรูปไข่กว้าง ยาว 1.5 เซนติเมตร กว้าง 1.2-1.4 เซนติเมตร มีขนรูปดาวสั้น ๆ ปกคลุมหนาแน่นทั้งสองด้าน กลีบดอกแยกกันมี 6 กลีบ เรียง 2 ชั้น กลีบดอกรูปไข่กลับ เป็นแผ่นหนา ปลายกลีบดอกม้วนและโค้งเข้าหากลางดอก โคนกลีบเชื่อมติดกัน มีขนรูปดาวสั้น ๆ ปกคลุมหนาแน่นทั้งสองด้าน สีแดงเข้ม กลีบดอกชั้นนอก ยาว 2.5 เซนติเมตร กว้าง 1.7-1.8 เซนติเมตร กลีบดอกชั้นในขนาดเล็กกว่ากลีบดอก

ชั้นนอกเล็กน้อย เกสรเพศผู้ประมาณ 100-200 อัน แต่ละอันเป็นแผ่นรูปขอบขนาน แบน มีอับเรณู 4 พู หันออกด้านข้าง แตกตามยาว ปลายเกสรอับเรณูเป็นแผ่นหนา รูปรีสั้น ๆ เกสรเพศเมีย มีคาร์เพล ประมาณ 40-60 อัน รังไข่รูปทรงกระบอก ยาว 2.5-3.0 มิลลิเมตร มีขนรูปดาวปกคลุมหนาแน่น ยอด เกสรเพศเมียด้านบนเป็นรูปเกือกม้า ด้านข้างเป็นร่อง มีออวุล 10-12 อัน เรียง 2 แถว ติดทางด้านข้าง ผล ออกเป็นช่อโปร่ง มีผลย่อยจำนวนมากเป็นพวงขนาดใหญ่ ผลย่อย 20-30 ผล เป็นรูป ทรงกระบอกมีรอยคอดเป็นช่วง ๆ เปลือกเรียบ กลี้ง ผลแก่สีเหลือง สุกแล้วมีสีแดง ยาว 7-8 เซนติเมตร กว้าง 2 เซนติเมตร ก้านผลย่อยยาว 4.5-6.0 เซนติเมตร มีเมล็ด 9-11 เมล็ด คล้ายรูปไข่ กว้าง แบน ยาว 1.3-1.4 เซนติเมตร กว้าง 1.2 เซนติเมตร (ณรงค์, 2544; Backer and Brink, 1963) (ภาพที่ 1ก)

การกระจายพันธุ์ พบในประเทศอินเดีย ภูมิภาคอินโดจีน และชวา ในประเทศไทยพบใน ภาคตะวันออกเฉียงใต้ ชลบุรี จันทบุรี และพบได้ทั่วไปในป่าดงดิบชื้นและป่า ดิบแล้งที่มีความชื้นสัมพัทธ์ค่อนข้างสูง ระดับความสูง 30-300 เมตร จากระดับน้ำทะเลปานกลาง เริ่มออกดอกเดือนมีนาคมถึงเมษายน ดอกบานเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม ผลแก่หลังดอกบาน 4-5 เดือน (กมล, 2544; ปิยะ, 2544)

2. *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem. var. *grandiflora* กล้วยหมูสัง กล้วยมดสัง กล้วย มดสัง และย่านนมควาย (ตรัง)

ไม้เถาเนื้อแข็ง ยาวประมาณ 5-15 เมตร กิ่งอ่อนมีขนรูปดาวสีน้ำตาลอ่อนนุ่มปกคลุม หนาแน่น ใบ หนากล้ายแผ่นหนัง รูปรี ยาว 10-18 เซนติเมตร กว้าง 6-9 เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.5 เซนติเมตร ใบอ่อนมีขนรูปดาวสีน้ำตาลปกคลุมหนาแน่น ใบแก่ด้านบนมีสีเขียวเข้มเป็นมัน ด้านล่างสีเขียวอ่อนมีขนรูปดาว มีขนสั้นนุ่มทั่วไป บริเวณเส้นกลางใบและเส้นแขนงใบมีขนสั้นนุ่ม ประปราย มีเส้นแขนงใบ 10-13 คู่ ดอก เดี่ยว ออกตรงข้ามใบหรือปลายกิ่ง เส้นผ่านศูนย์กลางดอก บาน 6-11 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงสีเขียวอมเหลือง รูปสามเหลี่ยม ยาว 2-3 เซนติเมตร กลีบดอก แยกกันมี 6 กลีบ เรียง 2 ชั้น กลีบดอกรูปขอบขนานแกมรูปไข่ สีแดงเลือดนก โคนกลีบสีเหลือง อ่อน มีกลิ่นหอมอ่อน ยาว 2.5-4.0 เซนติเมตร กว้าง 1.0-1.5 เซนติเมตร เกสรเพศผู้มีจำนวนมาก สมบูรณ์ทั้งหมด แต่ละอันเป็นแผ่นรูปขอบขนาน มีอับเรณู 4 พู เรียงข้างละ 2 พู ของเกสรอับเรณู เกสรเพศเมียประกอบด้วยคาร์เพลจำนวนมาก รังไข่ทรงกระบอก ยาว 0.8-1.0 เซนติเมตร มีขนรูปดาว



ภาพที่ 1 ลักษณะดอกของกล้วยไม้พอน (ก) กล้วยไม้พอน (ข) และพืชน้อย (ค)
ที่มา (ก): ปิยะ (2544)

ปกคลุมหนาแน่น ยอดเกสรเพศเมียด้านบนเป็นรูปเกือกม้า ด้านข้างเป็นร่อง ออกลูเรียง 2 แถว ติดทางด้านข้าง ผล ออกเป็นช่อ ผลย่อยรูปทรงกระบอกบางตอนคอดเว้าเล็กน้อย ตามผิวมีขนหนานุ่ม มีเมล็ดมาก ผลสุกสีเหลืองส้ม ยาว 3-6 เซนติเมตร ก้านผลยาว 1-4 เซนติเมตร (ศุภโชติ, 2540; Backer and Brink, 1963) (ภาพที่ 1ข)

การกระจายพันธุ์ พบในป่าดิบแล้ง ป่าดิบชื้นทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ ภาคตะวันตกเฉียงใต้ และภาคใต้ของประเทศไทย ที่ระดับความสูงตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึง 700 เมตร จากระดับน้ำทะเล ปานกลาง ออกดอกเดือนมีนาคมถึงกรกฎาคม ผลแก่หลังดอกบาน 5 เดือน (ปิยะ, 2544)

3. *Uvaria rufa* Blume **พืพวนน้อย** บุษงาใหญ่ (ภาคเหนือ) นมควาย (ภาคใต้) นมแมว (ภาคกลาง) นมแมวป่า (เชียงใหม่) นมวัว (กระบี่ พิชณุโลก) พืพวน (อุตรธานี) ดินดั่งเครือ (อุบลราชธานี) และสีม่วง (ชัยภูมิ)

ไม้เถาเนื้อแข็ง ยาวประมาณ 10-20 เมตร กิ่งอ่อนมีขนรูปดาวสั้น ๆ สีน้ำตาลปกคลุมหนาแน่น ใบ ค่อนข้างหนาและเหนียว รูปหอกแกมรูปขอบขนาน ยาว 8.0-15.5 เซนติเมตร กว้าง 3.5-6.0 เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.5 เซนติเมตร แผ่นใบด้านบนสากคายมากกว่าด้านล่าง ใบอ่อนมีขนรูปดาวสีน้ำตาลหนาแน่น และพบประปรายในใบแก่ด้านล่าง เส้นกลางใบด้านบนนูนเล็กน้อย ด้านล่างเป็นสัน มีขนรูปดาวหนาแน่นทั้งสองด้าน เส้นแขนงใบมีประมาณ 12-14 คู่ ดอก ออกเป็นช่อกระจุก ตรงข้ามใบ ประกอบด้วยดอกย่อย 1-3 ดอก เส้นผ่านศูนย์กลางของดอกบานประมาณ 1.5-2.3 เซนติเมตร ก้านช่อดอกสั้น ยาวไม่เกิน 0.2 เซนติเมตร ก้านดอกยาว 0.6-0.8 เซนติเมตร มีใบประดับค่อนข้างกลมติดที่โคนก้านช่อดอก กว้างและยาวเท่ากันประมาณ 0.5-0.7 เซนติเมตร และมีใบประดับติดตรงกลางก้านดอก มีขนาดเล็กกว่าใบประดับที่ก้านช่อดอกเล็กน้อย มีขนรูปดาวหนาแน่นทั้งที่ก้านดอกและใบประดับ กลีบเลี้ยงแยกและเรียงขอบจรดกันและเชื่อมติดกันที่ฐาน แต่ละกลีบค่อนข้างกลม ยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร กว้าง 0.4 เซนติเมตร ด้านนอกมีขนรูปดาวหนาแน่นกว่าด้านใน กลีบดอกแยกกันมี 6 กลีบ เรียง 2 ชั้น กลีบดอกรูปขอบขนาน ปลายมน ค่อนข้างเท่ากัน สีแดงเข้ม ยาว 0.9-1.3 เซนติเมตร กว้างประมาณ 0.7 เซนติเมตร ขอบกลีบแต่ละชั้นจะเรียงซ้อนเหลื่อมกันเป็นดอกตูม เมื่อดอกบาน กลีบดอกจะโค้งกลับออกด้านนอกจรดก้านดอก มีขนรูปดาวสั้น ๆ ปกคลุมหนาแน่นทั้งด้านในและด้านนอกของกลีบดอกทั้งสองชั้น เกสรเพศผู้มีจำนวนมาก ชี้นอกเป็นหมันไม่มีอับเรณู ชี้นในมีอับเรณู 4 พู ยาวประมาณ 0.2 เซนติเมตร เรียงข้างละ 2 พู ของแกนอับเรณู ปลายแกนอับเรณูเป็นแผ่น หนา รูปรี เกสรเพศเมียประกอบด้วยคาร์เพล

จำนวนมาก ยาวประมาณ 0.4 เซนติเมตร รั้งไข่อรูปทรงกระบอกยาวประมาณ 0.3 เซนติเมตร เป็นร่องเล็กน้อยและมีขนค่อนข้างมาก ยอดเกสรเพศเมียสั้น มีอวุล 18-20 อัน เรียง 2 แถว ติดทางด้านข้าง ผล ออกเป็นช่อโปร่ง มีผลย่อย 6-15 ผล รูปทรงกระบอก อยู่ห่างกัน เปลือกมีขนรูปดาวสั้น ๆ ปกคลุมหนาแน่น ผลสุกสีแดง ยาว 3.5-6.0 เซนติเมตร กว้าง 2.0-2.5 เซนติเมตร ก้านผลย่อยยาว 2-3 เซนติเมตร เมล็ด 9-10 เมล็ด ทรงรีหรือรูปขอบขนานแกมรูปไข่กลับ แบน เปลือกเรียบ เกลี้ยง สีน้ำตาลเข้ม ยาว 1.0-1.4 เซนติเมตร กว้าง 0.7-0.8 เซนติเมตร (ศุภโชติ, 2540; ณรงค์, 2544; Backer and Brink, 1963) (ภาพที่ 1ก)

การกระจายพันธุ์ พบในภูมิภาคอินโดจีนและภูมิภาคมาเลเซีย ส่วนในประเทศไทย พบขึ้นกระจายอยู่แทบทุกภาคในป่าดิบแล้ง ป่าดิบชื้น พื้นที่เปิดโล่ง ที่ราบ ค่อนข้างแห้งแล้ง ระดับความสูง 100-200 เมตร จากระดับน้ำทะเลปานกลาง ออกดอกเดือนกุมภาพันธ์ถึงมิถุนายน ผลแก่หลังจากดอกบาน 4 เดือน (ณรงค์, 2544; ปิยะ, 2544; Ridley, 1922)

ประโยชน์ของพืชวงศ์ Annonaceae

มีการนำพืชวงศ์ Annonaceae ไปใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น

1. ใช้ในการก่อสร้าง ตกแต่งภายใน เป็นไม้แบบ หีบและลึงไม้ของ เช่น ดารา (*Polyalthia glauca* (Hassk.) F. Muell) (จำลอง และคณะ, 2534)
2. ใช้เป็นสมุนไพร เช่น กลึงกล่อม (*Polyalthia suberosa* (Roxb.) Thwaites) ใบและกิ่งพบสาร suberosol ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV ที่เป็นสาเหตุของโรคเอดส์ได้ในสภาพหลอดทดลอง พืพวนน้อย (*Uvaria rufa* Blume) ในตำรายาไทยใช้แก่นและรากต้มน้ำดื่มแก้ไข้กลับซ้ำเนื่องจากกินของแสลง รากแก้ผอมแห้งสำหรับสตรีที่อยู่ไฟไม่ได้หลังคลอดบุตร และช่วยบำรุงน้ำนม ผลตำพสมน้ำทาแก้เมื่ดผื่นคัน (วงศ์สถิตย์ และคณะ, 2543)
3. ใช้ทำเครื่องหอม สกัดน้ำมันหอมระเหยใช้แต่งกลิ่น เช่น กระดังงา (*Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson) มีกลิ่นและน้ำมันหอม ใช้ทำน้ำหอมซึ่งเป็นที่นิยมมากในแถบยุโรป (Hutchinson, 1964)
4. ใช้เป็นไม้ผล ผลของพืชสกุล *Annona* เป็นที่รู้จักกันดี ชนิดที่มีการรับประทานกันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ น้อยหน่า (*A. squamosa* L.) น้อยหน่าออสเตรเลีย (*A. cherimola* Mill.) ทูเรียนเทศ (*A. muricata* L.) และน้อยโหน่ง (*A. reticulata* L.) (Hutchinson, 1964)

5. ใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับ มีดอกสวย มีกลิ่นหอม ทรงพุ่มสวย ให้ร่มเงา เช่น การเวก (*Artabotrys siamensis* Miq.) กระดังงา (*Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson) (ราชบัณฑิตยสถาน, 2538)

6. ใช้ย้อมสีผ้า ผลดิบและผลสดของน้อยโหน่ง (*Annona reticulata* L.) จะให้สีดำและน้ำเงินตามลำดับ (วงศ์สฤติย์ และคณะ, 2543)

7. ใช้ทำพิน เช่น เนื้อไม้ห้าวเต้า (*Mezzettia parviflora* Becc.) (จำลอง และคณะ, 2515)

8. เป็นอาหารสัตว์ในปศุธรรมชาติ เช่น ผลสุกของพีพวนน้อย (*Uvaria rufa* Blume) และกล้วยหมูสัง (*U. grandiflora* Roxb. ex Hornem.) (สุภโชติ, 2540; ฌรงค์, 2544) นอกจากนี้ Plongmai (2001) รายงานว่าบางชนิด เช่น ยางโอน (*Polyalthia viridis* Craib) และสกุล *Uvaria* โดยเฉพาะกล้วยไอพอน (*U. lurida* Hook.f. & Thomson) จัดว่าเป็นอาหารสำคัญในฤดูผสมพันธุ์ของนกเงือกในอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่

ในปัจจุบันหน่วยงานของภาครัฐและเอกชนบางแห่งได้ให้ความสนใจ เริ่มมีการปลูกพืชวงศ์นี้ไว้เป็นแปลงรวบรวมพันธุ์ ซึ่งนอกจากจะเป็นประโยชน์ต่อการการศึกษา การวิจัย และการใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมแล้ว ยังอาจส่งเสริมให้เป็นสถานที่ท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ได้อีกทางหนึ่ง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ Annonaceae

ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้มีการพัฒนาเทคนิควิธีการต่าง ๆ มากมาย เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการเพาะเลี้ยง เพราะแม้ว่าทุกส่วนของพืชที่ยังมีชีวิตอยู่จะสามารถนำมาทำการเพาะเลี้ยงได้ แต่ความสามารถในการเจริญเติบโตจะแตกต่างกันไป เนื่องจากเซลล์แต่ละชนิดมีความตื่นตัว (activity) ไม่เท่ากัน เนื้อเยื่อที่มีความเยาว์วัย (juvenile) มากกว่าก็จะมีสามารถในการพัฒนาและถูกชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ง่ายกว่า (Pierik, 1998) นอกจากนี้ ความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอีกหลายประการ เช่น สูตรอาหาร ชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ สภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยง รวมถึงลักษณะทางพันธุกรรมของพืชนั้น ๆ ส่งผลให้พืชแต่ละชนิดมีความยากง่าย และมีปัญหาในการนำมาเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน (รังสฤษดิ์, 2541; Pierik, 1998) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ Annonaceae มักมีปัญหากับการปนเปื้อนสูง อันเนื่องมาจากจุลินทรีย์ภายนอกและที่อยู่ภายในท่อลำเลียงเอง ซึ่งมักจะแสดงผลภายหลังการเพาะเลี้ยงไประยะหนึ่ง การเกิดสีดำของชิ้นส่วน การปลดปล่อย phenolic compounds ลงในอาหารปริมาณสูง การหลุดร่วงของใบ (leaf abscission) การตอบสนองต่อการชักนำให้เกิด

กระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน (morphogenesis) ต่ำ โดยเฉพาะการเกิดราก ทำให้เกิดข้อจำกัดในความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงพืชในวงค์นี้ (George and Nissen, 1987; Rasai *et al.*, 1995 a, 1995 c; Lemos and Black, 1996 a; Castro *et al.*, 1999; Bridg, 2000; Farooq *et al.*, 2002; Zobayed *et al.*, 2002; Nagori and Purohit, 2004; Padilla and Encina, 2004)

การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในวงค์ Annonaceae ยังมีอยู่น้อย มีการศึกษาจำเพาะกลุ่มที่เป็นไม้ผล ได้แก่ น้อยหน่า (*Annona squamosa* L.) น้อยหน่าออสเตรเลีย (*A. cherimola* Mill) ทูเรียนเทศ (*A. muricata* L.) และ atemoya (*A. cherimola* Mill. $\times$ *A. squamosa* L.) (Nair *et al.*, 1984 a; Bejoy and Hariharan, 1992; Rasai *et al.*, 1994; Encina *et al.*, 1994; Lemos and Black, 1996 b, 1996 c) และไม้ดอกไม้ประดับ ได้แก่ ลำควน (*Melodorum fruticosum* Lour.) (สุภาวดี, 2540) โดยชิ้นส่วนที่นิยมนำมาใช้เพาะเลี้ยงเพื่อการเพิ่มปริมาณ มักเป็นชิ้นส่วนที่ยังอ่อนอยู่ เนื่องจากสามารถตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงได้ดี เช่น ชิ้นส่วนข้อจากยอดที่แตกจากตาข้าง ชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง หรือไฮโปคอติล (hypocotyl) ของต้นกล้าซึ่งเป็นระยะเยาว์วัย และข้อจากยอดที่แตกจากตาข้างของต้นโตเต็มที่ (mature plant) (Tazzari *et al.*, 1990; Bejoy and Hariharan, 1992; Encina *et al.*, 1994; Lemos and Black, 1996 b, 1996 c; Bridg, 2000) โดยชิ้นส่วนดังกล่าวจะมีความตื่นตัวในการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตสูง

ในขั้นตอนของการฟอกฆ่าเชื้อ (disinfection) ชิ้นส่วนของพืชวงค์ Annonaceae ทำให้ปลอดเชื้อได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากพืชในวงค์นี้มีขน (trichome และ hair) จำนวนมากตามส่วนต่าง ๆ พืชสกุล *Uvaria* มีขนรูปดาวปกคลุมบริเวณตา ยอด ตาข้าง กิ่งอ่อน และใบ จึงยากแก่การทำให้ปลอดเชื้อ นอกจากวิธีการทำความสะอาด ความเข้มข้นของสารและระยะเวลาที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว ช่วงเวลาที่ทำกรฟอกฆ่าเชื้อก็เป็นอีกปัจจัยที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง Castro *et al.* (1999) รายงานว่าในการทดลองฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของ *A. cherimola* 3 วิธี ได้แก่ การฟอกด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween 20 นาน 15 นาที การแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ก่อนฟอกฆ่าด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween 20 นาน 10 นาที และการฟอกด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 35 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween 20 นาน 10 นาที พบว่า การฟอกทุกวิธีในช่วงเดือนมิถุนายนถึงพฤศจิกายน พบการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ แต่จะพบการปนเปื้อนเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อฟอกในช่วงเดือนธันวาคมและมกราคม Bridg (2000) กล่าวว่า ในขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชพวกไม้เนื้อแข็ง (hard wood) มักพบ

การเกิดสีน้ำตาลและดำของชิ้นส่วน (browning and blackening) เสมอ โดยมีสาเหตุจาก phenolic compounds และ tannin ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของ polyphenoloxidase เมื่อพืชถูกทำให้เกิดบาดแผล หรือถูกตัดแยกชิ้นส่วนออกมาจากต้นแม่ พืชในวงศ์ Annonaceae จะมีคุณสมบัติที่ไวต่อการเกิด phenolic compounds (hypersensitivity) ซึ่งสารกลุ่มนี้จะส่งผลกระทบการเติบโตและเป็นสาเหตุให้เกิดสีน้ำตาลและดำของชิ้นส่วนในระหว่างการเพาะเลี้ยง และอาจส่งผลยับยั้งกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานอีกด้วย (Martinez-Cayuela *et al.*, 1988; Bridg, 2000) ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในวงศ์นี้ จึงมักมีการใช้สารกลุ่ม antioxidant มาช่วยลดปัญหาที่เกิดขึ้น (Castro *et al.*, 1999; Bridg, 2000) ตัวอย่างเช่น การใช้ ascorbic acid ความเข้มข้น 50-500 มิลลิกรัมต่อลิตร citric acid ความเข้มข้น 100-200 มิลลิกรัมต่อลิตร polyvinylpyrrolidone (PVP) ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือการใช้ activated charcoal ผสมลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง เพื่อให้สารดังกล่าวช่วยดูดซับ phenolic compounds หรือการเพาะเลี้ยงในที่มืด (Bajaj, 1991; Bridg, 2000)

ปัญหาสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ Annonaceae อีกประการหนึ่ง คือการหลุดร่วงของยอดและใบ (Lemos and Black, 1994, 1996 a; Bridg, 2000) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอธิลีน ที่มีผลชักนำหรือกระตุ้นให้เกิดการแก่ชราและการหลุดร่วงของส่วนต่าง ๆ (สัมฤทธิ์, 2544; Reid, 1995) การป้องกันทำได้โดย (Buddendorf-Joosten and Woltering, 1994; Lemos and Black, 1996 a)

1. ใช้สารที่มีสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์เอธิลีน เช่น L- α -2-aminoethoxyvinylglycine (AVG), amino-oxyacetic acid (AOA) และ cobalt chloride (CoCl_2)
2. ใช้สารที่มีสมบัติช่วยดูดซับเอธิลีน เช่น activated charcoal (AC), mercuric perchlorate ($\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$) และ potassium permanganate (KMnO_4)
3. ใช้สารที่มีสมบัติยับยั้งการทำงานของเอธิลีน เช่น silver nitrate (AgNO_3), silver thiosulphate (STS) และก๊าซ 2,5-norbornadiene (NBD)

ตัวอย่างการศึกษาในเรื่องนี้ เช่น การควบคุมการหลุดร่วงของใบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *A. squamosa* โดยใช้ AgNO_3 ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร STS ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือการใช้ก๊าซ NBD ความเข้มข้น 1000 ไมโครลิตรต่อลิตร ซึ่งมีสมบัติยับยั้งการทำงานของเอธิลีน พบว่าสารกลุ่มดังกล่าวสามารถป้องกันการหลุดร่วงของใบได้ดีกว่าการใช้สารกลุ่มที่ช่วยดูดซับเอธิลีน

เช่น activated charcoal ความเข้มข้น 3 กรัมต่อลิตร $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ KMnO_4 ความเข้มข้น 158 มิลลิกรัมต่อลิตร และดีกว่าการใช้สารที่มีสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์ เอธิลีน เช่น AVG ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร AOA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ CoCl_2 ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (Lemos and Black, 1996 a)

การชักนำให้ขึ้นส่วนของพืชวงศ์ Annonaceae เกิดยอด

สูตรอาหาร

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชวงศ์ Annonaceae เพื่อชักนำให้เกิดยอด นิยมใช้อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) (MS) (Bejoy and Hariharan, 1992; Encina *et al.*, 1994; Rasai *et al.*, 1994; Maldonado and Ramirez, 2001; Farooq *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังมีการใช้อาหารสูตร Woody Plant Medium (WPM) (Lemos and Black, 1996 b, 1996 c) Nitsch and Nitsch (1969) (NN-69) (Bejoy and Hariharan, 1992; Bridg, 2000) White 's medium (W) Gamborg 's medium (B_5) (Bejoy and Hariharan, 1992) และ Schienk and Hilderbrandt (SH) (Farooq *et al.*, 2002) ตัวอย่างการทดลองเปรียบเทียบการชักนำยอดบนสูตรอาหารที่แตกต่างกัน เช่น Bejoy and Hariharan (1992) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนไฮโปคอติลของ *A. muricata* บนอาหารสูตร W B_5 NN-69 และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.9 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.54 ไมโครโมลาร์ พบว่า อาหารสูตร W และ B_5 มีการเกิดยอดใหม่ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่อาหารสูตร NN-69 และ MS ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยอาหารสูตร MS ทำให้ยอดใหม่มีจำนวนสูงสุด 4.8 ยอด Farooq *et al.* (2002) เปรียบเทียบอาหารสูตร MS SH และ WPM ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตหลายชนิด ได้แก่ kinetin BA และ IAA ในระดับความเข้มข้นที่เท่ากันในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของ *A. squamosa* พบว่า อาหารสูตร MS มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่สูงสุด 93.17 เปอร์เซ็นต์ ยอดใหม่มีจำนวน 3-4 ยอด มากกว่าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร SH และ WPM ซึ่งเกิดยอดใหม่เพียง 1-2 ยอด

สารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหลายชนิด ทั้งที่พบในธรรมชาติ ได้แก่ 6-(4-hydroxy-3-methyl-but-2-enylamino)purine (zeatin) และที่สังเคราะห์

ขึ้น ได้แก่ N⁶-benzyladenine (BA) N₆-isopentanyl adenine (2iP) 6-furfurylaminopurine (kinatin) และ N-phenyl-N'-(1,2,3-thiadiazuro-5'-yl)-urea (TDZ) เป็นต้น สามารถแบ่งกลุ่มตามลักษณะโครงสร้างหลักได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ adenine cytokinin และ phenylurea cytokinin ซึ่งโครงสร้างหลักทั้ง 2 แบบนี้จะมีความสัมพันธ์ (correlation) กัน (Mok and Mok, 1994) ตัวอย่างของ adenine cytokinin ได้แก่ BA 2iP zeatin และ kinatin เป็นต้น และ phenylurea cytokinin ได้แก่ TDZ diphenylurea (DPU) และ chloropyridylphenylurea (CPPU) เป็นต้น ไซโตไคนินโดยทั่วไปมีผลกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ ชักนำให้เกิดยอดใหม่ เร่งการแตกตาข้าง เนื่องจากมีผลทำลายอิทธิพลของปลายยอด (apical dominance) ส่งเสริมให้มีการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารมากขึ้น ชะลอการสลายตัวของ RNA โดยยับยั้งการสลายตัวของ RNAase มีผลชะลอการแก่ชรา (ลิลลี่ และคณะ, 2548; Taiz and Zeiger, 2002) นอกจากนี้ไซโตไคนินแต่ละชนิดจะมีกลุ่ม free base ในโครงสร้างแตกต่างกัน ทำให้มีสมบัติบางประการที่แตกต่างกัน รวมถึงการมี cytokinin receptor ที่เหมาะสมในแต่ละพืชต่างกัน พืชจึงมีการตอบสนองต่อไซโตไคนินต่างชนิดกันได้แตกต่างกัน (Mok and Mok, 1994; Taiz and Zeiger, 2002) ไซโตไคนินที่นิยมใช้ในการกระตุ้นเพื่อเพิ่มปริมาณยอดโดยทั่วไป ได้แก่ BA ความเข้มข้นที่ให้ผลในการตอบสนองที่ดีขึ้นอยู่กับชนิดพืช ชนิดและตำแหน่งของชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง และปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยง สำหรับพืชวงศ์ Annonaceae ความเข้มข้นของ BA ที่ให้ผลดีจะอยู่ในช่วงประมาณ 2.22-17.6 ไมโครโมลาร์ (0.5-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) (George and Nissen, 1987; Tazzari *et al.*, 1990, Bejoy and Hariharan, 1992; Encina *et al.*, 1994; Rasai *et al.*, 1994; Lemos and Black, 1996 b, 1996 c; Bridg, 2000; Farooq *et al.*, 2002; Zobayed *et al.*, 2002; Padilla and Encina, 2004) สารชนิดอื่นในกลุ่มเดียวกันนี้ที่มีการนำมาใช้ ได้แก่ zeatin kinetin 2iP และ TDZ (Encina *et al.*, 1994; Bridg, 2000; Farooq *et al.*, 2002; Padilla and Encina, 2004) ในบางการทดลอง พบว่าการเพิ่มฤทธิ์ของไซโตไคนิน โดยใช้ไซโตไคนินสองชนิดร่วมกันอาจส่งผลในการชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดยอดได้มากกว่าการใช้เพียงชนิดเดียว เช่น Bridg (2000) พบว่า การใช้ zeatin ความเข้มข้น 1.36 ไมโครโมลาร์ หรือ kinetin ความเข้มข้น 2.32 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของ *A. cherimola* เกิดยอดได้ 2.4 และ 3.5 ยอด ตามลำดับ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม zeatin ความเข้มข้น 1.36 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin 4.65 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้เพิ่มขึ้นเป็น 6.7 ยอด และ Farooq *et al.* (2002) รายงานว่าการใช้ BA ร่วมกับ kinetin ให้ผลดีกว่าการใช้ BA เพียงอย่างเดียว และดีกว่าการใช้ BA ร่วมกับ kinetin และ IAA ในการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของ *A. squamosa* เกิดยอด แต่ในบางชนิดมีรายงานว่า การใช้ไซโตไคนินร่วมกับออกซิน สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดการเพิ่มปริมาณยอดได้ดี เช่น การใช้ BA

ร่วมกับ α -naphthaleneacetic acid (NAA) ในการชักนำให้ขึ้นส่วนของ *A. muricata* เกิดยอด (Bejoy and Hariharan, 1992; Lemos and Black, 1996 c)

ชิ้นส่วนพืช

ชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงมักใช้ที่มีความยาววัย เนื่องจากมีความต้นตัว ง่ายต่อการชักนำ ได้แก่ ไฮโปคอติลจากต้นกล้าที่มีอายุน้อย ๆ (Bejoy and Hariharan, 1992; Rasai *et al.*, 1994; Lemos and Black, 1996 b, 1996 c) และข้อที่เยาว์วัยของต้นที่มีอายุน้อย ๆ (Encina *et al.*, 1994) ตัวอย่างเช่น การศึกษาของ Tazzari *et al.* (1990) พบว่าการนำชิ้นส่วนจากต้น *A. cherimola* ที่มีอายุน้อย (3-5 ปี) มาเพาะเลี้ยงจะมีการตอบสนองต่อการชักนำได้ดีกว่าชิ้นส่วนจากต้นที่อายุมาก ๆ (30 ปี) นอกจากนี้ตำแหน่งของชิ้นส่วนที่ใช้ในการทดลองก็มีผลต่อการเพาะเลี้ยงด้วย Rasai *et al.* (1994) พบว่าการเพิ่มจำนวนยอดจากชิ้นส่วนไฮโปคอติลของต้นกล้า atemoya cv. African Pride โดยใช้ชิ้นส่วน distal part (ส่วนที่ติดกับรอยต่อของราก) สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากกว่าการใช้ชิ้นส่วน middle part (ส่วนกลาง) และ proximal (ส่วนที่ติดกับข้อใบเลี้ยง) ของไฮโปคอติล การนำชิ้นส่วนจากต้นโตเต็มที่มีมาเพาะเลี้ยง นิยมใช้ชิ้นส่วนข้อโดยตัดชิ้นส่วนเป็นข้อเดี่ยว ๆ ที่มี 1 ตา (Rasai *et al.*, 1994; Lemos and Black, 1996 b, 1996 c; Maldonado and Ramirez, 2001) แต่ Bridg (2000) พบว่า การนำกิ่ง *A. cherimola* และ *A. muricata* จากต้นอายุ 2 ปี (semiwoody) ที่ตัดเป็นท่อนยาว 5-9 เซนติเมตร มีตา 3 ตา มาเพาะเลี้ยง สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าการตัดเป็นท่อนยาว 1-3 เซนติเมตร ที่มีตา 1 ตา

ความเข้มแสง และระยะเวลาการได้รับแสง

Farooq *et al.* (2002) พบว่าความเข้มแสง และระยะเวลาในการได้รับแสง มีส่วนช่วยกระตุ้นให้ยอดใหม่ของ *A. squamosa* เกิดเร็วขึ้น โดยความเข้มแสงที่เหมาะสมอยู่ที่ระดับ 2,000 ลักซ์ (27 ไมโครโมลต่อตารางเมตร-วินาที) นาน 18 ชั่วโมงต่อวัน

การชักนำให้ยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเกิดราก

ในการขยายพันธุ์พืชวงศ์ Annonaceae โดยการตอนกิ่งและการปักชำ ในสภาพธรรมชาติใช้ระยะเวลานานและมักไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร (ทอม, 2546) และในสภาพเพาะเลี้ยงก็เช่นกัน

การชักนำให้เกิดรากทำได้ค่อนข้างยาก (George and Nissen, 1987; Rasai *et al.*, 1995 a; Farooq *et al.*, 2002; Padilla and Encina, 2004) โดยความยากง่ายของการชักนำนอกจากขึ้นอยู่กับชนิดพืชแล้ว ยังมีปัจจัยสำคัญอื่น ๆ เช่น

สารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินที่นิยมใช้เพื่อชักนำให้ยอดเกิดราก ได้แก่ indole butyric acid (IBA) indole-3-acetic acid (IAA) และ NAA ความเข้มข้นที่ใช้ชักนำให้ยอดของพืช วงศ์ Annonaceae เกิดรากมีความแตกต่างกันมาก โดย IBA ความเข้มข้นที่ใช้ได้ผลคือในช่วงประมาณ 4.9 -980 ไมโครโมลาร์ (1-200 มิลลิกรัมต่อลิตร) (Bejoy and Hariharan, 1992; Encina *et al.*, 1994; Rasai *et al.*, 1994; Lemos and Black, 1996 b; Bridg, 2000; Farooq *et al.*, 2002; Padilla and Encina, 2004) และความเข้มข้นของ NAA ที่ใช้ได้ผลคือในช่วงประมาณ 21.48-5,370 ไมโครโมลาร์ (4-1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) (Lemos and Black, 1996 b, 1996 c; Padilla and Encina, 2004) ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดพืช วิธีการ ขั้นตอน และระยะเวลาในการชักนำ (Encina *et al.*, 1994; Lemos and Black 1996, c) ส่วน IAA มีผลกระตุ้นการเกิดรากของพืชวงศ์นี้ได้ค่อนข้างต่ำ (Encina *et al.*, 1994; Lemos and Black, 1996 c; Bridg, 2000; Padilla and Encina, 2004)

อายุของชิ้นส่วนพืช

ช่วงอายุของชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดยอดที่ใช้ในการชักนำรากก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ โดย Lemos and Black (1996 b, 1996 c) พบว่ายอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนเขาวัววัย ได้แก่ ไฮโปคอติล จะตอบสนองต่อการเกิดรากได้ดีกว่า ก็สามารถชักนำให้เกิดรากได้ง่ายและให้จำนวนรากมากกว่ายอดจากชิ้นส่วนข้อของต้นโตเต็มวัย

องค์ประกอบอื่น ๆ ของอาหาร

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของอาหาร เช่น การลดความเข้มข้นของปริมาณธาตุอาหารลงให้เหลือครึ่งหนึ่ง หรือหนึ่งในสี่ของสูตรเดิม การลดปริมาณน้ำตาลในอาหาร และการเติม activated charcoal ประมาณ 1-2 กรัมต่อลิตร รวมถึงการเติม citric acid ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อช่วยลดปัญหาจากการปล่อยของเหลวสีน้ำตาลแดง (a brown-red

exudate) จากชิ้นส่วน สามารถส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวรากเพิ่มขึ้นได้ (Encina *et al.*, 1994; Lemos and Black, 1996 c; Bridg, 2000; Farooq *et al.*, 2002; Padilla and Encina, 2004) และ Lemos and Black (1996 b) ยังพบว่าการใช้น้ำตาล galactose แทน sucrose ทำให้การชักนำรากจากยอด *A. squamosa* เกิดเพิ่มขึ้นได้

ตัวอย่าง เช่น Lemos and Black (1996 c) ทดลองนำยอด *A. muricata* ที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนที่เขาวัววัย (ไฮโปคอติล) และจากข้อของต้นโตเต็มวัยมาชักนำรากด้วย NAA ความเข้มข้น 21.48-5370 ไมโครโมลาร์ (4-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดย NAA ความเข้มข้นต่ำ 21.48 ไมโครโมลาร์ ใช้วิธีผสมลงในอาหารกึ่งแข็ง เพาะเลี้ยงยอดนาน 4 สัปดาห์ และที่ระดับความเข้มข้น 21.48 85.92 และ 343.68 ไมโครโมลาร์ ใช้วิธีผสมลงในอาหารเหลว เพาะเลี้ยงยอดนาน 5-15 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนที่ระดับความเข้มข้นสูง 2,685 และ 5,370 ไมโครโมลาร์ ใช้วิธีจุ่มโคนยอดนาน 1-3 นาที เพาะเลี้ยงในที่มืด ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำรากได้ 8-66 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าการเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร WPM ที่เติม activated charcoal ความเข้มข้น 3 กรัมต่อลิตร นาน 15 วัน เพื่อปรับสภาพก่อนนำไปชักนำราก ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากเพิ่มขึ้นได้ โดยเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร WPM ที่เติม NAA ความเข้มข้น 21.48 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ ยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนที่เขาวัววัยเกิดรากได้ 66 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ย 2.4 ราก และยอดที่ชักนำได้จากข้อของต้นโตเต็มวัยเกิดรากได้ 58 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ย 2.2 ราก มากกว่าเมื่อชักนำรากโดยไม่ผ่านการปรับสภาพก่อนซึ่งยอดที่ได้จากชิ้นส่วนที่เขาวัววัยเกิดรากได้ 50 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ย 2.4 รากต่อชิ้น และชักนำให้ยอดที่ได้จากชิ้นส่วนข้อจากต้นโตเต็มวัยเกิดรากได้ 42 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ย 1.5 ราก

การย้ายต้นกล้าออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

การย้ายต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติให้มีการรอดชีวิตสูงสุด มีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงหลายประการ เช่น วัสดุปลูก การรักษาความชื้นให้พอเหมาะ และการดูแลรักษาที่เหมาะสม การปรับสภาพต้นพืชให้มีความเคยชินกับสภาพอากาศก่อนนำออกปลูกก็เป็นอีกปัจจัยที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง Bejoy and Hariharan (1992) ปรับสภาพต้นกล้า *A. muricata* ด้วยการนำไปเก็บในห้องที่มีอุณหภูมิประมาณ 27-29 องศาเซลเซียส นาน 10 วัน ก่อนย้ายปลูกโดยใช้ทรายแม่น้ำเป็นวัสดุปลูก ไว้ในที่ที่มีความชื้นสูง พบว่าต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิต 65 เปอร์เซ็นต์

ขณะที่ต้นกล้าที่ไม่ได้ปรับสภาพมีอัตราการรอดชีวิต 35 เปอร์เซ็นต์ หลังจากย้ายปลูกลานาน 35-40 วัน ย้ายต้นกล้าลงปลูกในวัสดุผสมระหว่างทรายแม่น้ำและปุ๋ยคอก อัตราส่วน 1 : 1 ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตดี ในขณะที่ Lemos and Black (1996 c) ปรับสภาพต้นกล้า *A. muricata* โดยการย้ายลงในกล่องพลาสติกสำหรับปลูกที่มีเวอร์มิคูไลต์เป็นวัสดุปลูก วางไว้ในห้องที่มีความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อเมตรวินาที อุณหภูมิ 24 ± 3 องศาเซลเซียส จนกระทั่งต้นกล้าเริ่มเกิดใบใหม่ จึงค่อย ๆ เปิดฝากล่อง หลังจากนั้น 3 สัปดาห์ รดด้วยสารละลายธาตุอาหาร พบว่าต้นกล้ามีการรอดชีวิตและเจริญเติบโตดี

ตัวอย่างความสำเร็จในการย้ายปลูกต้นกล้าของพืชวงศ์นี้ ได้แก่ Lemos and Black (1996 b) ย้ายปลูกต้นกล้า *A. squamosa* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในโรงเรือน พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์ Rasai *et al.* (1994) ย้ายปลูกต้นกล้า *atemoya* cv. African Pride ในสภาพธรรมชาติ พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 70 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Nair *et al.* (1984 a) ย้ายปลูก *atemoya* มีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์

การชักนำให้ขึ้นส่วนเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน (morphogenesis)

กระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน (morphogenesis) หมายถึง กระบวนการพัฒนาเป็นโครงสร้างหรืออวัยวะพืชจากภาวะที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพ (undifferentiation) ไปสู่ภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพ (differentiation) โดยอาจเกิดได้ 2 กรณี คือเกิดโดยตรงจากชิ้นส่วน (direct morphogenesis) หรือขึ้นส่วนเกิดแคลลัสก่อนจากนั้นจึงเกิดกระบวนการพัฒนาเป็นโครงสร้างหรืออวัยวะ (indirect morphogenesis) ซึ่งอาจแบ่งกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้เป็น 2 ลักษณะ คือกระบวนการเกิดอวัยวะ (organogenesis) และการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอ (somatic embryogenesis) (รังสฤษฎ์, 2541; Kandasamy *et al.*, 1995; Pierik, 1998)

แคลลัส คือ กลุ่มเซลล์พาราเมโซมาที่มีความว่องไวในการแบ่งตัว และยังไม่พัฒนาไปเป็นอวัยวะ มักเกิดบริเวณรอยตัดหรือแผลของชิ้นส่วนพืช แคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะกันแน่น เรียกว่า compact callus แต่ถ้าเกาะกันอย่างหลวม ๆ เรียกว่า friable callus ชิ้นส่วนพืชเกือบทุกชนิดจากอวัยวะต่าง ๆ สามารถนำมาชักนำให้เกิดแคลลัสได้ เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จขึ้นอยู่กับชนิดพืช ชนิดชิ้นส่วน ชนิดและปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตและสารเคมีอื่น ๆ ที่เติมลงในอาหาร และสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง (รังสฤษฎ์, 2541; Pierik, 1998) ตัวอย่างการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส ในยี่หุบ (*Magnolia coco*) มณฑิรา (2531) ชักนำให้ขึ้นส่วนใบ ก้านใบ กลีบดอก และกิ่งอ่อนเกิดแคลลัสโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM ที่เติม NAA : BA อัตราส่วนต่าง ๆ กัน พบว่าเนื้อเยื่อส่วนกิ่งอ่อน และใบอ่อนที่มีส่วนของเส้นกลางใบติดอยู่จะสามารถเกิดแคลลัสได้ ลักษณะแคลลัสมีสีเขียวอ่อนใส เป็นก้อนขนาดเล็กรวมกลุ่มกัน โดยจะเกิดมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM ที่เติม NAA : BA อัตราส่วน 1 : 1, 1 : 2 และ 2 : 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

การชักนำให้ขึ้นส่วนพืชเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน นิยมใช้ขึ้นส่วนใบ หรือ ก้านใบ เช่น ใน *A. squamosa* (Nair et al., 1984 b) และ *A. cherimola* (Rasai, 1995 b) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส และชักนำให้เกิด direct shoot organogenesis ได้ โดยบริเวณที่ตอบสนองต่อการชักนำได้ดี คือ ส่วนฐานใบ เส้นกลางใบ และรอยตัดบริเวณก้านใบ เช่น ในการเพาะเลี้ยงขึ้นส่วนใบของ *A. squamosa* บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดบนชิ้นส่วนใบสูงสุด และ BA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนใบเกิดยอดได้จำนวนมากที่สุด 15.6 ยอดต่อชิ้นส่วน และพบว่า หากเติม NAA ร่วมกับ BA และ kinetin จำนวนยอดที่ชักนำได้จะลดลง และมักเกิดแคลลัสที่รอยตัดของชิ้นส่วน นอกจากนี้ยังพบว่า อุณหภูมิ และความเข้มแสงมีผลต่อการชักนำให้ขึ้นส่วนใบเกิดยอด โดยอุณหภูมิและความเข้มแสงที่เหมาะสมในการชักนำให้ขึ้นส่วนใบ *A. squamosa* เกิดยอด คือ อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ (13.5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรวินาที) (Nair et al., 1984 b) ในส่วนของ Rasai (1995 b) เพาะเลี้ยงขึ้นส่วนใบรวมก้านใบของ *A. cherimola* ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ casein hydrolysate ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (ทำให้ปลอดเชื้อโดยวิธีการกรอง) พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ในการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของลำควน สุภาวดี (2540) พบว่าอาหารสูตร WPM ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด แต่แคลลัสที่ได้ไม่สามารถพัฒนาต่อเป็นยอดได้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. พืชทดลอง ได้แก่ กล้วยไฉ้พอน (*U. lurida* Hook.f. & Thomson) กล้วยหมูสัง (*U. grandiflora* Roxb. ex Hornem. var. *grandiflora*) และพีพวนน้อย (*U. rufa* Blume) ซึ่งรวบรวมจากร้านพรรณไม้ แล้วนำมาปลูกไว้ในเรือนเพาะชำ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร

2. เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดที่อ่านค่าได้ทศนิยม 4 ตำแหน่ง เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ไมโครเวฟ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ เครื่องแก้วชนิดต่าง ๆ สำหรับเตรียมอาหาร และขวดขนาด 4 ออนซ์พร้อมฝาปิดสำหรับบรรจุอาหารเพาะเลี้ยง

3. สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) (ตารางผนวกที่ 1)

4. สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ N⁶-benzyladenine (BA), N-phenyl-N'-(1,2,3-thidiazurol-5'-yl)-urea (TDZ) กลุ่มออกซิน ได้แก่ α -naphthaleneacetic acid (NAA) และ indole butyric acid (IBA) และกลุ่มจิบเบอเรลลิน ได้แก่ gibberellic acid (GA₃)

5. สารเคมีอื่น ๆ ที่ใช้เป็นองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ ได้แก่ silver nitrate (AgNO₃), ascorbic acid, citric acid และ activated charcoal

6. ยาปฏิชีวนะ ได้แก่ streptomycin, penocep, tetracycline และ rifampicin

7. สารเคมีที่ใช้ในการปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหาร ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

8. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อและทำความสะอาด ได้แก่ เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์ สารละลายคลอโรกซ์ (sodium hypochloride 5.25 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) สารลดแรงตึงผิว (tween 20) น้ำยาล้างผัก (sodium lauryl ether sulfate 7.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) สำหรับล้างชิ้นส่วนพืช

9. เครื่องมือและอุปกรณ์ในการย้ายเนื้อเยื่อ ได้แก่ ตู้อ้ายเนื้อเยื่อ คีมมีดผ่าตัด ใบมีดผ่าตัด เบอร์ 10 ปากคีบ กรรไกร จานแก้ว เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ และตะเกียงแก๊ส

10. วัสดุสำหรับย้ายปลูก ได้แก่ วัสดุผสมเกลบเผาและขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1 : 1
11. อุปกรณ์บันทึกภาพและข้อมูล

การศึกษากระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของชิ้นส่วน

1. กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ (stereo microscope) ชนิดเชิงประกอบ (compound microscope) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) พร้อมกล้องถ่ายภาพ
2. สารเคมีที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร เช่น formalin aceto alcohol (FAA) เอทิลแอลกอฮอล์ พาราฟิน และสีย้อม ได้แก่ safranin และ fast green
3. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วย SEM ได้แก่ glutaraldehyde ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ osmiumtetroxide (OsO_4) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ phosphate buffer (pH 7.2) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ NaOH ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และ acetone
4. เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำสไลด์ถาวร เช่น ปากคีบ จานแก้ว สไลด์ กระจกปิดสไลด์ และเครื่องตัดตัวอย่างพืช (microtome)
5. เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วย SEM เช่น ขวดเก็บตัวอย่าง (vial) ตู้ดูดควัน เครื่องดูดอากาศ ฐานรองตัวอย่าง (stub) เครื่องทำแห้ง ณ จุดวิกฤติ (critical point dryer, CPD) และเครื่องฉาบผิว (ion sputter)

วิธีการ

1. การเตรียมชิ้นส่วนพืชทดลอง

ชิ้นส่วนข้อ: นำกิ่งพืชทดลองทั้ง 3 ชนิด ที่มียอดและข้อที่สามารถมองเห็นได้จำนวน 4 ข้อ ตัดเฉพาะข้อที่ 2-4 นับจากยอดมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างผักโดยใช้ฟู่กันทำความสะอาดตามซอกตาใบ ๆ ล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดฟอง จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 1-2 หยดต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร นาน 10 นาที และฟอกซ้ำอีกครั้งด้วยสารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10-15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หรือจนกว่าจะหมดฟอง แช่ในสารละลาย ascorbic acid (ทำให้ปลอดเชื้อโดยวิธีการกรอง) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 นาที ตัดแยกเป็นข้อเดี่ยว ๆ นำไป

เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณความเข้มข้นของอาหารลงให้เหลือครึ่งสูตร ($\frac{1}{2}$ MS) นาน 2 สัปดาห์ เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อน จากนั้นนำชิ้นส่วนปลอดเชื้อไปใช้ในการทดลอง

ชิ้นส่วนใบ: นำใบอ่อนจากข้อที่ 1 และ 2 ของกล้วยไ้พอนและพิพวนน้อยมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างผัก จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 1-2 หยดต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หรือจนกว่าจะหมดฟอง แะในสารละลาย ascorbic acid (ทำให้ปลอดเชื้อโดยวิธีการกรอง) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 นาที ตัดเป็นชิ้น กว้าง 1.5 เซนติเมตร ยาว 1.5 เซนติเมตร นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS นาน 2 สัปดาห์ เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อน จากนั้นนำชิ้นส่วนปลอดเชื้อไปใช้ในการทดลอง

2. การศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บชิ้นส่วนข้อมาฟอกฆ่าเชื้อ

นำชิ้นส่วนข้อของพืชทดลองทั้ง 3 ชนิด ที่เก็บในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ได้แก่ ฤดูร้อน (เดือนมีนาคม-พฤษภาคม) ฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม-กันยายน) และฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน-มกราคม) มาฟอกฆ่าเชื้อตามวิธีในข้อที่ 1 แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS นาน 2 สัปดาห์ ทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 40 ค่าสังเกต ให้ 1 ค่าสังเกตคือ 1 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวดทดลอง บันทึกจำนวนชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน และรอดชีวิต (ชิ้นส่วนมีสีเขียวสด) แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน และรอดชีวิตของชิ้นส่วน

3. การศึกษาผลของยาปฏิชีวนะในการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ภายในท่อลำเลียงของชิ้นส่วน

นำชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนมาฟอกฆ่าเชื้อตามวิธีในข้อที่ 1 นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS (control) และแะในสารละลายยาปฏิชีวนะ ตามวิธีของ Bridg (2000) ชนิดของยาปฏิชีวนะ ได้แก่ streptomycin, penocep (penicillin และ streptomycin), tetracycline และ rifampicin (ทำให้ปลอดเชื้อโดยวิธีการกรอง) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 นาที ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS นาน 2 สัปดาห์ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนที่แะสารละลาย rifampicin นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรดังกล่าวที่เททับหรือไม่เททับด้วยสารละลาย rifampicin ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อ

ลิตร นาน 4 สัปดาห์ ทดลอง 30 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำคือ 1 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวดทดลอง บันทึกจำนวนชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียบริเวณรอยตัดที่สัมผัสอาหาร แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์

4. การศึกษาผลของ BA ร่วมกับ AgNO_3 ในการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดยอด และการป้องกันการหลุดร่วงของใบ

4.1 กล้วยไอ้พอนและกล้วยหมูสัง

นำชิ้นส่วนข้อที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 0 และ 29.4 ไมโครโมลาร์ (5 มิลลิกรัมต่อลิตร) (Lemos and Black, 1996 a) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและ AgNO_3 (basal-MS) นาน 4 สัปดาห์ กล้วยไอ้พอน ทดลอง 30 ซ้ำ และกล้วยหมูสัง ทดลอง 15 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำคือ 1 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ 2×5 Factorial in Complete Randomized Design (CRD) บันทึกเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของใบ จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน ความยาวยอด จำนวนข้อของยอดที่ยาวที่สุด (ยอดหลัก) และบันทึกภาพ

4.2 ฟิพวนน้อย

นำชิ้นส่วนข้อที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ ทดลอง 21 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำคือ 1 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD บันทึกจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน ความยาวยอด จำนวนข้อของยอดหลัก และบันทึกภาพ

5. การศึกษาผลของ GA_3 ต่อการยืดยาวของยอด

นำชิ้นส่วนข้อที่ปลอดเชื้อของกล้วยไอ้พอนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ และ GA_3 ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS

นาน 4 สัปดาห์ ทดลอง 30 ชั่วโมง ให้ 1 ชั่วโมง 1 ชั่วโมงต่อ 1 ขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD บันทึกจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน ความยาวยอด จำนวนข้อของยอดหลัก และบันทึกภาพ

6. การศึกษาผลของ TDZ ในการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดยอด

นำชิ้นส่วนข้อที่ปลอดเชื้อของกล้วยไอ้พอนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ ทดลอง 30 ชั่วโมง ให้ 1 ชั่วโมง 1 ชั่วโมงต่อ 1 ขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD บันทึกเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของใบ จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน ความยาวยอด จำนวนข้อของยอดหลัก และบันทึกภาพ

7. การศึกษาผลของ IBA และ NAA ในการชักนำให้ยอดเกิดราก

7.1 ทดลองในสภาพปลอดเชื้อ

7.1.1 นำยอดกล้วยไอ้พอนและกล้วยหมูสังที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ที่มีความยาว 2-4 เซนติเมตร ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 0 2 4 6 8 และ 10 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ กล้วยไอ้พอน ทดลอง 10 ชั่วโมง กล้วยหมูสัง ทดลอง 5 ชั่วโมง ให้ 1 ชั่วโมง 1 ชั่วโมงต่อ 1 ขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก

7.1.2 นำยอดกล้วยไอ้พอนและกล้วยหมูสังที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ที่มีความยาว 2-4 เซนติเมตร ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 0 10 20 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ ที่ปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหาร 3 ระดับ ได้แก่ 5.4 5.8 และ 6.2 นาน 4 สัปดาห์ กล้วยไอ้พอน ทดลอง 5 ชั่วโมง กล้วยหมูสัง ทดลอง 3 ชั่วโมง ให้ 1 ชั่วโมง 1 ชั่วโมงต่อ 1 ขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ 5×3 Factorial in CRD บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก

7.1.3 นำยอดกล้วยไอ้พอนและกล้วยหมูสังที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ที่มีความยาว 2-4 เซนติเมตร ไปชักนำให้เกิดรากโดยตัดแปลงตามวิธีของ Lemos and Black (1996 c) โดยนำยอดไป

เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 0 50 100 และ 200 ไมโครโมลาร์ นาน 2 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS นาน 2 สัปดาห์ กล้วยไอ้พอน ทดลอง 7 ซ้ำ กล้วยหมูสัง ทดลอง 5 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำคือ 1 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก

7.1.4 นำยอดกล้วยไอ้พอนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ที่มีความยาว 2-4 เซนติเมตร ไปชักนำให้เกิดรากโดยดัดแปลงตามวิธีของ Farook *et al.* (2002); Nagori and Purohit (2004) โดยนำยอดที่ผ่านและไม่ผ่านการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม activated charcoal ความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร ในที่มีด นาน 10 วัน มาจุ่มโคนยอดลงในสารละลาย IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครโมลาร์ นาน 30 นาที ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ ทดลอง 5 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำคือ 1 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ 2×2 Factorial in CRD บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก

7.1.5 นำยอดกล้วยไอ้พอนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ที่มีความยาว 2-4 เซนติเมตร ไปชักนำให้เกิดรากโดยดัดแปลงตามวิธีของ Encina *et al.* (1994); Lemos and Black (1996 c); Padilla and Encina (2004) โดยนำยอดที่ผ่านการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม activated charcoal ความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร นาน 10 วัน มาเพาะเลี้ยงโดยแช่โคนยอดลงในสารละลาย IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 20 50 100 250 และ 500 ไมโครโมลาร์ นาน 1 สัปดาห์ และความเข้มข้น 2,500 และ 5,000 ไมโครโมลาร์ นาน 1 นาที แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS ที่เติม activated charcoal ความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมและไม่เติม citric acid ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จนครบ 4 สัปดาห์ ทดลอง 5 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำคือ 1 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ 7×2 Factorial in CRD บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก

7.2 ทดลองในสภาพธรรมชาติ

นำยอดกล้วยไอ้พอนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ที่มีความยาว 2-4 เซนติเมตร ไปชักนำให้เกิดรากโดยดัดแปลงตามวิธีของ Lemos and Black (1996 c); Nagori and Purohit (2004) โดยนำยอดที่ผ่านการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม activated charcoal ความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร นาน 10 วัน มาจุ่มโคนยอดลงในสารละลาย IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 2,500 และ 5,000 ไมโครโมลาร์ นาน 1 นาที และความเข้มข้น 5,000 8,000 และ 10,000 ไมโครโมลาร์ นาน 2 นาที ก่อนนำออกปลูก

ในวัสดุผสมเกล็ดปลาและขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1 : 1 ทดลอง 5 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD หลังย้ายปลูก 35 วัน บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก ความยาวราก และการรอดชีวิต

8. การศึกษาการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของชิ้นส่วนใบเมื่อกระตุ้นด้วย BA ร่วมกับ NAA

8.1 กล้วยไอ้พอน

นำชิ้นส่วนใบที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.50 และ 2.50 ไมโครโมลาร์ (รวม 12 สูตร) เพาะเลี้ยงในที่มืด นาน 8 สัปดาห์ ทดลอง 10 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำคือ 1 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวดทดลอง บันทึกจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน เช่น แคลลัส ยอด ราก หรือ โขมาติกเอ็มบริโอ จำนวนชิ้นส่วนที่มีการปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร และจำนวนชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชิ้น แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์พร้อมทั้งให้คะแนนการเกิด การเปลี่ยนแปลง

การให้คะแนนการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานทั้งหมดที่เกิดขึ้นบนแผ่นใบ เช่น แคลลัส ยอด ราก หรือ โขมาติกเอ็มบริโอ

ระดับคะแนน 0 คือ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

ระดับคะแนน 1 คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า ¼ ของแผ่นใบ

ระดับคะแนน 2 คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงประมาณ ¼ ของแผ่นใบ

ระดับคะแนน 3 คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงประมาณ ½ ของแผ่นใบ

ระดับคะแนน 4 คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงประมาณ ¾ ของแผ่นใบ

ระดับคะแนน 5 คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงบนแผ่นใบเต็มแผ่นใบ

8.2 ฟิพวนน้อย

นำชิ้นส่วนใบที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ (รวม 12

สูตร) เพาะเลี้ยงในที่มืด นาน 8 สัปดาห์ ทดลอง 5 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำคือ 1 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวดทดลอง บันทึกจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน เช่น แคลลัส ยอด ราก หรือ โขมาติคเอมบริโอ จำนวนชิ้นส่วนที่มีการปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร และจำนวนชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชิ้น แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์พร้อมทั้งให้คะแนนการเกิดและการเปลี่ยนแปลง

การให้คะแนนการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานทั้งหมดที่เกิดขึ้นบนแผ่นใบ เช่น แคลลัส ยอด ราก หรือ โขมาติคเอมบริโอ ใช้เกณฑ์ตามข้อ 8.1

8.3 การศึกษาการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน

นำชิ้นส่วนใบที่เกิดการเปลี่ยนแปลงมาศึกษาลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) โดยเตรียมตัวอย่างที่จะศึกษาด้วย SEM ตามวิธีการของรุจิพร (2541) และศึกษาลักษณะภายในจากสไลด์ถาวรที่ทำด้วยวิธี paraffin technique ตามวิธีการทาง ไมโครเทคนิคพืชของประศาสตร์ (2537) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเชิงประกอบ (compound microscope) เพื่อตรวจสอบการพัฒนาของโครงสร้าง

9. สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง

ทดลองในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในทุกการทดลองให้ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ยกเว้นการศึกษาการเกิดการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนใบเมื่อกระตุ้นด้วย BA ร่วมกับ NAA ทดลองในที่มืด

10. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความแปรปรวนของสิ่งทดลองด้วยโปรแกรม IRRISTAT และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี least significant different test (LSD)

สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเรือนเพาะชำ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร

ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง	เดือนมิถุนายน 2547
สิ้นสุดการทดลอง	เดือนมีนาคม 2549

ผลการทดลอง

1. การศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บชิ้นส่วนข้อมาฟอกมาเชื้อ

การฟอกมาเชื้อชิ้นส่วนของพืชทั้ง 3 ชนิดที่เก็บในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ได้แก่ ฤดูร้อน (เดือนมีนาคม-พฤษภาคม) ฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม-กันยายน) ฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน-มกราคม) พบว่า ชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน พืพวนน้อย และกล้วยหมูสัง ที่เก็บในฤดูร้อนมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุด 5.8 10.8 และ 28.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือชิ้นส่วนของที่เก็บในฤดูหนาวมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 45.8 52.5 และ 58.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และชิ้นส่วนของที่เก็บในฤดูฝนมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุด 83.3 88.3 และ 91.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

สำหรับเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน กล้วยหมูสัง และพืพวนน้อย พบว่า ชิ้นส่วนของที่เก็บในฤดูร้อนแล้วนำมาฟอกมาเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 98.2 95.5 และ 91.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือชิ้นส่วนของที่เก็บในฤดูหนาว มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 93.9 93.0 และ 87.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และชิ้นส่วนของที่เก็บในฤดูฝนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุด 83.8 83.3 และ 46.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนและการรอดชีวิต เมื่อฟอกชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน
กล้วยหมุ่สัง และพิพวนน้อยที่เก็บใน 3 ช่วงฤดู

พืช	ฤดูกาลที่เก็บชิ้นส่วน	การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (เปอร์เซ็นต์)	การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)
กล้วยไ้พอน	ฤดูร้อน (มี.ค.-พ.ค.)	5.8	98.2
	ฤดูฝน (ก.ค.-ก.ย.)	83.3	83.8
	ฤดูหนาว (พ.ย.-ม.ค.)	48.3	93.9
	เฉลี่ย	45.8	92.0
กล้วยหมุ่สัง	ฤดูร้อน (มี.ค.-พ.ค.)	28.3	95.5
	ฤดูฝน (ก.ค.-ก.ย.)	91.7	83.3
	ฤดูหนาว (พ.ย.-ม.ค.)	58.3	93.0
	เฉลี่ย	59.4	90.6
พิพวนน้อย	ฤดูร้อน (มี.ค.-พ.ค.)	10.8	91.6
	ฤดูฝน (ก.ค.-ก.ย.)	88.3	46.8
	ฤดูหนาว (พ.ย.-ม.ค.)	52.5	87.8
	เฉลี่ย	50.5	75.4

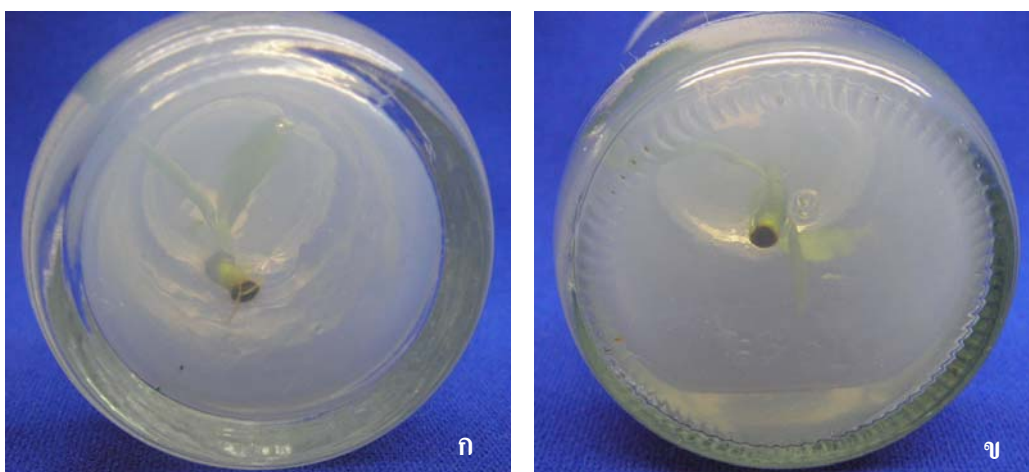
2. การศึกษาผลของยาปฏิชีวนะในการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงของชิ้นส่วน

การใช้ยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียง พบว่า การแช่ชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนในสารละลาย rifampicin หลังการฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ทดสอบ rifampicin ทับบนอาหารกึ่งแข็งสามารถลดการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงได้สูงสุด มีการปนเปื้อน 6.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าการแช่ชิ้นส่วนในสารละลาย rifampicin หลังการฟอกฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว ทำให้ชิ้นส่วนมีการปนเปื้อน 13.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ tetracycline ที่ทำให้ชิ้นส่วนมีการปนเปื้อน 26.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วน penocep และ streptomycin มีประสิทธิภาพลดการปนเปื้อนได้ต่ำสุด มีการปนเปื้อน 40.0 และ 43.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ลักษณะการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงที่พบเป็นการปนเปื้อนเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียมีลักษณะเป็นของเหลวสีขาวขุ่นซึมออกมาจากชิ้นส่วนบริเวณรอยตัดที่สัมผัสอาหาร (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงของชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอน

ชนิดของยา ปฏิชีวนะ	วิธีการ		การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ที่เจริญอยู่ในชิ้นส่วน (เปอร์เซ็นต์)
	แช่ชิ้นส่วนใน สารละลายปฏิชีวนะ ^{1/}	ทดสอบอาหาร ทับบนอาหาร	
control			46.7
streptomycin	/		43.3
penocep	/		40.0
tetracycline	/		26.7
rifampicin	/		13.3
rifampicin	/	/	6.7

^{1/} แช่ชิ้นส่วนในสารละลายปฏิชีวนะหลังจากฟอกฆ่าเชื้อแล้ว



ภาพที่ 2 ชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์

- ก. ชิ้นส่วนมีการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ภายในท่อลำเลียงของชิ้นส่วน
- ข. ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงโดยเทสารละลาย rifampicin ที่บนอาหารกึ่งแข็งไม่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

3. การศึกษาผลของ BA ร่วมกับ AgNO_3 ในการชักนำให้ขึ้นส่วนข้อเกิดยอด และการป้องกันการหลุดร่วงของใบ

3.1 กล้วยไฉ่พอนและกล้วยหมูสัง

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไฉ่พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ พบว่า เมื่อไม่เติม AgNO_3 มีการหลุดร่วงของใบถึง 87.3 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเติม AgNO_3 สามารถลดการหลุดร่วงของใบให้เหลือเพียง 7.3 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

ในส่วนของการขึ้นยอด พบว่า การเติมและไม่เติม AgNO_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยงไม่ทำให้จำนวนยอดแตกต่างกันทางสถิติ ความเข้มข้นของ BA มีผลทำให้จำนวนยอดแตกต่างกัน BA ความเข้มข้น 5-20 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนข้อมีการแตกยอดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA โดยอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดสูงสุด 2.3 และ 2.1 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 4 ตารางผนวกที่ 2) เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปัจจัยร่วมกัน พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน สำหรับความยาวยอด พบว่า การเติมและไม่เติม AgNO_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยง ไม่ทำให้ความยาวยอดแตกต่างกัน แต่ความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความยาวยอดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย BA ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ยอดมีความยาวสูงสุด 0.84 เซนติเมตร เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปัจจัยร่วมกัน พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน (ตารางที่ 4 ตารางผนวกที่ 3)

สำหรับจำนวนข้อของยอดหลัก พบว่า การเติมและไม่เติม AgNO_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยงไม่ทำให้จำนวนข้อของยอดหลักแตกต่างกัน ส่วนความเข้มข้นของ BA ที่แตกต่างกันมีผลทำให้จำนวนข้อของยอดหลักแตกต่างกัน โดย BA ความเข้มข้น 0-15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ยอดหลักเกิดข้อจำนวนมาก มีจำนวนข้อ 2.5-2.8 ข้อ แต่เมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นเป็น 20 ไมโครโมลาร์ พบว่า จำนวนข้อของยอดหลักมีจำนวนลดลง (ตารางที่ 5 ตารางผนวกที่ 4) เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปัจจัย พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน ซึ่งแม้ว่าการเติม AgNO_3 จะไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดและจำนวนข้อของยอดหลัก และไม่ทำให้ยอดใหม่มีความยาวเพิ่มขึ้น แต่มีผลทำให้ยอดที่เกิดขึ้นใหม่สามารถพัฒนาได้อย่างปกติ แตกต่างจากยอดที่ไม่ได้รับ AgNO_3 อย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 3)

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยหมั่งบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ พบว่า เมื่อไม่เติม AgNO_3 มีการหลุดร่วงของใบ ถึง 88.0 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเติม AgNO_3 สามารถลดการหลุดร่วงของใบให้เหลือเพียง 6.7 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

ในส่วนของการขยายยอด พบว่า การเติมและไม่เติม AgNO_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยง ไม่ทำให้จำนวนยอดแตกต่างกัน แต่ความเข้มข้นของ BA ที่แตกต่างกันมีผลทำให้จำนวนยอดแตกต่างกัน BA ความเข้มข้น 5-20 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนข้อมีการแตกยอดเพิ่มได้แตกต่างจากที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA โดยอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 4.2 ยอด เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปีจรร่วมกัน พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน (ตารางที่ 7 ตารางผนวกที่ 5)

สำหรับความยาวยอด พบว่า การเติมและไม่เติม AgNO_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยง มีผลทำให้ความยาวยอดแตกต่างกัน โดยการเติม AgNO_3 ทำให้ยอดมีความยาว 1.00 เซนติเมตร สูงกว่าการไม่เติม AgNO_3 ซึ่งทำให้ยอดมีความยาวเพียง 0.62 เซนติเมตร (ตารางที่ 7 ตารางผนวกที่ 6) เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของ BA พบว่าไม่ทำให้ความยาวยอดแตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มว่า BA ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ทำให้ความยาวยอดสูงสุด เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปีจรร่วมกัน พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน จากการสังเกตลักษณะยอดใหม่ที่ได้จากการชักนำ พบว่า เมื่อไม่เติม AgNO_3 ยอดที่ได้จะสั้น ยอดมีลักษณะการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ ใบมีสีค่อนข้างเหลือง แตกต่างจากยอดที่ได้รับ AgNO_3 ที่มีความยาวมากกว่า ยอดใหม่มีการพัฒนาได้อย่างปกติอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 4)

สำหรับจำนวนข้อของยอดหลัก พบว่า การเติม AgNO_3 ทำให้ยอดหลักมีจำนวนข้อ 4.4 ข้อ ซึ่งมากกว่าการไม่เติม AgNO_3 ที่ทำให้ยอดหลักมีจำนวนข้อเพียง 2.8 ข้อ และความเข้มข้นของ BA มีผลทำให้จำนวนข้อของยอดหลักแตกต่างกัน โดย BA ที่ความเข้มข้น 10-15 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดหลักมีจำนวนข้อมากที่สุด 4.0 และ 4.2 ข้อ ตามลำดับ (ตารางที่ 8 ตารางผนวกที่ 7) เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปีจรร่วมกัน พบว่ามีปฏิสัมพันธ์กัน โดยการเติม AgNO_3 ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดหลักมีจำนวนข้อมากที่สุด 4.9 และ 5.2 ข้อ ตามลำดับ

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	การหลุดร่วงของใบ (เปอร์เซ็นต์)	
	- AgNO_3	+ AgNO_3
0	76.7	0.0
5	90.0	10.0
10	86.7	10.0
15	93.3	10.0
20	90.0	6.7
เฉลี่ย	87.3	7.3

ตารางที่ 4 จำนวนยอดและความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

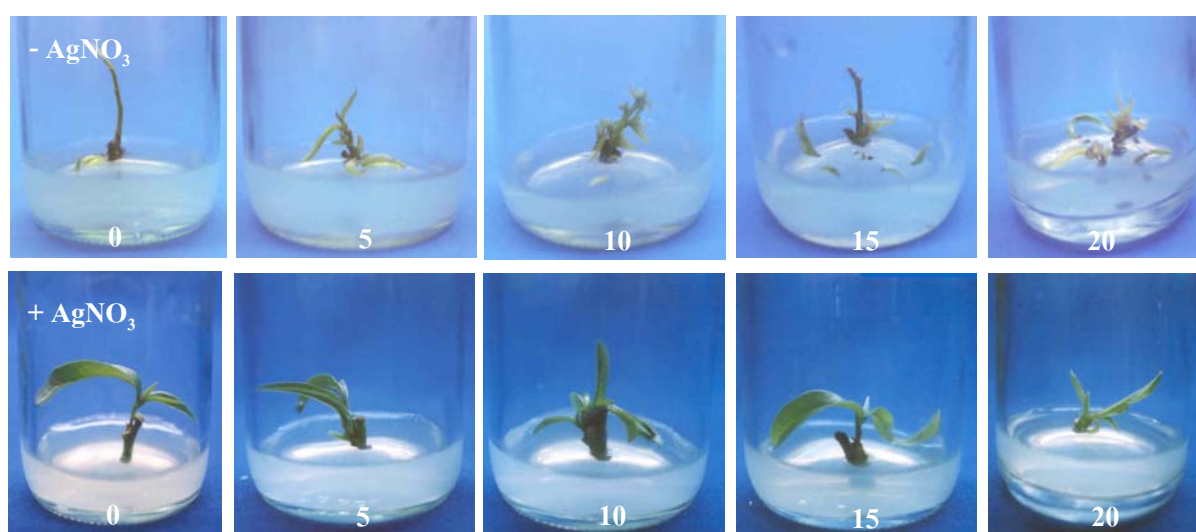
ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด		เฉลี่ย	ความยาวยอด (เซนติเมตร)		เฉลี่ย
	- AgNO_3	+ AgNO_3		- AgNO_3	+ AgNO_3	
0	1.0	1.0	1.0 d ^{1/}	0.83	0.86	0.84 a ^{1/}
5	1.8	1.9	1.8 b	0.64	0.62	0.63 b
10	2.3	2.3	2.3 a	0.61	0.59	0.60 bc
15	2.0	2.2	2.1 a	0.55	0.53	0.54 cd
20	1.6	1.6	1.6 c	0.48	0.48	0.48 d
เฉลี่ย	1.7	1.8		0.62	0.62	
CV (%)	34.9			38.9		

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test

ตารางที่ 5 จำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนข้อของยอดหลัก		เฉลี่ย
	- AgNO_3	+ AgNO_3	
0	2.4	2.7	2.5 ab ^{1/}
5	2.7	2.8	2.8 a
10	2.8	2.8	2.8 a
15	2.7	2.7	2.7 a
20	2.1	2.4	2.2 b
เฉลี่ย	2.5	2.7	
CV (%)	33.4		

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test



ภาพที่ 3 ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอน เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยหมูสับบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	การหลุดร่วงของใบ (เปอร์เซ็นต์)	
	- AgNO_3	+ AgNO_3
0	93.3	13.3
5	80.0	6.7
10	100.0	6.7
15	86.7	0.0
20	80.0	6.7
เฉลี่ย	88.0	6.7

ตารางที่ 7 จำนวนยอดและความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยหมูสับบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

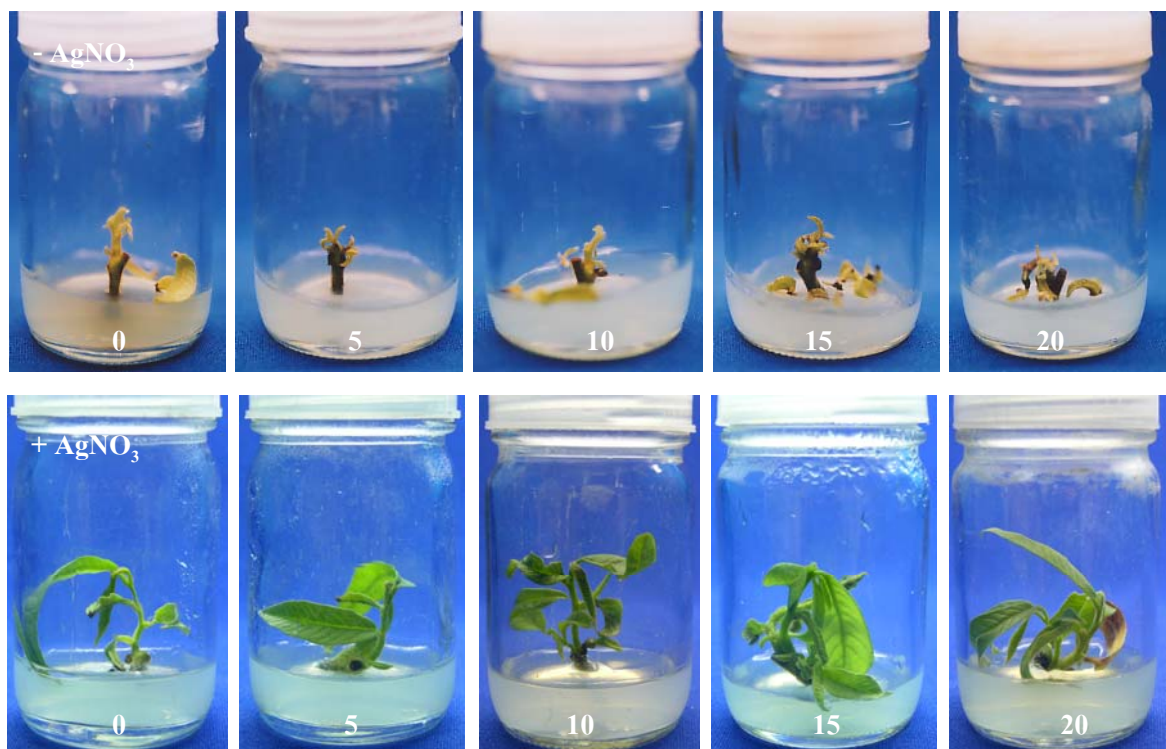
ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด		เฉลี่ย	ความยาวยอด (เซนติเมตร)		เฉลี่ย
	- AgNO_3	+ AgNO_3		- AgNO_3	+ AgNO_3	
0	1.1	1.0	1.0 d ^{1/}	0.78	1.16	0.97
5	2.5	2.7	2.6 c	0.59	1.04	0.81
10	3.5	3.3	3.4 b	0.56	1.00	0.78
15	4.1	4.3	4.2 a	0.59	1.02	0.81
20	3.1	2.4	2.7 c	0.60	0.79	0.69
เฉลี่ย	2.9	2.7		0.62 B ^{1/}	1.00 A	
CV (%)	34.7			43.3		

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในระดับเดียวกัน (a, b, c,...; A, B) แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test

ตารางที่ 8 จำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยหมูลังบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนข้อของยอดหลัก ^{1/}		เฉลี่ย
	- AgNO_3	+ AgNO_3	
0	2.8 ef	3.2 d	3.0 z
5	2.7 f	4.6 b	3.6 y
10	3.0 def	4.9 ab	4.0 x
15	3.1 de	5.2 a	4.2 x
20	2.7 f	3.9 c	3.3 yz
เฉลี่ย	2.8 B	4.4 A	
CV (%)	32.7		

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในระดับเดียวกัน (a, b, c,...; x, y, z; A, B) แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test



ภาพที่ 4 ลักษณะยอดของกล้วยหมูสั้ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO₃ ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+AgNO₃) และไม่เติม (-AgNO₃) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

3.2 พืพวนน้อย

จากการศึกษาในกล้วยไ้พอน และกล้วยพมูถ้ง พบว่า การเติม AgNO_3 สามารถลดการหลุดร่วงของใบได้แตกต่างจากการไม่เติมอย่างเห็นได้ชัด โดยการเติมและไม่เติม AgNO_3 ไม่มีปฏิสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ BA ดังนั้น ในพืพวนน้อยจึงทำการทดลองเฉพาะการเติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA 5 ระดับความเข้มข้น

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของพืพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนยอด โดย BA ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ทำให้ชิ้นส่วนข้อมีการแตกยอดเพิ่มขึ้นได้ มีจำนวนยอด 1.8 และ 2.1 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 9 ตารางผนวกที่ 8) แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA และที่เติม BA ความเข้มข้น 5 และ 20 ไมโครโมลาร์ ในส่วนของความยาวยอด พบว่า การเติม BA ทำให้ยอดมีความยาวลดลงในทุกความเข้มข้นของ BA ขณะที่การไม่เติม BA ทำให้ยอดมีความยาวสูงสุด 0.64 เซนติเมตร (ตารางที่ 9 ตารางผนวกที่ 9) สำหรับจำนวนข้อของยอดหลัก พบว่า ความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนข้อของยอดหลัก โดย BA ที่ระดับความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ยอดหลักมีจำนวนข้อลดลง และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 10 ไมโครโมลาร์ มีแนวโน้มทำให้ยอดหลักเกิดข้อจำนวนมากที่สุด มีจำนวนข้อ 2.4 ข้อ (ตารางที่ 9 ตารางผนวกที่ 10)

ในการทดลองครั้งนี้แม้ว่าจะไม่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของการเติมและไม่เติม AgNO_3 แต่จากการศึกษาเบื้องต้น โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของพืพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม AgNO_3 พบว่า ยอดที่เกิดขึ้นมีการหลุดร่วงของใบ (ภาพที่ 5) แตกต่างจากยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารที่เติม BA ร่วมกับการเติม AgNO_3 อย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 6) แสดงให้เห็นว่าการเติม AgNO_3 มีผลป้องกันการหลุดร่วงของใบพืพวนน้อยได้

ในการศึกษาผลของ BA ต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของพืพวนน้อยเกิดยอดจำนวนมาก ร่วมกับการเติม AgNO_3 เพื่อลดการหลุดร่วงของใบในครั้งนี้ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่ได้ต่อไปอีกระยะหนึ่งหรือตัดยอดไปเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำราก ยอดมักเปลี่ยนเป็นสีดำ โดยเริ่มเกิดสีดำจากบริเวณใกล้ปลายยอด จนกระทั่งยอดเปลี่ยนเป็นสีดำ และตายในที่สุด (ภาพที่ 7)

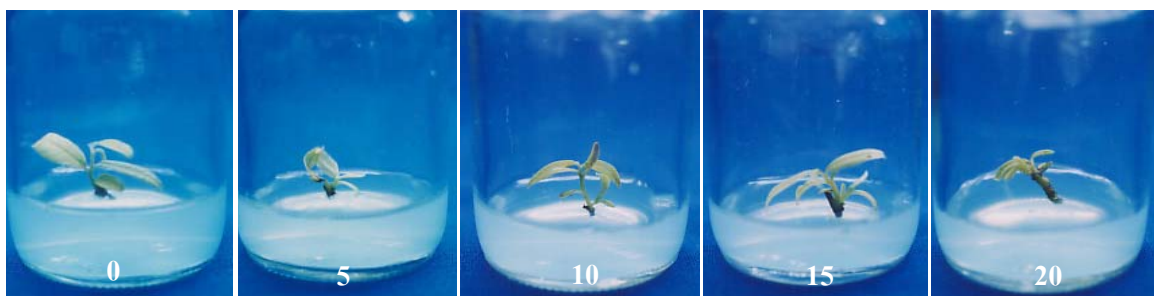
ตารางที่ 9 จำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของฟิพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนข้อของ ยอดหลัก
0	1.0 b ^{1/}	0.64 a ^{1/}	2.4 a ^{1/}
5	1.3 b	0.38 b	1.9 ab
10	1.8 a	0.45 b	2.4 a
15	2.1 a	0.37 b	2.2 ab
20	1.3 b	0.34 b	1.8 b
เฉลี่ย	1.5	0.44	2.1
CV (%)	41.1	51.2	40.2

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test



ภาพที่ 5 ลักษณะยอดของพีพวนน้อยที่มีการหลุดร่วงของใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์



ภาพที่ 6 ลักษณะยอดของพีพวนน้อย เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์



ภาพที่ 7 ลักษณะการเกิดสีดำ เมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่ได้จากการชักนำต่อไปอีกระยะหนึ่ง โดยเริ่มเกิดสีดำจากบริเวณใกล้ปลายยอด (ศรชี้) จนกระทั่งยอดเปลี่ยนเป็นสีดำ และตายในที่สุด

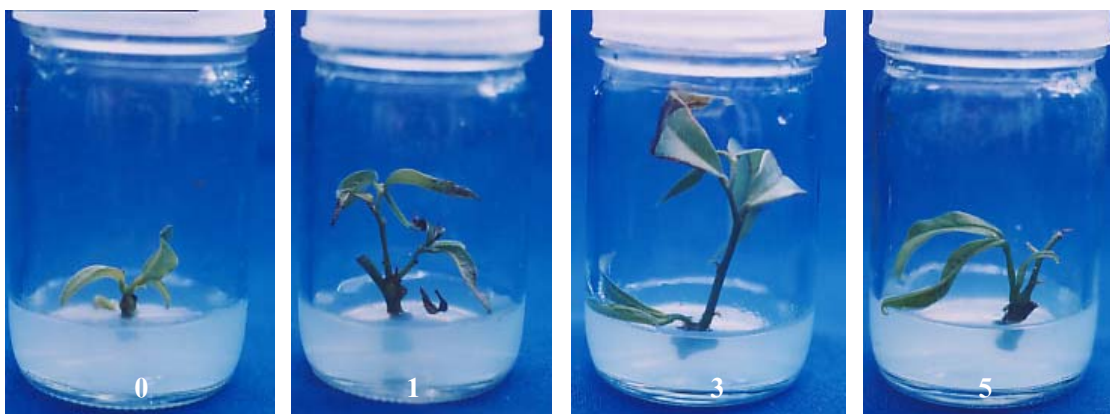
4. การศึกษาผลของ GA₃ ต่อการยืดยาวของยอด

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO₃ ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ และเติม GA₃ ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของ GA₃ มีผลต่อความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก โดย GA₃ ที่ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดมีความยาวสูงสุด 1.37 เซนติเมตร และยอดหลักมีจำนวนข้อมากที่สุด 4.3 ข้อ ยอดที่ไม่ได้รับ GA₃ มีความยาวต่ำสุด 0.58 เซนติเมตร และยอดหลักมีจำนวนข้อน้อยที่สุด 2.7 ข้อ (ตารางที่ 10 ตารางผนวกที่ 11 และ 12) ยอดที่ได้รับ GA₃ มีความยาวและจำนวนข้อของยอดหลักมากกว่ายอดที่ไม่ได้รับ GA₃ อย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 8)

ตารางที่ 10 ความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO₃ ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ และเติม GA₃ ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ GA ₃ (ไมโครโมลาร์)	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนข้อของ ยอดหลัก
0	0.58 d ^{1/}	2.7 c ^{1/}
1	0.88 c	3.4 b
3	1.37 a	4.3 a
5	1.11 b	3.8 ab
เฉลี่ย	0.98	3.5
CV (%)	46.8	29.6

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test



ภาพที่ 8 ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอน เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ และเติม GA_3 ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

5. การศึกษาผลของ TDZ ในการชักนำให้ขึ้นส่วนข้อเกิดยอด

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ พบว่า TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 5-20 ไมโครโมลาร์ ทำให้ชิ้นส่วนข้อมีการแตกยอดเพิ่มขึ้นแตกต่างจากชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม TDZ โดย TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดยอดได้สูงสุด 2.6 ยอด (ตารางที่ 11 ตารางผนวกที่ 13)

ในส่วนของความยาวยอด พบว่า TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดมีความยาวไม่แตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้น 5-15 ไมโครโมลาร์ แต่แตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 11 ตารางผนวกที่ 14) โดย TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 10 ไมโครโมลาร์ มีแนวโน้มทำให้ความยาวยอดสูงสุด ยอดมีความยาว 0.84 เซนติเมตร และเมื่อความเข้มข้นของ TDZ สูง 20 ไมโครโมลาร์ ความยาวยอดมีแนวโน้มลดลง

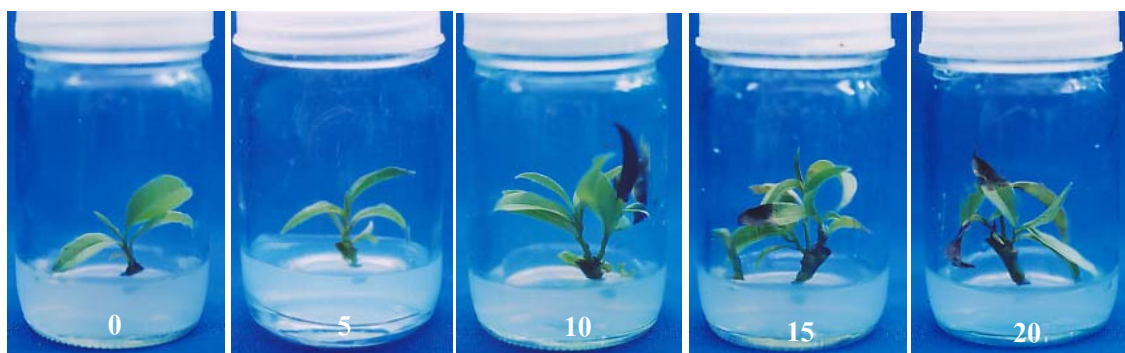
สำหรับจำนวนข้อของยอดหลัก พบว่า ความเข้มข้นของ TDZ ที่แตกต่างกันมีผลทำให้จำนวนข้อของยอดหลักแตกต่างกัน โดย TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดหลักเกิดข้อจำนวนมากที่สุด 4.1 ข้อ (ตารางที่ 11 ตารางผนวกที่ 15)

ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอนที่ได้จากการชักนำด้วย TDZ (ภาพที่ 9) มีความยาวยอดและจำนวนข้อของยอดหลักมากกว่ายอดที่ได้จากการชักนำด้วย BA (ภาพที่ 3) มีการเกิดข้อค่อนข้างถี่ และสังเกตพบว่าที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ มักเกิดสีดำที่บริเวณปลายใบ

ตารางที่ 11 จำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ TDZ (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนข้อของ ยอดหลัก
0	1.0 c ^{1/}	0.84 a ^{1/}	2.7 c ^{1/}
5	1.8 b	0.76 ab	3.5 b
10	2.1 b	0.84 a	4.1 a
15	2.6 a	0.68 ab	3.7 ab
20	1.8 b	0.55 b	2.8 c
เฉลี่ย	1.9	0.73	3.4
CV (%)	36.8	56.8	36.6

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test



ภาพที่ 9 ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอน เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

6. การศึกษาผลของ IBA และ NAA ในการชักนำให้ยอดเกิดราก

6.1 ทดลองในสภาพปลอดเชื้อ

การชักนำให้ยอดของกล้วยไ้พอนและกล้วยหมุ้สั้เกิดรากด้วยวิธีการต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อ ยังไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ โดยภายหลังการชักนำรากด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ นาน 4 สัปดาห์ ไม่พบการเกิดราก แม้ว่าจะเพาะเลี้ยงต่อไปจนครบ 8 สัปดาห์ ก็ไม่พบการเกิดราก และพบว่าชิ้นส่วนยอดบางส่วนเริ่มเกิดสีด้าและตายในที่สุด

6.2 ทดลองในสภาพธรรมชาติ

การชักนำให้ยอดกล้วยไ้พอนเกิดรากที่ทดลองในสภาพธรรมชาติ พบว่าหลังจากนำยอดกล้วยไ้พอนจุ่มโคนยอดในสารละลายออกซิน ได้แก่ IBA และ NAA ความเข้มข้น 2,500-10,000 ไมโครโมลาร์ นาน 1-2 นาที แล้วนำไปย้ายปลูกในวัสดุผสมแกลบเผาและขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1 : 1 รดน้ำให้ชุ่ม ให้ความชื้นสูงในระยะแรก ๆ โดยคลุมด้วยถุงพลาสติกนาน 3 สัปดาห์ จากนั้นจึงค่อย ๆ เปิดปากถุงออก หลังย้ายปลูกนาน 35 วัน พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตสูง 60-100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12 ภาพที่ 10ก) และพบว่ามีเฉพาะ IBA ความเข้มข้น 8,000 ไมโครโมลาร์ เท่านั้นที่สามารถชักนำให้ยอดของกล้วยไ้พอนเกิดรากได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 20 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนราก 1 ราก ความยาว 1.4 เซนติเมตร (ตารางที่ 12 ภาพที่ 10ข) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเวลาการย้ายปลูกนานขึ้นยอดมีแนวโน้มเกิดรากได้เพิ่มขึ้น โดยหลังย้ายปลูกนาน 60 วัน พบการเกิดรากจากยอดที่กระตุ้นด้วย NAA ความเข้มข้น 8,000 ไมโครโมลาร์ และ IBA ความเข้มข้น 10,000 ไมโครโมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 20 เปอร์เซ็นต์และจำนวนราก 1 รากเท่ากัน รากมีความยาว 0.2 และ 0.6 เซนติเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเกิดราก จำนวนรากและความยาวรากของกล้วยไ้พอนเมื่อครบ 35 วันหลังย้ายปลูกและกระตุ้นให้เกิดรากในสภาพธรรมชาติ

ชนิดของ ออกซิน	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ระยะเวลา การแช่ (นาทึ)	การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	การเกิดราก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนราก	ความยาวราก (เซนติเมตร)
IBA	2,500	1	80	-	-	-
	5,000	1	80	-	-	-
	5,000	2	80	-	-	-
	8,000	2	100	20	1	1.4
	10,000	2	60	- ^{1/}	-	-
NAA	2,500	1	100	-	-	-
	5,000	1	80	-	-	-
	5,000	2	60	-	-	-
	8,000	2	100	- ^{1/}	-	-
	10,000	2	80	-	-	-

หมายเหตุ - หมายถึงไม่มีการเกิดรากเมื่อครบ 35 วัน

^{1/} เกิดรากเมื่อครบ 60 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 20 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 10 การชักนำให้ยอดกล้วยไ้พอนเกิดรากในสภาพธรรมชาติ

ก. ยอดกล้วยไ้พอนเมื่อครบ 35 วันหลังย้ายปลูกและกระตุ้นให้เกิดราก

ข. ยอดกล้วยไ้พอนสามารถเกิดรากได้ เมื่อจุ่มโคนยอดในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 8,000 ไมโครโมลาร์ นาน 2 นาทีก่อนย้ายปลูก

7. การศึกษาการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของชิ้นส่วนใบเมื่อกระตุ้นด้วย BA ร่วมกับ NAA

7.1 กล้วยไฉ้พอน

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกล้วยไฉ้พอนบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.50 และ 2.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 1-12 ตามตารางที่ 13) พบว่า ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 5-12 เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยลักษณะการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานที่เกิดขึ้นคือเกิดเป็นแคลลัส อาหารสูตรที่ 11 มีจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนการเกิดแคลลัส 2.0 คะแนน และอาหารสูตรที่ 10 มีจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสรองลงมา คือ 90 เปอร์เซ็นต์ แต่มีคะแนนการเกิดแคลลัสสูงสุด 2.4 คะแนน ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตรมีการปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร 100 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 6 7 และ 11 มีจำนวนชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชิ้นสูงสุด 40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 13 ภาพที่ 11)

ลักษณะแคลลัสที่เกิดบนชิ้นส่วนใบของกล้วยไฉ้พอนมักเป็นชนิด friable callus ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 8 จะเกิดแคลลัสชนิด compact callus รวมอยู่ด้วย นอกจากนี้แคลลัสที่เกิดขึ้นในอาหารสูตรที่ 7 10 และ 12 จะมีลักษณะน้ำ (vitrification) เล็กน้อย (ตารางที่ 13)

7.2 พืพวนน้อย

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืพวนน้อยบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 1-12 ตามตารางที่ 14) พบว่า ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตรเกิดการเปลี่ยนแปลง อาหารสูตรที่ 4 10 และ 11 มีจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ โดยสูตรที่ 11 มีคะแนนการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงสูงสุด 2.6 คะแนน และพบว่า ลักษณะการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานที่เกิดขึ้นของชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 1 5 และ 9 คือ เกิดแคลลัสชนิด friable callus สีขาว ส่วนชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ เกิดโครงสร้างที่เป็นรูปกลม (nodule) บนแผ่นใบ 100 เปอร์เซ็นต์ การเพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตร ชิ้นส่วนใบมีการปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร 100 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 3 5 8 และ 9 มี

จำนวนการเปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชั้นสูงสุด 60 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 14 และ 15 ภาพที่ 12)

จากการติดตามการพัฒนาของ nodule พบว่า โครงสร้างที่เกิดขึ้นบนแผ่นใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA เพียงอย่างเดียว (อาหารสูตรที่ 2-4) มีแนวโน้มเกิดการพัฒนายอดได้สูง มีการขยายขนาด และยืดยาวขึ้นมากกว่าในอาหารสูตรอื่น ๆ แม้ว่าจำนวนโครงสร้างที่เกิดขึ้นน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA (ภาพที่ 12) และสามารถพบโครงสร้างขั้นที่ 2 (secondary structure) ซึ่งมีลักษณะคล้ายโซมาติกเอ็มบริโอ (somatic embryo like structure) ระยะ globular เกิดอยู่บน nodule (ภาพที่ 13) นอกจากนี้ยังพบว่า nodule ที่เกิดบนแผ่นใบสามารถพัฒนาต่อจนเกิดเป็นยอดได้ เมื่อย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ (ภาพที่ 14) ในระยะแรก nodule ที่เห็นมีลักษณะคล้ายโซมาติกเอ็มบริโอ ระยะ globular คือมีลักษณะกลม เกือบ ผิวมีความวาว และเปลี่ยนแปลงไปเป็นลักษณะคล้ายรูปหัวใจ แต่เมื่อติดตามดูการพัฒนาการจนกระทั่งขึ้นส่วนพัฒนาเป็นยอด พบว่า โครงสร้างดังกล่าวไม่ใช่โซมาติกเอ็มบริโอ เนื่องจากมีการพัฒนาเป็นยอดจากส่วนที่คล้าย cotyledon ทั้ง 2 ด้านของโครงสร้างรูปหัวใจนั้น (ภาพที่ 14)

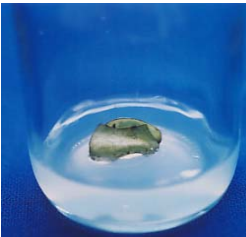
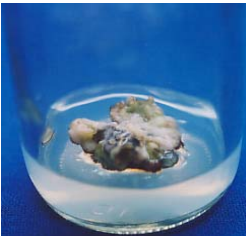
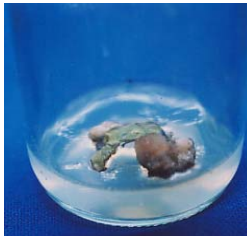
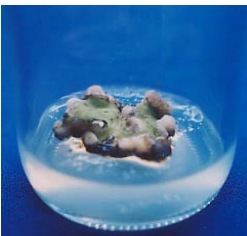
จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนใบที่พบน้อย โดยนำมาศึกษาลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) (ภาพที่ 15 และ 16) และศึกษาจากสไลด์ถาวรที่ทำด้วยวิธี paraffin technique ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเชิงประกอบ (compound microscope) (ภาพที่ 17 และ 18) เพื่อตรวจสอบการพัฒนาของโครงสร้างดังกล่าว พบว่า โครงสร้างที่เกิดขึ้นมี 2 ลักษณะ คือ nodule ที่มีการพัฒนาต่อไปเป็นยอดเพียงอย่างเดียวเนื่องจากพบการพัฒนาของท่อลำเลียงภายในโครงสร้างเชื่อมต่อกับท่อลำเลียงของชิ้นส่วนใบ ซึ่งเกิดโดยตรงจากชิ้นส่วนใบจัดเป็น direct organogenesis มักพบว่าเกิดการพัฒนาจากเนื้อเยื่อบริเวณใกล้ท่อลำเลียง (ภาพที่ 17) ซึ่งพบได้มากกว่าลักษณะที่ 2 คือ โซมาติกเอ็มบริโอที่เกิดโดยตรงจากชิ้นส่วนใบ (direct embryogenesis) เนื่องจากมีการเจริญของปมกำเนิดราก และมีท่อลำเลียงภายในโครงสร้างแยกจากชิ้นส่วนใบที่นำมาเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 18) มักพบว่าเกิดจากเนื้อเยื่อชั้นอีพิเดอร์มิสและชั้นไดอูเดอร์มิส โดยสามารถพบโครงสร้างทั้งสองแบบเกิดร่วมกันบนชิ้นส่วนใบชิ้นเดียวกัน

ตารางที่ 13 จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลง และคะแนนการเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน จำนวนชิ้นส่วนที่ปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร และจำนวนชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชิ้น เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.50 และ 2.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ นาน 8 สัปดาห์

สูตรที่	NAA (ไมโครโมลาร์)	BA	จำนวนชิ้นส่วน ที่เกิดการ เปลี่ยนแปลง ^{1/} (เปอร์เซ็นต์)	คะแนนการ เกิดการ เปลี่ยนแปลง	ลักษณะ ^{2/}	จำนวนชิ้นส่วน ที่ปล่อย phenolic compounds (เปอร์เซ็นต์)	จำนวน ชิ้นส่วนที่ เปลี่ยนเป็น สีดำ (เปอร์เซ็นต์)
1	0	0	0	0.0	-	100	0
2		10	0	0.0	-	100	0
3		20	0	0.0	-	100	0
4		30	0	0.0	-	100	0
5	0.50	0	10	0.1	f	100	0
6		10	60	0.9	f	100	40
7		20	60	0.9	f, v	100	40
8		30	50	1.0	f, c	100	20
9	2.50	0	10	0.1	f	100	0
10		10	90	2.4	f, v	100	30
11		20	100	2.0	f	100	40
12		30	60	1.3	f, v	100	20
เฉลี่ย			36.7	0.7		100.0	15.8

หมายเหตุ ^{1/} การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานที่เกิดขึ้นคือเกิดเป็นแคลลัสเพียงอย่างเดียว

^{2/} f = friable callus c = compact callus v = vitrification

NAA (μ M)	BA (μ M)				
		0	10	20	30
0					
		สูตรที่ 1	2	3	4
0.50					
		สูตรที่ 5	6	7	8
2.50					
		สูตรที่ 9	10	11	12

ภาพที่ 11 การเกิดแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.50 และ 2.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ (รวม 12 สูตร) นาน 8 สัปดาห์

ตารางที่ 14 จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลง และคะแนนการเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน จำนวนชิ้นส่วนที่เกิด nodule จำนวนชิ้นส่วนที่ปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร และจำนวนชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชิ้น เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืชบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์นาน 8 สัปดาห์

สูตรที่	NAA (ไมโครโมลาร์)	BA	จำนวนชิ้นส่วน ที่เกิดการ เปลี่ยนแปลง ^{1/} (เปอร์เซ็นต์)	คะแนนการ เกิดการ เปลี่ยนแปลง	จำนวน ชิ้นส่วนที่ เกิด nodule ^{2/} (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนชิ้นส่วน ที่ปล่อย phenolic compounds (เปอร์เซ็นต์)	จำนวน ชิ้นส่วนที่ เปลี่ยนเป็น สีดำ (เปอร์เซ็นต์)
1	0	0	40	0.4	0	100	40
2		10	40	0.6	100	100	40
3		20	60	1.0	100	100	60
4		30	100	1.6	100	100	40
5	0.25	0	20	0.2	0	100	60
6		10	80	1.4	100	100	40
7		20	60	1.0	100	100	40
8		30	60	0.8	100	100	60
9	0.50	0	20	0.2	0	100	60
10		10	100	2.2	100	100	40
11		20	100	2.6	100	100	40
12		30	80	1.6	100	100	40
เฉลี่ย			63.3	11.3	75.0	100.0	46.7

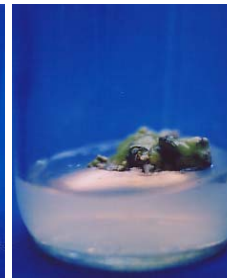
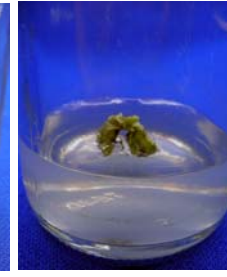
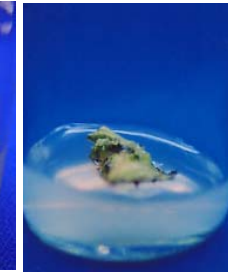
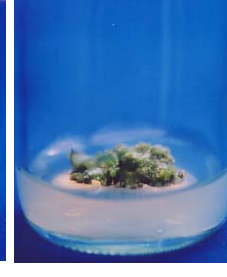
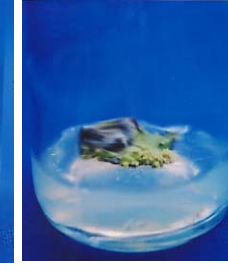
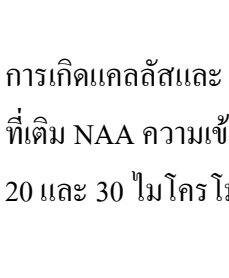
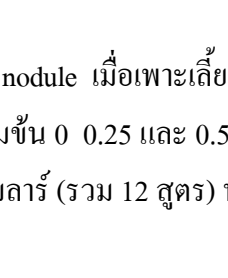
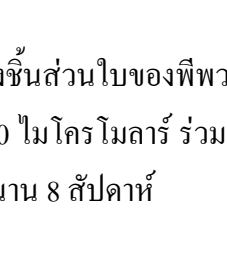
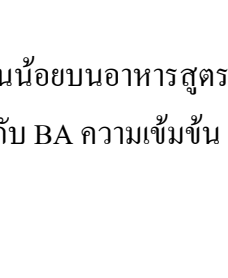
หมายเหตุ ^{1/} การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานที่เกิดขึ้นคือเกิดเป็นแคลลัส และ nodul

^{2/} nodule ที่เกิดขึ้นอาจพัฒนาเกิดเป็นยอดโดยตรง หรือเป็น โซมาติกอีมบริโอ ระยะ globular

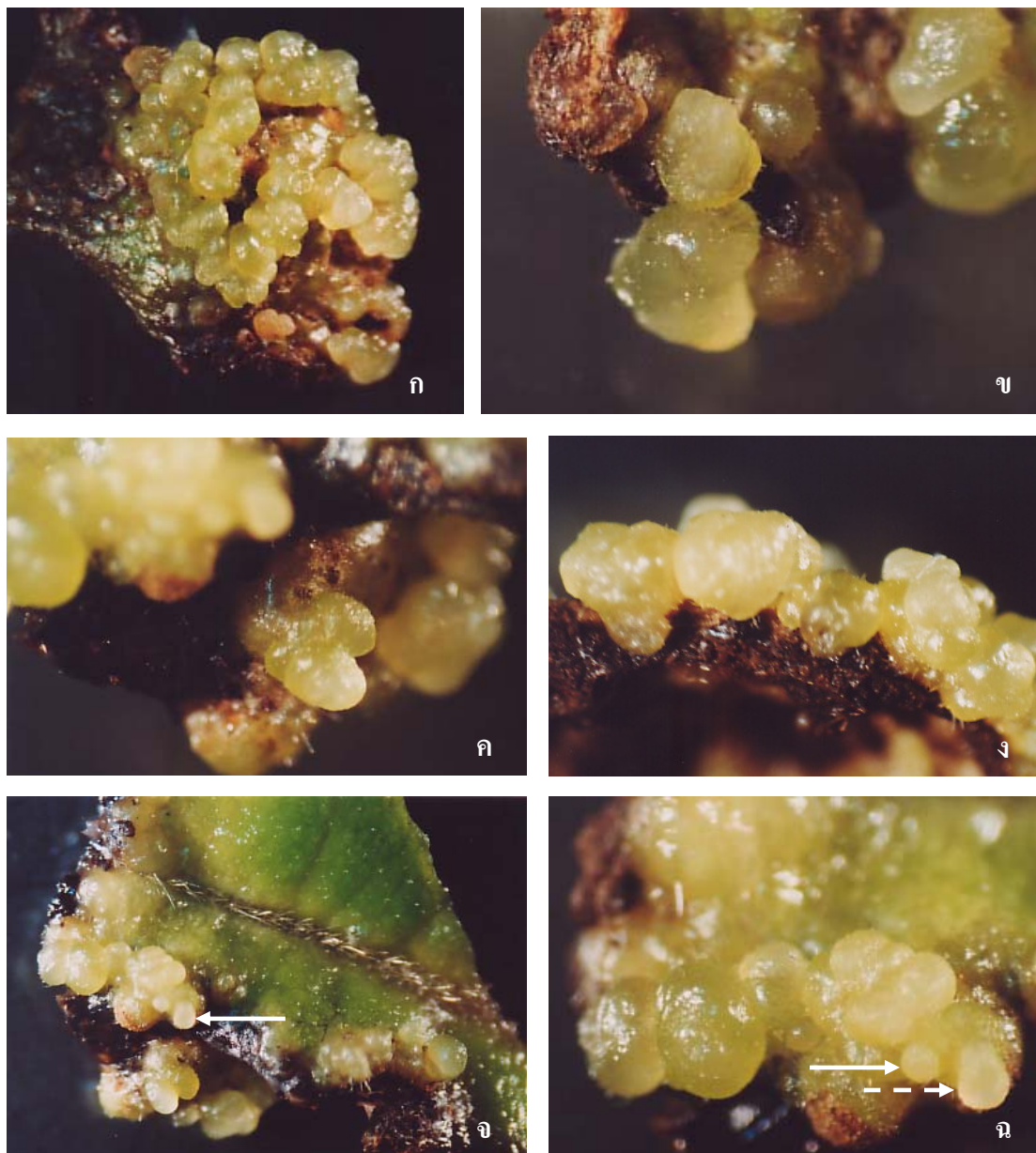
ตารางที่ 15 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนแผ่นใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ นาน 8 สัปดาห์

สูตรที่	NAA (ไมโครโมลาร์)	BA (ไมโครโมลาร์)	ลักษณะ
1	0	0	friable callus สีขาว มักเกิดที่เส้นกลางใบ บริเวณรอยตัด
2		10	เกิด nodule ประมาณ 1-10 อัน
3		20	เกิด nodule ประมาณ 10-15 อัน บางส่วนมีการขยายขนาดและยืดยาวขึ้นเล็กน้อย
4		30	เกิด nodule ประมาณ 25-30 อัน บางส่วนมีการขยายขนาดและยืดยาวขึ้นเล็กน้อย
5	0.25	0	friable callus สีขาว มักเกิดที่เส้นกลางใบ บริเวณรอยตัด
6		10	เกิด nodule ประมาณ 10-15 อัน
7		20	เกิด nodule ประมาณ 15-20 อัน
8		30	เกิด nodule ประมาณ 25-35 อัน
9	0.50	0	friable callus สีขาว มักเกิดที่เส้นกลางใบบริเวณรอยตัด
10		10	เกิด nodule ประมาณ 50-70 อัน
11		20	เกิด nodule ประมาณ 50-100 อัน
12		30	เกิด nodule ประมาณ 50 อัน

หมายเหตุ nodule ที่เกิดขึ้นอาจพัฒนาเกิดเป็นยอดโดยตรง หรือเป็น โซมาติกเอ็มบริโอ ระยะ globular

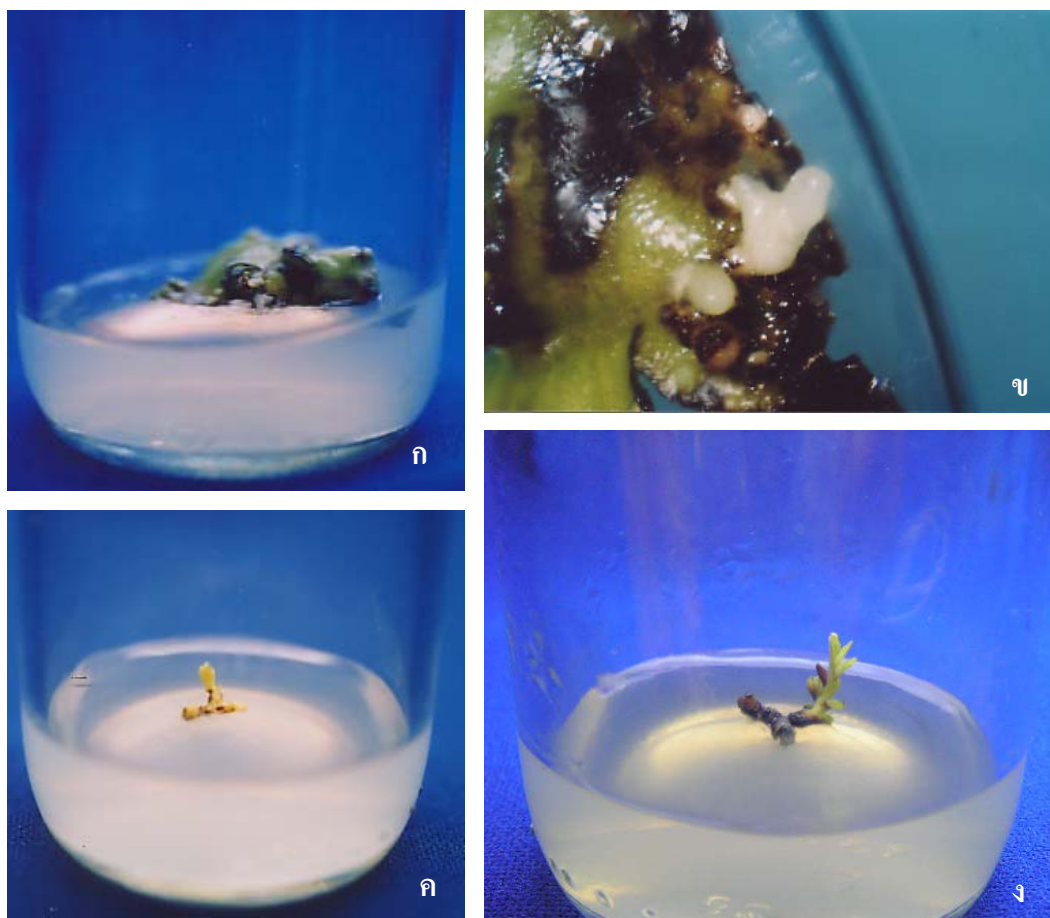
NAA (μ M)	BA (μ M)				
		0	10	20	30
0					
		สูตรที่ 1	2	3	4
					
		สูตรที่ 5	6	7	8
0.25					
		สูตรที่ 9	10	11	12
					
		สูตรที่ 13	14	15	16
0.50					
		สูตรที่ 17	18	19	20
		สูตรที่ 21	22	23	24

ภาพที่ 12 การเกิดแคลลัสและ nodule เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืชบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ (รวม 12 สูตร) นาน 8 สัปดาห์



ภาพที่ 13 ลักษณะของ nodule ที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืชบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 4) นาน 8 สัปดาห์

- ก.-ง. ลักษณะของ nodule ที่เกิดขึ้นที่อาจพัฒนาเป็นยอด หรือเป็นไซมาติกเอ็มบริโอ, ภาพ ก. กำลังขยาย $\times 0.8$, ภาพ ข.-ง. กำลังขยาย $\times 2.5$
- จ. โครงสร้างชั้นที่ 2 (secondary structure) ที่เกิดอยู่บน nodule (สรชี้)
- ฉ. ขยายภาพ จ. แสดงโครงสร้างชั้นที่ 2 ที่มีลักษณะคล้ายไซมาติกเอ็มบริโอระยะ globular ($\longrightarrow$) และ late globular ($- \longrightarrow$), ภาพ จ. กำลังขยาย $\times 1.2$, ภาพ ฉ. กำลังขยาย $\times 1.5$

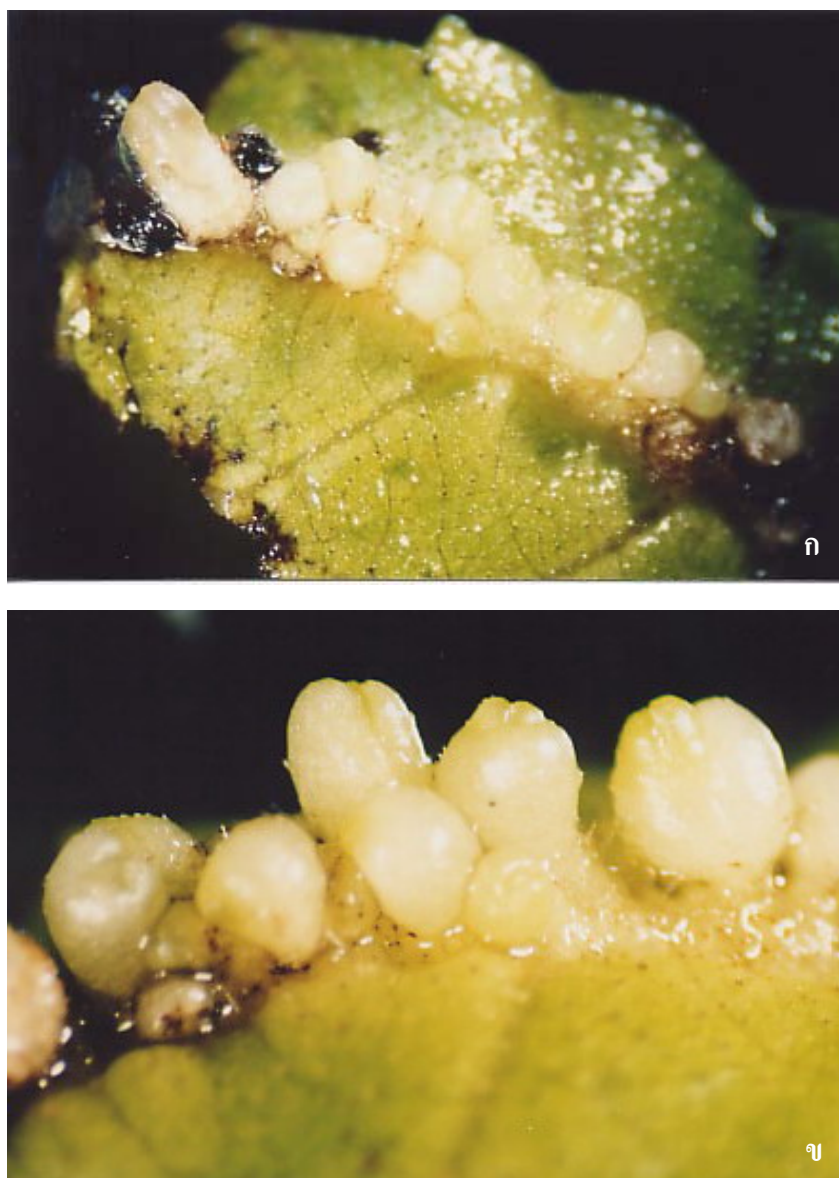


ภาพที่ 14 การพัฒนาของ nodule เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืชบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 3) นาน 8 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ก.-ข. ระยะเวลา 2 สัปดาห์ nodule มีการพัฒนาจนมีลักษณะคล้ายรูปหัวใจ, ภาพ ข. ขยาย

ภาพ ก. เฉพาะส่วนโครงสร้างคล้ายรูปหัวใจ, กำลังขยาย $\times 0.67$

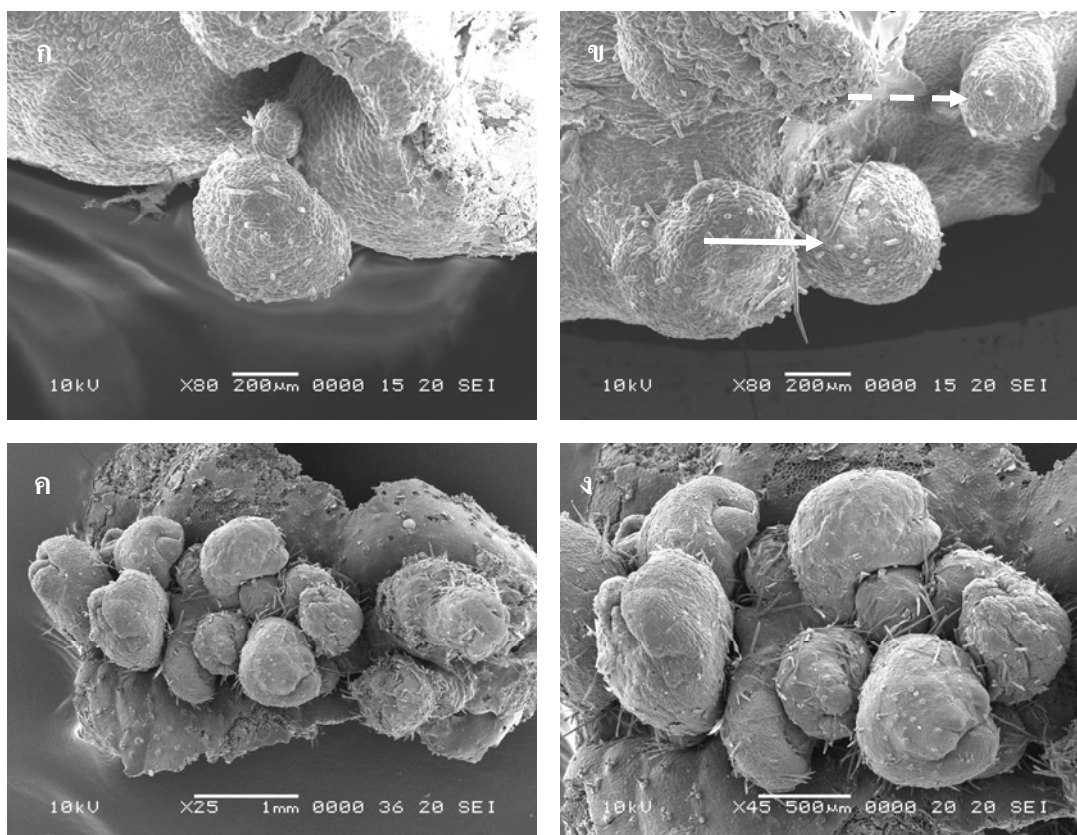
ค.-ง. ระยะเวลา 8 (ค.) และ 12 (ง.) สัปดาห์ nodule พัฒนาเป็นยอดขนาดเล็ก



ภาพที่ 15 การพัฒนาของ nodule ที่เกิดบนแผ่นใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพืชบนอาหาร
สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน 12 สัปดาห์

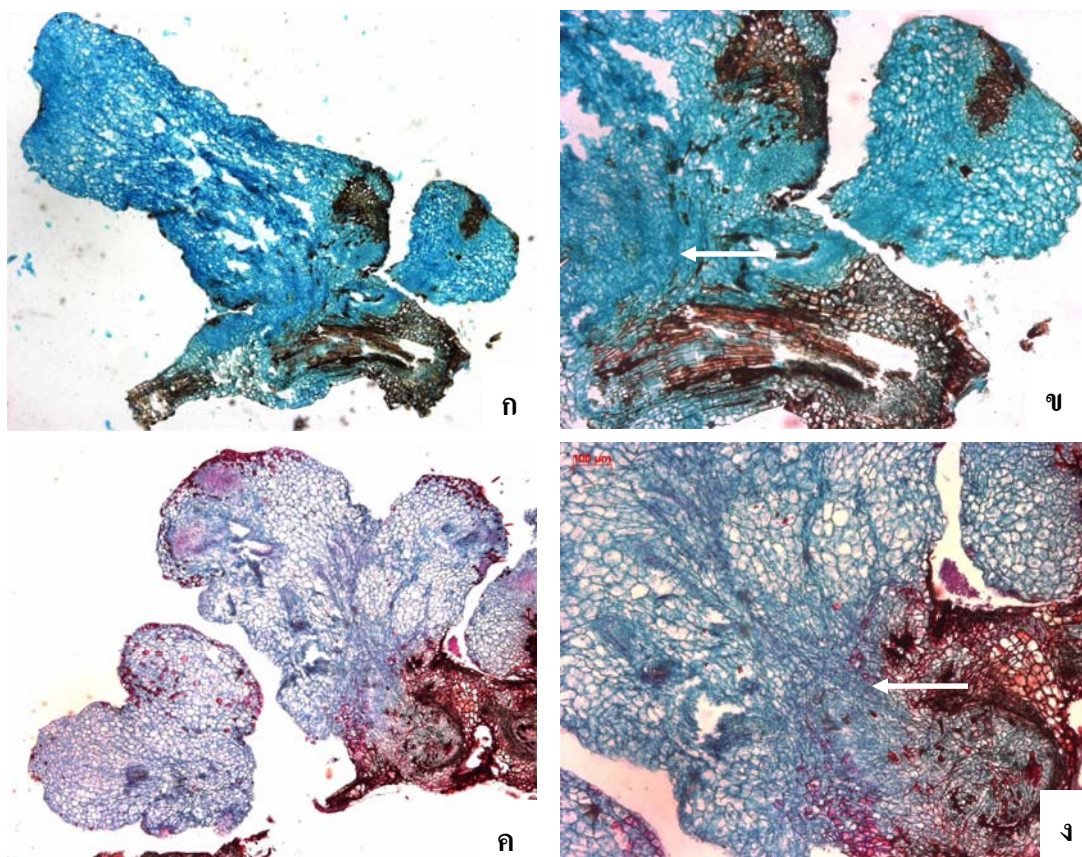
ก. ลักษณะการพัฒนาของ nodule ที่เกิดบนแผ่นใบ, กำลังขยาย $\times 0.67$

ข. ขยายภาพ ก, กำลังขยาย $\times 1.9$



ภาพที่ 16 การพัฒนาของ nodule ที่เกิดบนแผ่นใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพืชบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน 12 สัปดาห์ ถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

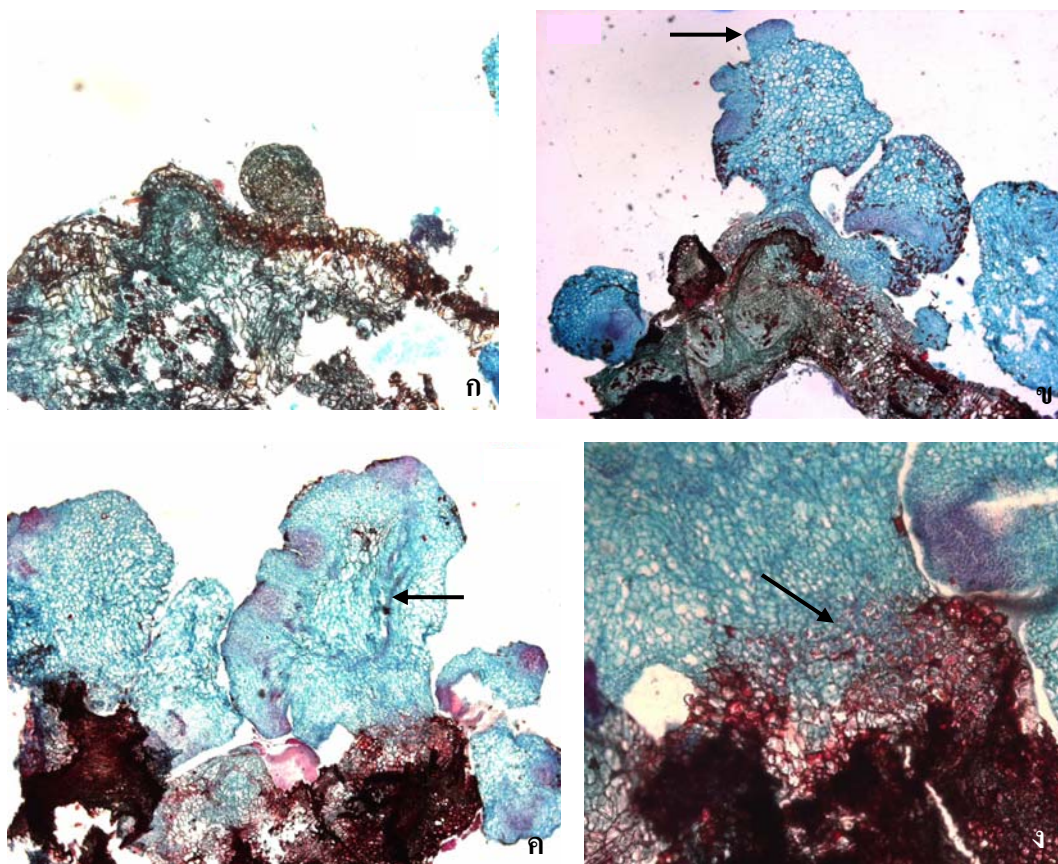
- ก. โชมatickเอ็มบริโอ ระยะ globular stage
- ข. โชมatickเอ็มบริโอ ระยะ globular stage (—→) และ nodule (- - →)
- ค.-ง. ลักษณะการพัฒนาของโครงสร้างรูปกลมที่เกิดบนแผ่นใบ



ภาพที่ 17 กระบวนการเกิดอวัยวะโดยตรงจากชิ้นส่วนใบ (direct organogenesis) เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพืชน้ำบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน 8 สัปดาห์ ตัดชิ้นส่วนตามขวางแสดงโครงสร้างภายในได้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเชิงประกอบ

ก. และ ค. ยอดขนาดเล็กที่พัฒนาจาก nodule มีท่อลำเลียงเชื่อมต่อกับท่อลำเลียงของชิ้นส่วนใบ, กำลังขยาย $\times 5$

ข. และ ง. ขยายภาพ ก. และ ค. แสดงให้เห็นการเชื่อมต่อของท่อลำเลียงของยอดที่พัฒนาจาก nodule กับของชิ้นส่วนใบ (ศรีชัย), กำลังขยาย $\times 10$



ภาพที่ 18 กระบวนการเกิดไซมาติกเอมบริโอ (embryogenesis) เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพิพวน
 น้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน
 8 สัปดาห์ ตัดชิ้นส่วนตามขวางแสดงโครงสร้างภายในได้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเชิงประกอบ

- ก. ไซมาติกเอมบริโอระยะ globular ที่เกิดจากเซลล์ชั้นอพิเคอร์มิส, กำลังขยาย $\times 10$
- ข. ไซมาติกเอมบริโอขั้นที่ 2 (secondary somatic embryogenesis) (สรชี) เกิดบนไซมาติก
 เอมบริโอขั้นที่ 1 (primary somatic embryogenesis), กำลังขยาย $\times 5$
- ค. ไซมาติกเอมบริโอที่มีการพัฒนาของท่อลำเลียงแล้ว (สรชี), กำลังขยาย $\times 5$
- ง. ขยายภาพ ค. แสดงปุ่มกำเนิดราก (root primordia) ของไซมาติกเอมบริโอ (สรชี),
 กำลังขยาย $\times 10$

วิจารณ์

1. การศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บชิ้นส่วนข้อมาฟอกมาเชื้อ

การฟอกมาเชื้อชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน กล้วยหมู้ง และพิพนน้อย ในเบื้องต้นได้ศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลายคลอโรกซ์ และระยะเวลาในการฟอกมาเชื้อที่ทำให้ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำ และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง คือ ฟอกด้วยสารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 นาน 10 นาที และฟอกซ้ำอีกครั้งด้วยสารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10-15 นาที การฟอกมาเชื้อชิ้นส่วนของพืชทั้ง 3 ชนิดนี้ การทำความสะอาดชิ้นส่วนก่อนที่จะนำมาฟอกมาเชื้อเป็นขั้นตอนที่สำคัญมาก เนื่องจากกิ่งอ่อนจะมีขนอ่อนนุ่มปกคลุม บอบบาง ช้ำง่าย โดยเฉพาะกล้วยหมู้ง และพิพนน้อย วิธีทำความสะอาดที่เหมาะสม คือ การใช้ฟู่กันทำความสะอาดตามซอกตาเบา ๆ ด้วยความระมัดระวัง

การฟอกมาเชื้อชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน กล้วยหมู้ง และพิพนน้อยที่เก็บในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน พบว่า ชิ้นส่วนของพืชทั้ง 3 ชนิดที่เก็บในฤดูร้อนมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ต่ำสุด และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด รองลงมาคือชิ้นส่วนข้อที่เก็บในฤดูหนาว และชิ้นส่วนข้อที่เก็บในฤดูฝนมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุด และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุด เช่นเดียวกับการศึกษาในส้มโอ (*Citrus maxima*) (สุริย์พร, 2534) และประยงค์ (*Aglaia odorata*) (วินิจ, 2546) ที่พบว่า การฟอกมาเชื้อชิ้นส่วนข้อที่เก็บในช่วงฤดูฝนมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 100 เปอร์เซ็นต์ในส้มโอ และ 93.3 เปอร์เซ็นต์ในประยงค์ แต่ในช่วงฤดูร้อนและฤดูหนาวเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจะลดลงเหลือ 60 เปอร์เซ็นต์ในส้มโอ และ 23.3-30 เปอร์เซ็นต์ในประยงค์ และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงขึ้น เนื่องจากประเทศไทยมีภูมิอากาศร้อนชื้น ซึ่งเหมาะกับการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้การนำชิ้นส่วนที่เก็บในฤดูฝนมาฟอกมาเชื้อ มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูง (สุพินญา, 2540; รังสฤษฎ์, 2541; วินิจ, 2546) ในขณะที่ในฤดูร้อนและหนาวอากาศแห้งเชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ไม่ดีเท่าในฤดูฝนจึงมีการปนเปื้อนต่ำกว่า และพบว่าในฤดูร้อนยอดที่เก็บมาฟอกมาเชื้อเป็นยอดที่ผลิใหม่ แต่ยอดที่เก็บได้ในฤดูหนาวเป็นยอดที่เจริญผ่านช่วงฤดูฝนมาแล้ว จึงมีโอกาสมะสมเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่ายอดที่ผลิใหม่ในฤดูร้อน อีกทั้งบริเวณตายอด ดาข้าง และกิ่งอ่อนของพืชทั้ง 3 ชนิดในการศึกษาครั้งนี้มีขนปกคลุมจึงยากแก่การทำความสะอาดและทำให้ปลอดเชื้อ นอกจากนี้พืชวงศ์ Annonaceae ยังมีการปนเปื้อนอันเนื่องมาจาก

เชื้อจุลินทรีย์ภายในท่อลำเลียงเอง (George and Nissen, 1987; Rasai *et al.*, 1995 a; Castro *et al.*, 1999)

2. การศึกษาผลของยาปฏิชีวนะในการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ภายในท่อลำเลียงของชิ้นส่วน

การปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ภายในชิ้นส่วนพืช ซึ่งอาศัยอยู่ภายในท่อลำเลียง (endophytic microorganisms) สังเกตได้ภายหลังการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนที่ไม่พบการปนเปื้อนไประยะหนึ่งแล้ว หรือในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณ มักแสดงอาการบริเวณรอยตัดที่สัมผัสอาหาร (Collin and Edwards, 1998; Bridg, 2000) เช่นเดียวกับการศึกษาในทุเรียนเทศ (*Annona muricata*) และน้อยหน่าออสเตรเลีย (*A. cherimola*) Bridg (2000) รายงานว่าจะพบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียทุกครั้งหลังการย้ายชิ้นส่วนลงสู่อาหารใหม่ประมาณ 3 สัปดาห์ และจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยไต้หวัน กล้วยหนุ่ย และพิพวนน้อย ทุกครั้งที่มีการตัดแต่งและย้ายลงสู่อาหารใหม่ ชิ้นส่วนมักจะมีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียบริเวณรอยตัดที่สัมผัสอาหาร การลดปัญหาที่เกิดขึ้นทำได้โดยการใชยาปฏิชีวนะเพื่อทำลายหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับชนิด ความเข้มข้น ระยะเวลาในการใช้ วิธีการใช้ และความจำเพาะในการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ (Talaro and Talaro, 1993; Wiedemann and Grimm, 1996; Bridg, 2000; Farooq, 2002) ในการศึกษาครั้งนี้เปรียบเทียบการใช้และไม่ใชยาปฏิชีวนะชนิด streptomycin, penocep (มีส่วนประกอบของ penicillin และ streptomycin), tetracycline และ rifampicin โดยวิธีการแช่ชิ้นส่วนข้อในสารละลายยาปฏิชีวนะ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรหลังการฟอกฆ่าเชื้อ พบว่า rifampicin หรือ rifampin สามารถลดการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ได้สูงสุด ซึ่งยาปฏิชีวนะชนิดนี้ตามฤทธิ์การทำลายจัดอยู่ในกลุ่มที่มีผลขัดขวางการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (บัญญัติ, 2534; Volk, 1992) มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA dependent RNA polymerase ซึ่งมีความสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรียทั้งต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด (Volk, 1992; Talaro and Talaro, 1993) การทดสอบสารละลาย rifampicin ทับบนอาหารกึ่งแข็งที่ใช้เพาะเลี้ยงมีประสิทธิภาพลดการปนเปื้อนอันเนื่องมาจากจุลินทรีย์ภายในท่อลำเลียงได้มากกว่าการใช้ rifampicin ร่วมกับการฟอกฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว คล้ายคลึงกับการทดลองของ Bridg (2000) ที่เปรียบเทียบยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด ได้แก่ nystatin cefotaxime และ rifampicin ในการลดปัญหาการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ภายในชิ้นส่วนข้อของทุเรียนเทศ และน้อยหน่าออสเตรเลีย พบว่า rifampicin ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด โดยวิธีการเททับบนอาหารกึ่งแข็งที่ใช้เพาะเลี้ยง

หรือการผสมลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงมีประสิทธิภาพลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ภายในท่อลำเลียงได้ 100 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าการใช้ rifampicin ร่วมกับการฟอกฆ่าเชื้อซึ่งลดการปนเปื้อนได้เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้ nystatin และ cefotaxime สามารถลดการปนเปื้อนได้เพียง 25-50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเททับบนอาหารกึ่งแข็งที่ใช้เพาะเลี้ยงหรือผสมลงในอาหาร แต่ไม่สามารถลดการปนเปื้อนได้เมื่อใช้ร่วมกับการฟอกฆ่าเชื้อ และจากการตรวจสอบพบว่าการปนเปื้อนเกิดจากเชื้อแบคทีเรียชนิด *Pseudomonas* spp. และ *P. saccharophila* ในส่วนของ Farooq (2002) ที่เปรียบเทียบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะกลุ่มที่ทำลายเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ tetracycline rifampicin และ polymyxin B และกลุ่มที่ทำลายเชื้อรา ได้แก่ bavistin ความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ใช้ร่วมกับการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของน้อยหน่า (*Annona squamosa*) พบว่า rifampicin ความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพลดการปนเปื้อนได้สูงสุด 50.66 และ 52.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้งาน คือ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นสูง (200 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะเป็นพิษต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้ Philips *et al.* (1981); Pollock *et al.* (1983) ยังพบว่าการใช้ยาปฏิชีวนะมักก่อให้เกิดผลข้างเคียงคือชะลอและลดการสร้างยอดใหม่ของชิ้นส่วนพืช

3. การศึกษาผลของ BA ร่วมกับ $AgNO_3$ ในการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดยอด และการป้องกันการหลุดร่วงของใบ

ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน กล้วยหมูสัง และพีพวนน้อย พบว่า ยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีการหลุดร่วงของใบมากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม $AgNO_3$ และการหลุดร่วงของใบลดลงอย่างมากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม $AgNO_3$ การหลุดร่วงของใบนี้เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอธิลีน ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่มีผลชักนำหรือกระตุ้นให้เกิดการแก่ชราและการหลุดร่วงของส่วนต่างๆ (Reid, 1995) การแก้ปัญหาคือการหลุดร่วงของใบทำได้โดยใช้สารที่มีสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์เอธิลีน สารกลุ่มที่ช่วยดูดซับเอธิลีน หรือการใช้สารที่มีสมบัติยับยั้งการทำงานของเอธิลีน (Buddendorf-Joosten and Woltering, 1994; Lemos and Black, 1994; 1996 a) ในการทดลองครั้งนี้ใช้ $AgNO_3$ ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (5 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าสามารถลดการหลุดร่วงของใบในพืชทั้ง 3 ชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงน้อยหน่า (Lemos and Black, 1994; 1996 a) และฝ้าย (*Gossypium herbaceum*) (Bayer, 1976) ที่รายงานว่า Ag^+ เป็น strong inhibitor ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการทำงานของเอธิลีน มีผลลดการหลุดร่วงของใบ

การศึกษาผลของ BA ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 ในการชักนำให้ขึ้นส่วนของกล้วยไ้พอน และกล้วยหุ้มสังเกิดยอด พบว่า การเติม AgNO_3 ในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0-20 ไมโครโมลาร์ ไม่มีผลต่อการชักนำยอดและการเพิ่มปริมาณยอดของกล้วยไ้พอนและกล้วยหุ้มสัง และความยาวยอดของกล้วยไ้พอน แต่มีผลต่อความยาวยอดของกล้วยหุ้มสัง การเติม AgNO_3 ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไ้พอน แม้ว่าจะไม่มีผลให้ยอดใหม่มีความยาวเพิ่มขึ้น แต่ทำให้ยอดที่เกิดใหม่สามารถพัฒนาได้อย่างปกติ แตกต่างจากยอดที่ไม่ได้รับ AgNO_3 อย่างเห็นได้ชัด เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยง *Passiflora edulis* พบว่าการเติมและไม่เติม AgNO_3 ความเข้มข้น 23.5 ไมโครโมลาร์ ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอด แต่การเติม AgNO_3 ทำให้ยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะแข็งแรงกว่า (Trevisan *et al.*, 2005)

ส่วนการเพาะเลี้ยงกล้วยหุ้มสัง พบว่า เมื่อไม่เติม AgNO_3 ยอดที่ได้จะสั้น ยอดมีลักษณะการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ ใบมีสีค่อนข้างเหลือง แต่ยอดที่ได้รับ AgNO_3 มีความยาวมากกว่า ยอดใหม่มีการพัฒนาได้ คล้ายคลึงกับการเพาะเลี้ยง mini-roses ที่พบว่า เมื่อปริมาณ mercuric perchlorate ($\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$) ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติดูดซับเอธิลีนในอาหารเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นจะทำให้ยอดมีความยาวเพิ่มขึ้น แสดงว่าเอธิลีนในภาชนะเพาะเลี้ยงมีผลยับยั้งการเติบโตของยอด (Kevers *et al.*, 1992) และในการเพิ่มปริมาณยอดของเลมอน (*Citrus limon*) Kotsias and Roussos (2001) พบว่า การเพาะเลี้ยงขึ้นส่วนของอาหารสูตร Driver-Kuniyuki ที่เติม BA ความเข้มข้น 13.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 17.64 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดใหม่มีความยาวมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 13.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.29 ไมโครโมลาร์ พืชต่างชนิดกันมีการตอบสนองต่อ AgNO_3 แตกต่างกัน โดยทั่วไปแล้วผลของเอธิลีนมักเป็นไปในทางยับยั้ง ดังนั้นการใช้สารยับยั้งเอธิลีนมักจะมีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน (morphogenesis) ในพืช เช่น การเติม AgNO_3 ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติยับยั้งการทำงานของเอธิลีนสามารถกระตุ้นการชักนำยอดจากแคลลัสของข้าวสาลี (*Triticum aestivum*) ให้เกิดเพิ่มขึ้นได้ (Purnhauser *et al.*, 1987) และกระตุ้นการเพิ่มปริมาณยอดจากข้อใบเลี้ยง และส่วนใต้ใบเลี้ยงของแตงกวา (*Cucumis sativus*) บางสายพันธุ์ (Mohiuddin *et al.*, 1997) และการเติม silver thiosulphate (STS) ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติยับยั้งการทำงานของเอธิลีนในอาหารเพาะเลี้ยงต้นกล้วยฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) พบว่าสามารถชักนำให้ขนาดของแผ่นใบ การเติบโตของยอด และรากเพิ่มขึ้น เป็นต้น (Mollers *et al.*, 1992) แต่ในบางพืช เช่น มังคุด (*Garcinia mangostana*) พบว่า การเติม AgNO_3 และ L- α -2-aminoethoxyvinylglycine (AVG) จะมีผลชะลอการเกิดยอดและ

การพัฒนาของแคลลัสจากแผ่นใบ (Goh *et al.*, 1997) และในเลมอน Kotsias and Roussos (2001) พบว่าการเติม AgNO_3 จะส่งผลยับยั้งการเกิดยอดใหม่

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนและกล้วยหมุ่สังบนอาหารที่เติม BA พบว่า มีการเพิ่มปริมาณยอดได้บนอาหารที่เติม BA ทุกระดับความเข้มข้น (5-20 ไมโครโมลาร์) เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินมีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงสภาพ (differentiation) โดยส่งเสริมการสังเคราะห์ RNA และโปรตีน โดยเฉพาะโปรตีนที่มีความสำคัญต่อการแบ่งเซลล์ จึงมีผลกระตุ้นให้เพิ่มปริมาณยอดได้ (Lyndon, 1990; Taiz and Zeiger, 2002) BA เป็นไซโตไคนินที่ให้ผลในการชักนำยอดได้ดีที่สุด ดังจะเห็นความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงในพืชหลายชนิด รวมทั้งในการชักนำยอดจากชิ้นส่วนของพืชวงศ์ Annonaceae ด้วย ความเข้มข้นที่ให้ผลในการตอบสนองดีจะอยู่ในช่วงประมาณ 2.22-17.6 ไมโครโมลาร์ (0.5-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) (George and Nissen, 1987; Tazzari, 1990, Bejoy and Hariharan, 1992; Encina *et al.*, 1994; Rasai *et al.*, 1994; Lemos and Black, 1996 b, 1996 c; Bridg, 2000; Farooq *et al.*, 2002; Zobayed *et al.*, 2002; Padilla and Encina, 2004) ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดพืช ชนิดและตำแหน่งของชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง ปริมาณ exogenous hormone และปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า BA ความเข้มข้น 10-15 ไมโครโมลาร์ และ 15 ไมโครโมลาร์ สามารถเพิ่มปริมาณยอดกล้วยไ้พอนและกล้วยหมุ่สูงที่สุด ตามลำดับ ความเข้มข้นของไซโตไคนินที่สูงกว่านี้ ทำให้จำนวนยอดใหม่ของกล้วยไ้พอนและกล้วยหมุ่ลดลง สอดคล้องกับการเพิ่มปริมาณยอดในพืชหลายชนิด เช่น มะตูม (*Aegle marmelos*) (สุพินญา, 2540) ประยงค์ (วินิจ, 2546) น้อยหน่า (Nagori and Purohit, 2004) และ มัลเบอรี่ (*Morus spp.*) (Chitra and Padmaja, 2005) เป็นต้น เนื่องจากในชิ้นส่วนพืชเดิมก็มีไซโตไคนินอยู่ การเติมเพิ่มจากภายนอกเข้าไปจนมีปริมาณไซโตไคนินสูงเกินไปจะไปมีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์บางชนิดมากเกินไปจนเกิดอันตรายต่อชิ้นส่วนพืช ส่งผลให้จำนวนยอดและความยาวยอดลดลง (Moore, 1989; Mok and Mok, 1994)

สำหรับความยาวยอดของกล้วยไ้พอน พบว่า การเติม BA ทุกระดับความเข้มข้น (5-20 ไมโครโมลาร์) มีผลยับยั้งความยาวยอด ผลการทดลองนี้คล้ายกับการทดลองของสุภาวดี (2540) ที่พบว่าการเพิ่มปริมาณยอดลำควน (*Melodorum fruticosum*) จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาข้างบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0-17.6 ไมโครโมลาร์ BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.1 ไมโครโมลาร์ ยอดมีความยาวสูงสุด และเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นมากกว่าระดับนี้ ความยาวยอดจะลดลง และการทดลองของ Nagori and Purohit (2004) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนไฮโปคอติลของน้อยหน่าบน

อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0-44 ไมโครโมลาร์ พบว่า BA ที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 8.8 ไมโครโมลาร์ มีผลยับยั้งความยาวยอด แต่สำหรับกล้วยหมูสัง พบว่า BA ไม่มีผลต่อความยาวยอด แสดงให้เห็นว่าพืชต่างชนิดกันมีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกัน

ในพีพวนน้อย พบว่าการเติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ มีผลป้องกันการหลุดร่วงของใบได้ ในการเพิ่มปริมาณยอดพีพวนน้อย เมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่ได้ต่อไปอีกระยะหนึ่ง ยอดมักเปลี่ยนเป็นสีดำ น่าจะเป็นผลจากสารกลุ่ม phenolic compounds และ tannin ซึ่งสารกลุ่มนี้จะส่งผลกระทบต่อและเป็นสาเหตุให้เกิดสีน้ำตาลและดำของชิ้นส่วนในระหว่างการพัฒนาเลี้ยง ซึ่งพืชในวงศ์นี้มีคุณสมบัติที่ไวต่อการเกิด phenolic compounds (hypersensitivity) (Martinez-Cayuela *et al.*, 1988; Bridg, 2000) แม้ว่าในขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อจะมีการแช่ชิ้นส่วนในสารละลาย ascorbic acid ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว แต่ก็เพียงลดปัญหาได้ในระยะหนึ่ง จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไอ้พอน กล้วยหมูสัง และพีพวนน้อย พบว่า ยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีความยาวสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมไซโตไคนิน (BA หรือ TDZ) และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ความสูงของยอดมีแนวโน้มลดลง อาจเป็นผลเนื่องจากออกซินที่สร้างขึ้นจากปลายยอดใหม่ มีผลกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ ทำให้ชิ้นส่วนพืชที่ไม่ได้รับ BA หรือ TDZ มีการเติบโตยืดยาวขึ้นได้ (พีรเดช, 2529) และเมื่อไม่มีบทบาทของไซโตไคนินมาขัดขวาง ออกซินจึงแสดงบทบาทได้เต็มที่ ทำให้ยอดยืดยาวมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมไซโตไคนิน (Pierik, 1998; Lyndon, 1990) เช่นเดียวกับการทดลองเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนตาข้างของต้นมะตูม (สุพินญา, 2540) โมกซ้อน (*Wrightia religiosa*) (สุธี, 2541) ชมพู่มะเหมี่ยว (*Eugenia malaccensis*) และตะลิงปลิง (*Averrhoa bilimbi*) (พัชรารัตน์, 2542) เป็นต้น

4. การศึกษาผลของ GA_3 ต่อการยืดยาวของยอด

ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไอ้พอนบนอาหารที่เติม BA จะเห็นได้ว่ายอดที่ได้ค่อนข้างสั้นและมีจำนวนข้อของยอดหลักน้อย จึงศึกษาผลของ GA_3 ต่อการยืดยาวของยอด โดยเฉพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ พบว่า การเติม GA_3 ทำให้ยอดใหม่มีความยาวเพิ่มขึ้น โดย GA_3 ที่ระดับความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ยอดมีความยาวสูงสุด 1.37 เซนติเมตร เนื่องจาก GA_3 มีผลกระตุ้นการยืดยาวของเซลล์

โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณลำต้นที่ต่ำจากปลายยอดลงมา (Taiz and Zeiger, 2002) ในงานด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการใช้ GA_3 กระตุ้นให้เกิดการยืดยาวของยอดพืชหลายชนิด เช่น *Gardenia jasminoides* (Economou and Spanoudaki, 1986) *Citrus sinensis* (Maggon and Singh, 1995) *Achras sapota* (Purohit and Singhvi, 1998) หม่อน (*Morus indica*) (Chitra and Padmaja, 1999) เลมอน (Kotsias and Roussos, 2001) กุหลาบ (*Rosa hybrida*) (Singh and Syamal, 2001) และสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica*) (Chaturvedi *et al.*, 2004) ความเข้มข้นที่ให้ผลคืออยู่ในช่วงประมาณ 0.29-2.89 ไมโครโมลาร์ (0.1-1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ตัวอย่างการทดลองในทุเรียนเทศ โดย Bridg (2000) ที่พบว่า GA_3 ความเข้มข้น 0.29-5.77 ไมโครโมลาร์ มีผลกระตุ้นให้ยอดมีการยืดยาวเพิ่มขึ้น และมีจำนวนข้อที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าเพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 1.44 ไมโครโมลาร์ ยอดใหม่มีความยาวสูงสุด

การเติม GA_3 นอกจากจะทำให้ความยาวยอดเพิ่มขึ้นแล้ว จำนวนข้อของยอดหลักที่มองเห็นด้วยตาเปล่าก็เพิ่มขึ้นด้วย การที่จำนวนข้อของยอดหลักเพิ่มขึ้นนี้เป็นผลทางอ้อมจากการเติม GA_3 คือเมื่อเติม GA_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยงจะทำให้เกิดการยืดยาวของปล้อง ทำให้ข้อที่มีการสร้างขึ้นแล้วแต่ยังถูกใบที่ส่วนยอดห่อหุ้มอยู่เกิดการยืดยาวขึ้นจนทำให้สามารถมองเห็นได้ (Bajaj, 1991; Pierik, 1998; Bridg, 2000)

5. การศึกษาผลของ TDZ ในการชักนำให้ขึ้นส่วนข้อเกิดยอด

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารที่เติม TDZ พบว่า มีการเพิ่มปริมาณยอดได้บนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 5-20 ไมโครโมลาร์ โดยที่ระดับความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด เนื่องจาก TDZ จัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินเช่นเดียวกับ BA จึงมีผลกระตุ้นให้เกิดการสร้างยอดได้เช่นเดียวกัน (Lyndon, 1990; Mok and Mok, 1994; Taiz and Zeiger, 2002) TDZ เป็นไซโตไคนินสังเคราะห์ที่มีความไวสูง ให้ผลในการชักนำยอดในพืชหลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าไซโตไคนินชนิดอื่น ๆ (Malik and Sexena, 1992; Murthy *et al.*, 1998; Khawar *et al.*, 2004) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชพวกไม้เนื้อแข็ง (woody plant) (Huetteman and Preece, 1993) มีผลทำให้เกิดการ reprogram ของเซลล์เพื่อเข้าสู่ development pathway ใหม่ ส่งเสริมการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานในพืชใบเลี้ยงคู่หลายชนิด แต่มีผลจำกัดในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวบางชนิด (Malik and Sexena, 1992; Murthy *et al.*, 1998; Shan *et al.*, 2000)

ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไ้พอน ยอดใหม่ที่ได้จากการชักนำด้วย BA จะค่อนข้างสั้น ซึ่งในบางพืช เช่น เลนทิล (*Lens culinaris*) (Hoque *et al.*, 2004) และแอปเปิ้ล (*Malus domestica*) (Fasolo *et al.*, 1989) การชักนำยอดด้วย BA เพียงอย่างเดียว ยอดที่ได้มักมีลักษณะเตี้ย เกิดเป็นกระจุก อาจแก้ไขได้โดยนำไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารที่เติม GA_3 เพื่อให้ยอดยืดยาวขึ้น หรือการชักนำยอดโดยใช้ BA ร่วมกับไซโตไคนินชนิดอื่น เช่น kinetin หรือร่วมกับออกซิน หรือ GA_3 ยอดที่ได้จะมีความยาวเพิ่มขึ้น การชักนำยอดกล้วยไ้พอนด้วย TDZ ยอดใหม่ที่ได้จะมีความสูงและจำนวนข้อของยอดหลักมากกว่ายอดที่ชักนำด้วย BA ในการทดลองของ Malik and Saxena (1992); Hoque *et al.* (2004) พบว่า TDZ มีผลช่วยกระตุ้นการเกิดยอดใหม่และส่งเสริมการยืดยาวของยอดเลนทิลได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดยอดจำนวนสูงสุด ในการเพิ่มปริมาณยอดกล้วยไ้พอน พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของ TDZ สูงถึง 20 ไมโครโมลาร์ ความยาวยอดจะลดลง คล้ายคลึงกับการเพิ่มปริมาณยอดจากเอมบริโอของเลนทิล ที่ Malik and Saxena (1992) พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของ TDZ สูงถึง 50 ไมโครโมลาร์ ก็จะส่งผลยับยั้งความยาวยอด และยอดที่ได้จะมีลักษณะผิดปกติ แต่ในบางพืชพบว่าการใช้ TDZ ในการเพิ่มปริมาณยอดมีผลยับยั้งความยาวยอด เช่น มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*) (Bhagawat *et al.*, 1996) *Albizia julibrissin* (Sankhla *et al.*, 1996) และ *Vaccinium vitis-idaea* (Debnath, 2005) แสดงให้เห็นว่าผลของไซโตไคนินในการชักนำยอดมีความแตกต่างกันขึ้นกับ ชนิด และความเข้มข้นของสาร และชนิดพืช เป็นต้น (Pierik, 1998)

ในการชักนำให้ขึ้นส่วนของกล้วยไ้พอนเกิดยอดด้วย TDZ จะสังเกตเห็นว่าที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ ปลายใบของยอดใหม่มักมีสีดำและอาจเกิดการหลุดร่วงที่ไม่ได้เกิดจากการแก่ชราเนื่องจากโคนใบส่วนที่เหลือยังคงมีสีเขียว ซึ่งน่าจะเป็นผลเนื่องจาก TDZ เพราะมีรายงานว่าสารในกลุ่ม phenylurea มีผลกระตุ้นให้เกิดการหลุดร่วงของใบได้เช่นเดียวกับ calcium cyanamide, sodium chlorate และ ethephon (Arteca, 1996; Taiz and Zeiger, 2002) แม้ว่าสารในกลุ่ม phenylurea จะมีโครงสร้างบางส่วนที่แสดงฤทธิ์ของไซโตไคนิน แต่การมีโครงสร้างหลักเป็น phenylurea แตกต่างกับไซโตไคนินทั่วไปที่เป็น adenine รวมถึงการมี free base ในโครงสร้างที่ต่างกันไซโตไคนินแต่ละชนิด ทำให้มีสมบัติบางประการแตกต่างกัน ดังนั้นการเลือกใช้ขึ้นกับความสามารถในการตอบสนอง และการมี cytokinin receptor ที่เหมาะสมในแต่ละพืช (Mok and Mok, 1994; Taiz and Zeiger, 2002)

6. การศึกษาผลของ IBA และ NAA ในการชักนำให้ยอดเกิดราก

ในการชักนำให้ยอดกล้วยไ้พอนและกล้วยหมั่งเกิดรากด้วยวิธีการต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อที่ดัดแปลงตามวิธีของ Encina *et al.* (1994); Lemos and Black (1996 c); Farooq *et al.* (2002); Nagori and Purohit (2004); Padilla and Encina (2004) ซึ่งชักนำรากพืชในวงศ์ Annonaceae ได้แก่ น้อยหน่า น้อยหน่าออสเตรเลีย และทุเรียนเทศได้เป็นผลสำเร็จ พบว่าไม่สามารถชักนำให้ยอดกล้วยไ้พอนและกล้วยหมั่งเกิดรากได้ แม้ว่าจะจัดอยู่ในพืชวงศ์เดียวกัน อาจเนื่องมาจากพืชแต่ละชนิดมีความสามารถในการตอบสนองต่อการชักนำได้แตกต่างกัน เป็นผลจากลักษณะพันธุกรรมของพืชเอง มีรายงานว่าในสภาพเพาะเลี้ยง การชักนำให้พืชในวงศ์นี้เกิดรากทำได้ค่อนข้างยาก (George and Nissen, 1987; Rasai *et al.*, 1995 a; Farooq *et al.*, 2002; Padilla and Encina, 2004) เช่นเดียวกับพืชอีกหลายชนิด เช่น แอปเปิ้ล (cv. Jonathan และ Delicious) (Sriskandarajah *et al.*, 1982) *Quercus robur* และ *Q. rubra* (Sanchez *et al.*, 1996) และกระถินเทพา (*Acacia mangium*) (Monteuuis and Bon, 2000) เป็นต้น ซึ่งส่วนมากใช้วิธีการชักนำรากโดยกระตุ้นด้วยออกซินความเข้มข้นสูง ๆ โดยใช้ระยะเวลาสั้นลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น (Lemos and Black, 1996 c; Sanchez *et al.*, 1996; Nagori and Purohit, 2004) ตัวอย่างเช่น การชักนำรากในทุเรียนเทศ Lemos and Black (1996 c) แช่ชิ้นส่วนโคนยอดในสารละลาย NAA ความเข้มข้นสูง 500 หรือ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (2,685 หรือ 5,370 ไมโครโมลาร์) นาน 3 นาที พบว่า ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 33 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ในสภาพธรรมชาติก็พบว่า การขยายพันธุ์พืชวงศ์ Annonaceae โดยการตอนกิ่งและการปักชำ ใช้ระยะเวลานานและมักไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร (ทอม, 2546) เนื่องจากมีการตอบสนองต่อการชักนำให้เกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานต่ำ โดยเฉพาะการเกิดราก (George and Nissen, 1987; Rasai *et al.*, 1995 a, 1995 c; Lemos and Black, 1996 a; Castro *et al.*, 1999; Bridg, 2000; Farooq *et al.*, 2002; Zobayed *et al.*, 2002; Nagori and Purohit, 2004; Padilla and Encina, 2004)

สำหรับการชักนำรากในสภาพธรรมชาติ เมื่อครบ 35 วันหลังจากย้ายปลูกยอดกล้วยไ้พอนที่ได้รับการกระตุ้นด้วย NAA หรือ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตสูง และพบว่ายอดที่จุ่มโคนยอดในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 8,000 ไมโครโมลาร์สามารถเกิดรากได้ ซึ่ง Nagori and Purohit (2004) ได้เปรียบเทียบการชักนำให้ยอดของน้อยหน่าเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อและสภาพธรรมชาติ พบว่าในสภาพธรรมชาติดีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงกว่า การชักนำรากกล้วยไ้พอนด้วยวิธีการดังกล่าวคล้ายคลึงกับการทดลองของ สุธี (2541) ซึ่งชักนำรากจากยอดโมกซ้อนในสภาพเพาะเลี้ยงไม่ประสบความสำเร็จ จึงนำยอดที่ผ่านการกระตุ้นด้วย NAA หรือ IBA

ออกปลูก หลังจากย้ายปลูกลาน 45 วัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 64.47 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าเกิดรากขึ้นจากแคลลัสสีน้ำตาลบริเวณโคนยอด

7. การศึกษาการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของชิ้นส่วนใบเมื่อกระตุ้นด้วย BA ร่วมกับ NAA

ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกล้วยไ้พอน พบว่า อาหารที่เติม NAA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินเพียงอย่างเดียว หรือการเติม NAA ร่วมกับ BA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบเกิดแคลลัสได้ โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA ร่วมกับ BA ทำให้มีจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสและคะแนนการเกิดแคลลัสสูงกว่าการเพาะเลี้ยงด้วย NAA เพียงอย่างเดียวคล้ายคลึงกับการทดลองของ Omura *et al.* (1987) ที่พบว่า อาหารที่เติม NAA ร่วมกับ BA สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบของทับทิม (*Punica granatum*) เกิดแคลลัสได้สูงสุด และในการชักนำให้ชิ้นส่วนใบของ *Phlox paniculata* เกิดแคลลัส Jain *et al.* (2002) พบว่า อาหารที่เติม IAA ร่วมกับ BA มีผลชักนำให้ชิ้นส่วนใบเกิดแคลลัสได้สูงสุด และในการชักนำให้ชิ้นส่วนใบของ *Cephaelis ipecacuanha* เกิดแคลลัส Rout *et al.* (2000) พบว่า การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA สามารถชักนำแคลลัสได้มากกว่าการใช้ 2,4-D หรือ BA เพียงชนิดเดียว เช่นเดียวกับการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของลำคาน (สุภาวดี, 2540) และต้นผีเสื้อ (*Dianthus caryophyllus*) (Jain *et al.*, 2001) และชิ้นส่วนข้อของตะขบ (*Flacourtia jangomas*) (Chandra and Bhanja, 2002) แต่ในพืชหลายชนิดสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้สูงสุดด้วยออกซินเพียงอย่างเดียว เช่น ใบอ่อนของโมกซ้อน (สุธี, 2541) อีพิคอติลของ *Citrus acida* (Chakravarty and Goswami, 1999) นอกจากนี้ยังมีชิ้นส่วนพืชบางชนิดที่การเติมไซโตไคนินเพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ เช่น การทดลองของ Karam and Al-Majathoub (2000) พบว่า การเติม TDZ เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ก้านช่อดอก กลีบดอก และก้านใบของ *Cyclamen persicum* เกิดแคลลัสได้

นอกจากอัตราส่วนที่เหมาะสมของออกซินและไซโตไคนินแล้ว ชนิดและความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนินก็มีความสำคัญเป็นอย่างมาก ซึ่งจะแตกต่างกันตามชนิดพืช สายพันธุ์ และชนิดของชิ้นส่วน เป็นต้น (รังสฤษฎี, 2541; Moore, 1989; Pierik, 1998) ตัวอย่างเช่น ในการทดลองของ Chakravarty and Goswami (1999) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนอีพิคอติล ของ *Citrus acida* บนอาหารที่เติม 2,4-D NAA หรือ IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่ากัน พบว่า 2,4-D สามารถชักนำให้

ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ ในขณะที่ NAA และ IBA ไม่สามารถชักนำแคลลัสได้ แต่จะเกิดเป็นราก และในการชักนำให้ใบอ่อนของลำคานเกิดแคลลัส สุภาวดี (2540) ได้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0-4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0-0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของ NAA เพิ่มขึ้นเกินกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

แคลลัสที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนใบของกล้วยไ้พอน ส่วนมากมีลักษณะเป็น friable callus ที่ไม่มีการพัฒนาต่อไปเป็นโครงสร้างอื่น แม้ว่าเซลล์พืชทุกเซลล์มีความสามารถที่จะเจริญเติบโตพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้ (totipotency) ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ เนื้อเยื่อ หรือแคลลัสอาจมีการพัฒนาเกิดเป็นยอด ราก (shoot/root organogenesis) หรือพืชทั้งต้น (embryogenesis) ได้ แต่การพัฒนาจะเกิดขึ้นหรือไม่ หรือจะพัฒนาโดยกระบวนการใดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ข้อจำกัดของการแสดงออกของเซลล์พืชแต่ละชนิด ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตและอัตราส่วนสมดุลระหว่างออกซินและไซโตไคนิน ในการพัฒนาของแคลลัสโดยทั่วไป หากอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสูงจะพัฒนาเป็นราก ถ้าอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินต่ำจะพัฒนาเป็นยอด และถ้าอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสมดุลกันจะพัฒนาเป็นแคลลัสต่อไป (รังสฤษฎี, 2541; Seabrook, 1980) ซึ่งความเข้มข้นที่ได้รับต้องเหมาะสมกับแต่ละระยะของการพัฒนาด้วย ตัวอย่างเช่น ในการศึกษาของ Jain *et al.* (2001) พบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลชักนำให้ชิ้นส่วนใบอ่อนของต้นฝั่เลื้อยเกิดแคลลัสได้สูงสุด และแคลลัสจะมีการพัฒนาเกิดเป็นยอดเมื่อย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสหรือกระตุ้นให้เกิดโครงสร้างต่าง ๆ กับที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาของโครงสร้างที่เกิดขึ้นอาจไม่ใช่อาหารสูตรเดียวกัน (Pierik, 1998; Hamama *et al.*, 2001) ดังนั้นการที่แคลลัสของกล้วยไ้พอนไม่มีการพัฒนาต่ออาจเนื่องจากได้รับอาหารไม่เหมาะสมกับระยะการพัฒนาเพราะในการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของกล้วยไ้พอน ได้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารสูตรเดิมเป็นระยะเวลานาน (8 สัปดาห์) และการได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตในระดับความเข้มข้นสูงเป็นระยะเวลานาน ๆ อาจส่งผลยับยั้งกระบวนการพัฒนาได้ (Goodwin and Mercer, 1983; McCown and Sellmer, 1987; Moore, 1989)

สำหรับพืชวนน้อย เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ความเข้มข้นเดียวกับการศึกษาในกล้วยไ้พอน พบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น

ได้ แต่เมื่อลดความเข้มข้นของ NAA ลง พบว่า สามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นบนแผ่นใบได้ โดยอาหารที่เติม NAA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดแคลลัส และการเติม BA เพียงอย่างเดียว หรือการเติม NAA ร่วมกับ BA สามารถชักนำให้เกิดโครงสร้างรูปกลม (nodule) โดยอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ เพียงอย่างเดียว (สูตรที่ 4) และการเติม NAA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 10-20 ไมโครโมลาร์ (สูตรที่ 10 และ 11) มีจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสูงสุด แต่ในสูตรที่ 11 มีคะแนนการเกิดการเปลี่ยนแปลงสูงสุด คล้ายคลึงกับการชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดโครงสร้างรูปกลมใน *Stellaria longipes* (Miranda *et al.*, 1999) กระถินเทพา (Xie and Hong, 2001) และแอปเปิ้ล (cv. Topred) (Yancheva *et al.*, 2003) ที่พบว่าการใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนินสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดโครงสร้างรูปกลมซึ่งจะพัฒนาเป็นยอดได้ในเวลาต่อมา โดยมีการเรียกโครงสร้างรูปกลมดังกล่าวแตกต่างกัน เช่น nodular structure (Miranda *et al.*, 1999) nodule form (Xie and Hong, 2001) หรือ meristematic dome (Yancheva *et al.*, 2003)

โครงสร้างรูปกลมที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนใบ ในระยะแรกมีลักษณะกลมเกลี้ยง ผิวมีความวาว คล้ายไซมาติกอิมบริโอระยะ globular แต่เมื่อติดตามพัฒนาการกลับไม่พบโครงสร้างระยะ heart shape และ torpedo shape ที่ชัดเจน เมื่อศึกษาลักษณะกายวิภาค พบว่า โครงสร้างที่เห็นเกิดขึ้นโดยตรงจากชิ้นส่วนใบ มีการพัฒนาใน 2 ลักษณะ ได้แก่ 1) โครงสร้างที่เกิดจากกระบวนการเกิดอวัยวะ (organogenesis) เนื่องจากพบว่ามีท่อลำเลียงภายในโครงสร้างเชื่อมต่อกับท่อลำเลียงของชิ้นส่วน มักพบที่เกิดจากเนื้อเยื่อบริเวณใกล้ท่อลำเลียงของชิ้นส่วนใบ คล้ายคลึงกับการเกิดยอดโดยตรงจากชิ้นส่วนใบของแอปเปิ้ล (cv. Topred) (Yancheva *et al.*, 2003) และใบเลี้ยงของแตงโม (*Citrullus lanatus*) (Krug *et al.*, 2005) และ 2) โครงสร้างที่เกิดจากกระบวนการเกิดไซมาติกอิมบริโอ (embryogenesis) เนื่องจากพบว่ามีท่อลำเลียงภายในโครงสร้างแยกจากชิ้นส่วนใบที่นำมาเพาะเลี้ยง และพบเนื้อเยื่อจุดกำเนิดราก มักพบที่เกิดการพัฒนาจากเนื้อเยื่อชั้นอพิเคอร์มิสและชั้นไดอพิเคอร์มิส คล้ายคลึงกับการเกิดการเกิดไซมาติกอิมบริโอโดยตรงจากชิ้นส่วนไซโกติกอิมบริโอของเลี่ยน (*Melia azedarach*) (Vira *et al.*, 2003) Sharp *et al.* (1980) กล่าวว่ารูปแบบการพัฒนาเป็นอวัยวะและไซมาติกอิมบริโอ อาจถูกกำหนดหรือเกิดโดยการสุ่ม เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์หรือในเนื้อเยื่อ รูปแบบของการพัฒนาแบ่งเป็นทางตรงและทางอ้อมคือเกิดผ่านแคลลัส โดยเขามีแนวความคิดว่า รูปแบบของการเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานโดยตรงถูกกำหนดไว้ภายในเซลล์พืช เซลล์มีลักษณะเป็น pre-embryogenic determined cells (PEDC) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีความพร้อมส่วนการเกิดโดยทางอ้อมนั้น เกิดขึ้นเมื่อเซลล์หรือแคลลัสได้รับการชักนำให้เกิดความพร้อม จึง

เรียกเซลล์เหล่านี้ว่า induced embryogenic determined cells (IEDC) (รังสฤษดิ์, 2541; Lyndon, 1990) และในพืชหลายชนิด พบว่าการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอสามารถเปลี่ยนกลับเป็นยอดได้แม้ว่าจะมีความถี่ในการเกิดต่ำ (Raemakers *et al.*, 1995) จากการศึกษาในครั้งนี้สังเกตพบว่าตำแหน่งบนชิ้นส่วนใบพืชน้อยที่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดเป็น nodule ที่จะพัฒนาเกิดเป็นยอดโดยตรง หรือโซมาติกเอ็มบริโอจำนวนมากมักเป็นบริเวณรอยตัดหรือบนแผ่นใบไกล์รอยตัด และตรงบริเวณกลางและฐานใบมักมีการตอบสนองได้ดีกว่าปลายใบ สอดคล้องกับการชักนำยอดจากชิ้นส่วนใบของแอปเปิ้ล (cv. McIntosh) ที่ Sarwar and Skirvin (1997) พบว่า ชิ้นส่วนใบบริเวณกลางและฐานใบมีการตอบสนองต่อการชักนำให้เกิดยอดมากกว่าปลายใบ และการเกิดยอดมักเกิดบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วนมากกว่าบนแผ่นใบ

การเกิดโครงสร้างมากกว่าหนึ่งลักษณะจากชิ้นส่วนเดียวกัน มักเกิดเนื่องจากการได้รับปัจจัยบางประการที่แตกต่างกัน เช่น ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต ตัวอย่างเช่น ในการชักนำให้ชิ้นส่วนใบเลี้ยงของเมลอน (*Cucumis melo*) เกิดการเปลี่ยนแปลง พบว่าอาหารสูตรที่เติม IAA (11.4 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ kinetin (5 ไมโครโมลาร์) ชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส ในขณะที่อาหารที่เติม IBA (5 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับ BA (4.4 ไมโครโมลาร์) ชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอโดยตรงจากชิ้นส่วน และอาหารที่เติม BA (2.7 ไมโครโมลาร์) ชักนำให้เกิดยอดโดยตรงจากชิ้นส่วน (Kintzios *et al.*, 2004) หรือความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต ตัวอย่างเช่น การทดลองของ Singh *et al.* (2003) ที่พบว่า การเพาะเลี้ยงเมล็ดถั่วแระ *Cajanus cajan* ที่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกบนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่ำ (0.05-1.0 ไมโครโมลาร์) จะชักนำให้เกิดการเพิ่มปริมาณยอด แต่หากเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูง (10-20 ไมโครโมลาร์) จะเกิดโซมาติกเอ็มบริโอขึ้น แต่การเกิดโครงสร้างหลาย ๆ รูปแบบบนชิ้นส่วนเดียวกันที่ได้รับปัจจัยต่าง ๆ เหมือนกันก็สามารถพบได้ เช่น การเพาะเลี้ยงแคลลัสจากไซโกติกเอ็มบริโอของ *Fagopyrum esculentum* บนอาหารสูตร RX ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการเกิดยอด ราก และโซมาติกเอ็มบริโอจากแคลลัส (Rumyantseva *et al.*, 2005) การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนไฮโปคอติลของ *Stellaria longipes* บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น 3 รูปแบบ ได้แก่ การเกิดยอดโดยตรงจากชิ้นส่วน เกิด nodular structure ก่อนพัฒนาเป็นยอด และเกิดแคลลัสก่อนพัฒนาเป็นยอด (Miranda *et al.*, 1999) และในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *Camillia japonica* โดย Pedroso and Pais (1993) นำชิ้นส่วนใบไปแช่ในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 1 กรัม

ต่อลิตร นาน 20 นาที แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/2 MS ที่เติม D-glucose 25 กรัม ต่อลิตร เก็บในที่มืดนาน 11 วัน ก่อนย้ายมาไว้ในสภาพได้รับแสง พบว่า ที่ตำแหน่งต่างกันของ ชิ้นส่วนใบมีการตอบสนองที่แตกต่างกัน ภายใต้สภาวะแวดล้อมเดียวกัน คือ เกิดโสมาดิกเอ็มบริโอ โดยตรงจากชิ้นส่วนใบเฉพาะบริเวณขอบใบ เกิดรากโดยตรงบริเวณเส้นกลางใบ เกิด *habituated callus* บริเวณใกล้โคนใบ และเกิด *organogenic callus* บริเวณโคนใบตรงรอยตัดและบริเวณส่วนปลายใบ ซึ่งการเกิดลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกันน่าจะเป็นผลจากปัจจัยภายในที่แตกต่างกัน เช่น การสะสมธาตุอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันในแต่ละตำแหน่งของชิ้นส่วน ความสัมพันธ์ระหว่างเนื้อเยื่อ ความสามารถของเซลล์ การแลกเปลี่ยนธาตุอาหารของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี เป็นต้น (Moore, 1989; Attree and Fowke, 1991; Phillips *et al.*, 1995; Pierik, 1998)

ในพืชวนน้อย การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารที่เติมไซโตไคนินเพียงอย่างเดียว หรืออาหารที่เติมไซโตไคนินความเข้มข้นสูงร่วมกับออกซินความเข้มข้นต่ำสามารถชักนำให้เกิด *nodule* ที่จะพัฒนาเกิดเป็นยอดโดยตรง สอดคล้องกับ Phillips *et al.* (1995); Pierik (1998) ที่พบว่า ในการชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดยอดโดยตรง (*direct shoot organogenesis*) โดยทั่วไปทำได้โดยการเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนบนอาหารที่เติมไซโตไคนินเพียงอย่างเดียว หรืออาหารที่เติมไซโตไคนินความเข้มข้นสูง ร่วมกับออกซินความเข้มข้นต่ำ ตัวอย่างเช่น การชักนำให้เกิดยอดโดยตรงจากชิ้นส่วนใบของแอปเปิ้ล (*cv. McIntosh*) (Sarwar and Skirvin, 1997) และ หม่อน (Chitra and Padmaja, 2005) ใบเลี้ยงของแตงโม (Pirinc *et al.*, 2003) ใบเลี้ยงและไฮโปคอติลของ *Arnebia eachroma* (Jiang *et al.*, 2005)

การชักนำให้ชิ้นส่วนพืชเกิดโสมาดิกเอ็มบริโอ โดยทั่วไปมักกระตุ้นโดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารที่เติมออกซินเพียงอย่างเดียว หรือเติมออกซินร่วมกับไซโตไคนินแล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หรืออาหารที่เติมไซโตไคนินความเข้มข้นต่ำ ๆ เพื่อให้เกิดการพัฒนาของโสมาดิกเอ็มบริโอ (Raemakers *et al.*, 1995) จากการรวบรวมของ Raemakers *et al.* (1995) พบว่าในพืชใบเลี้ยงคู่ 64 ชนิด มี 17 ชนิดที่เกิดโสมาดิกเอ็มบริโอขึ้นโดยตรงจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มี 31 ชนิดเกิดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมออกซินเพียงอย่างเดียว มี 31 ชนิดเกิดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมออกซินร่วมกับไซโตไคนิน และ 25 ชนิดเกิดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมไซโตไคนินเพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตในแต่ละพืช การที่ชิ้นส่วนใบ

ของพืชขนาดเล็กและพืชบางชนิดต้องการไซโตไคนินเพียงชนิดเดียว หรือต้องการปริมาณไซโตไคนินที่เติมลงในอาหารสูงกว่าออกซินมากเพื่อชักนำให้เกิดไซมาติกเอมบริโอ น่าจะเนื่องมาจากภายในชิ้นส่วนของพืชดังกล่าวมีการสะสมออกซินอยู่ค่อนข้างมาก ซึ่งโดยมากมักพบในการนำเมล็ด หรือไซโกติกเอมบริโอของพืชมาเพาะเลี้ยงมากกว่าใช้ชิ้นส่วนอื่น (อัจฉริยา, 2538; Southworth and Kwiatkowski, 1991; Vyas and Bansal, 2004) นอกจากนี้ Vyas and Bansal (2004); Vila *et al.* (2003) พบว่าชนิดของไซโตไคนินก็มีผลต่อการชักนำให้เกิดไซมาติกเอมบริโอ เช่น ในการเพาะเลี้ยงไซโกติกเอมบริโอของจิ้ง (Bombax ceiba) พบว่า BA ชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดไซมาติกเอมบริโอได้มากกว่า kinetin ขณะที่ TDZ ชักนำให้ชิ้นส่วนของเถียนเกิดไซมาติกเอมบริโอได้มากกว่า BA ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของไซโตไคนินต่างชนิดกันที่มีผลต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนใบของพืชขนาดเล็กเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน

นอกจาก nodule ที่จะพัฒนาเกิดเป็นยอดโดยตรงและไซมาติกเอมบริโอระยะ globular ที่พบได้บนชิ้นส่วนใบพืชขนาดเล็กแล้ว ยังพบโครงสร้างชั้นที่ 2 ลักษณะกลม กลี้ยง ผิวมีความวาว คล้ายไซมาติกเอมบริโอระยะ globular จำนวนมาก ซึ่งบางส่วนมีการพัฒนาขึ้นคล้ายระยะ heart shape คล้ายคลึงกับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชหลายชนิดที่พบการพัฒนาของไซมาติกเอมบริโอชั้นที่ 2 เกิดขึ้นได้บนโครงสร้างแรก เช่น ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*) (Raemarkers *et al.*, 1993) และกุหลาบ (*Rosa hybrida* cv. Carefree Beauty) (Li *et al.*, 2002) และการเพาะเลี้ยงเมล็ดพริกไทยดำ (*Piper nigrum*) (Nair and Gupta, 2006) เป็นต้น ในพืชขนาดเล็ก การเกิดโครงสร้างชั้นที่ 2 จำนวนมากน่าจะเป็นผลเนื่องจาก BA เพราะ BA มีผลกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงสภาพ (Lyndon, 1990; Taiz and Zeiger, 2002) แต่การได้รับไซโตไคนินในระดับความเข้มข้นสูงเป็นระยะเวลานานอาจส่งผลยับยั้งกระบวนการพัฒนา (Goodwin and Mercer, 1983; McCown and Sellmer, 1987; Moore, 1989) เป็นสาเหตุให้โครงสร้างชั้นที่ 2 ที่เกิดขึ้นไม่มีการพัฒนาต่อ

สรุป

1. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของกล้วยไอ้พอน พืพวนน้อย และกล้วยหมูสังที่เก็บในฤดูร้อน มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ต่ำสุด 5.8 10.8 และ 28.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงสุด 98.2 91.6 และ 95.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2. ยาปฏิชีวนะ rifampicin สามารถป้องกันการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงได้สูงสุด โดยการแช่ชิ้นส่วนในสารละลาย rifampicin ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการฟอกฆ่าเชื้อ และเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ทดสอบละลาย rifampicin ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ทับบนอาหารกึ่งแข็งมีการปนเปื้อนต่ำสุด 6.7 เปอร์เซ็นต์

3. AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ สามารถลดการหลุดร่วงของใบของกล้วยไอ้พอน กล้วยหมูสัง และพืพวนน้อยได้ ทำให้ยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีลักษณะปกติ โดยสามารถลดการหลุดร่วงของใบในกล้วยไอ้พอนและกล้วยหมูสังได้ 80 และ 81.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4. การเติม AgNO_3 ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอด ความยาวยอดและจำนวนข้อของยอดหลักของกล้วยไอ้พอน ส่วนในกล้วยหมูสัง การเติม AgNO_3 ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอด แต่มีผลต่อความยาวยอดและจำนวนข้อของยอดหลัก โดยทำให้ยอดมีความยาวและจำนวนข้อของยอดหลักเพิ่มขึ้น

5. BA ความเข้มข้น 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนของกล้วยไอ้พอน และพืพวนน้อยเกิดยอดได้สูงสุด มีจำนวนยอด 2.1-2.3 ยอด และ 1.8-2.1 ยอดตามลำดับ และ BA ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนของกล้วยหมูสังเกิดยอดได้สูงสุด มีจำนวนยอด 4.2 ยอด

6. อาหารที่ไม่เติม BA ทำให้ยอดของกล้วยไอ้พอน กล้วยหมูสัง และพืพวนน้อยมีความยาวสูงสุด ความเข้มข้นของ BA มีผลต่อความยาวยอดของกล้วยไอ้พอนและพืพวนน้อย เมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้น (5-20 ไมโครโมลาร์) จะมีผลยับยั้งความยาวยอด แต่ไม่มีผลต่อความยาวยอดของกล้วยหมูสัง

7. BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดกล้วยไ้พอนมีความยาวสูงสุด 1.37 เซนติเมตร และยอดหลักมีจำนวนข้อมากที่สุด 4.3 ข้อ

8. TDZ ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ขึ้นส่วนของกล้วยไ้พอนเกิดยอดได้สูงสุด 2.6 ยอด TDZ ที่ความเข้มข้น 0 และ 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดมีความยาวสูงสุด 0.84 เซนติเมตร และ TDZ ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ยอดหลักมีข้อจำนวนมากที่สุด 4.1 ข้อ

9. การชักนำให้ขึ้นส่วนของยอดของกล้วยไ้พอนและกล้วยหมั่งเกิดรากด้วยวิธีการต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อยังไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ การชักนำรากกล้วยไ้พอนที่ทดลองในสภาพธรรมชาติ พบว่ามีเฉพาะ IBA ความเข้มข้น 8,000 ไมโครโมลาร์เท่านั้นที่สามารถชักนำให้ยอดของกล้วยไ้พอนเกิดรากได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 20 เปอร์เซ็นต์

10. ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกล้วยไ้พอน อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ มีคะแนนการเกิดแคลลัสสูงสุด 2.4 คะแนน แคลลัสที่เกิดขึ้นไม่เกิดการพัฒนารูปโครงสร้างอื่น ๆ

11. ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพิพวนน้อย อาหารที่เติม BA เพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ หรือที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 10 หรือ 20 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ โดยอาหารสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ มีคะแนนการเกิดการเปลี่ยนแปลงสูงสุด 2.6 คะแนน การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นคือเกิดโครงสร้างรูปกลมบนแผ่นใบ

12. โครงสร้างรูปกลมที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนใบพิพวนน้อยมี 2 ลักษณะ ส่วนมากเป็นการเกิดโครงสร้างรูปกลม (nodule) โดยกระบวนการเกิดอวัยวะ (organogenesis) ซึ่งสามารถพัฒนาเกิดเป็นยอดขนาดเล็กขึ้นโดยตรงจากชิ้นส่วนใบ และโครงสร้างรูปกลมบางส่วนเป็นไซมาติกเอ็มบริโอระยะ globular ที่เกิดจากกระบวนการเกิดไซมาติกเอ็มบริโอ (embryogenesis)

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กมล ปล้องใหม่. 2544. การศึกษาอนุกรมวิธานของพรรณไม้วงศ์น้อยหน่าในพื้นที่บางส่วนของอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่จังหวัดนครราชสีมา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กองเลขานุการโครงการบีอาร์ที. 2541. พรรณไม้วงศ์กระดังงา, น. 19-21. ใน รายงานประจำปี 2541. โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

จำลอง เฟื่องคล้าย, จรัส จ. เจริญผล, ลีนา ผู้พัฒนพงศ์และธวัชชัย สันติสุข. 2515. ไม่มีค่าทางเศรษฐกิจไทย ตอนที่ 1. ทำเนียบนายกรัฐมนตรี, กรุงเทพฯ.

_____, ขวลิต นิยมธรรม และวิวัฒน์ เอื้อจิรกาล. 2534. พรรณไม้ป่าพรุ จังหวัดนราธิวาส. ส. สมบูรณ์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ณรงค์ ภูณขุนทด. 2544. การศึกษาอนุกรมวิธานของพรรณไม้วงศ์น้อยหน่าในป่าตะวันออก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทอม แม่โจ้. 2546. ทิศทางการเกษตร ตอน สุมาลิถัง สายพันธุ์ไม้ป่าดอกสวย. หนังสือพิมพ์เดลินิวส์, 31 พฤษภาคม 2546.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2537. ไมโครเทคนิคทางพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2544. พรรณไม้วงศ์กระดังงา. สำนักพิมพ์บ้านและสวน, กรุงเทพฯ.

- _____, พงษ์ศักดิ์ พลเสนา และชัยวัฒน์ บุญฝึก. 2545. การรวบรวมและจำแนกพรรณไม้วงศ์กระดังงา, น. 25-35. ใน วิสุทธิ์ ใบไม้, บรรณาธิการ. รายงานการวิจัยในโครงการบิอาร์ที่ 2545. โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย. โรงพิมพ์ชวนชม, กรุงเทพฯ.
- พัชรชาติ วัฒนวิทย์กิจ. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเอกลักษณ์บางชนิดในพระบรมมหาราชวัง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พีรเดช ทองอำไพ. 2529. ฮอรัโมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. ห้างหุ้นส่วนจำกัดไดนามิกการพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- มณฑิรา สาลักษณ์. 2531. การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดหุบ. ปัญหาพิเศษปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รังสฤษฎ์ กาวิตะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ราชบัณฑิตยสถาน. 2538. อนุกรมวิธานพืชอักษร ก. เพื่อนพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- รุจิพร ประทีปเสน. 2541. การเตรียมตัวอย่างสำหรับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ลิลลี่ กาวิตะ, มาลี ณ นคร, ศรีสม สุวรรณวงศ์ และสุริยา ดันติวัฒน์. 2549. สรีรวิทยาของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วงศ์สถิตย์ ฉั่วสกุล, พร้อมจิต ศรีลัมพ์ และสมภพ ประธานธูราษฎร์. 2543. สยามไภษัชยพฤกษ์. สารานุกรมสมุนไพร เล่ม 2. ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

วินิจ พลศักดิ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประยงค์ (*Aglaia odorata* Lour.) และการเปรียบเทียบ
สารทุติยภูมิที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับต้นที่พบในสภาพธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์
ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สัมฤทธิ์ เพื่องจันทร์. 2544. สรีรวิทยาการพัฒนารากพืช. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, กรุงเทพฯ.

สุธี ต้นสกุล. 2541. การขยายพันธุ์โสมซ้อนโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุพินญา คำจอร์. 2540. การขยายพันธุ์มะตูมโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภาวดี น้ำหอมจันทร์. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลำตวน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุริย์พร เจริญประเสริฐ. 2534. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดและการเจริญเติบโตของยอดจากข้อส้อมโอที่
เลี้ยงในสภาพหลอดแก้ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศุภโชค เดชะราช. 2540. การศึกษาอนุกรมวิธานของพรรณไม้วงศ์น้อยหน่าในเขตรักษาพันธุ์สัตว์
ป่าเขาอ่างฤๅไน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อঞ্জริยา มณีน้อย. 2538. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการใช้อะโกรแบคทีเรียช่วยถ่ายจีนในพืชสกุล
ส้ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อิสรา วงศ์ข้าหลวง. 2539. การอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพกับแผนปฏิบัติการวาระที่ 21,
น. 17-35. ใน ความหลากหลายแห่งชีวิต. โครงการจัดตั้งศูนย์ศึกษาความหลากหลายทาง
ชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Arteca, R.N. 1996. **Plant Growth Substances: Principles and Applications.** Chapman and
Hall, New York.

- Attree, S.M. and L.C. Fowke. 1991. Micropropagation through somatic embryogenesis in conifers, pp. 53-70. *In* Y.P.S. Bajaj, ed. **Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 17 High-Tech and Micropopagation I**. Springer, Berlin.
- Backer, C.A. and B.V.D. Brink. 1963. Annonaceae. **Flora of Java** 1: 100-116.
- Bajaj, Y.P.S. 1991. Automated micropropagation for en masse production of plants, pp. 1-16. *In* Y.P.S. Bajaj, ed. **Biotechnology in Agriculture and Forestry vol. 17 High-Tech and Micropopagation I**. Springer, Berlin.
- Bayer, E.M. 1976. Apotent inhibitor of ethylene action in plants. **Plant Physiol.** 58: 268-271.
- Bejoy, M. and M. Hariharan. 1992. *In vitro* plantlet differentiation in *Annona muricata*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 31: 245-247.
- Bhagawat, B., L.G.E. Vieira and L.R. Erickson. 1996. Stimulation of *in vitro* shoot proliferation from nodal explants of cassava by thidiazuron, benzyladenine and giberrellic acid. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 46: 1-7.
- Bridg, H. 2000. Micropropagation and determination of the *in vitro* stability of *Annona cherimola* Mill. and *Annona muricata* L. Available Source: <http://dochoost.rz.hu-berlin.de/dissertationen/bridg-hennia-2000-03-24/HTML/bridg.html>, March 24, 2000.
- Buddendorf-Joosten, J.M.C. and E.J. Woltering. 1994. Components of the gaseous environment and their effects on plant growth and development *in vitro*, pp. 165-190. *In* P.J. Lumsden, J.R. Nichlas and W.J. Davies, eds. 1994. **Physiology, Growth and Development of Plant in Culture**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

- Castro M., C.Ricardo and B. Lorena. 1999. Evaluation of three disinfection protocols and three protocols for the use of anti-oxidants in *in vitro* cultivation of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) and the quantitative determination of branch phenolic content. **Acta Hort.** 497: 303-307.
- Chakravarty, B. and B.C, Goswami. 1999. Plantlet regeneration from long-term callus cultures of *Citrus acida* Roxb. and the uniformity of regenerated plants. **Sci. Hortic.** 82: 159-169.
- Chandra, I. and P. Bhanja. 2002. Study of organogenesis *in vitro* from callus tissue of *Flacourtia jangomas* (Lour.) Raeusch through scanning electron microscopy. **Current Sci.** 83: 476-479.
- Chaturvedi, R., M.K., Razdan and S.S. Bhojwani. 2004. *In vitro* clonal propagation of an adult tree of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) by forced axillary branching. **Plant Sci.** 166: 501-506.
- Chitra, D.S.V. and G. Padmaja. 1999. Clonal propagation of mulberry (*Morus indica* L. cultivar M-5) through *in vitro* culture of nodal explants. **Sci. Hortic.** 80: 289-298.
- _____ and _____. 2005. Shoot regeneration via direct organogenesis from *in vitro* derived leaves of mulberry using thidiazuron and 6-benzylaminopurine. **Sci. Hortic.** 106: 593-602.
- Collin, H.A. and S. Edwards. 1998. **Plant Cell Culture**. BIOS Scientific Publishers Limited, Guildford.
- Debnath, S.C. 2005. A two-step procedure for adventitious shoot regeneration from *in vitro* derived Lingonberry leaves: shoot induction with TDZ and shoot elongation using zeatin. **HortScience** 40: 189-192.

- Economou, A.S. and M.J. Spanoudaki. 1986. The influence of cytokinins and gibberellic acid on gardenia tissue cultures. **Sci. Hortic.** 29: 155-161.
- Encina, C.L., A. Barcelo-Munoz, A. Herrero-Castano and F. Pliego-Alfaro. 1994. *In vitro* morphogenesis of juvenile *Annona cherimola* Mill. bud explant. **J. Hortic. Sci.** 69: 1053-1059.
- Farooq, S.A., T.T. Farooq and T.V. Rao. 2002. Micropropagation of *Annona squamosa* L. using nodal explants. **Pakis. J. Biol. Sci.** 5(1): 43-46.
- Fasolo, G.H., Zimmerman, R.H. and I. Fordham. 1989. Adventitious shoot formation on excised leaves of in vitro grown shoots of apple cultivars. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 16: 75-87.
- George, A.P. and R.J. Nissen. 1987. Propagation of *Annona* species: a review. **Sci. Hortic.** 33: 75-85.
- Goh, C.J., S.K. Ng, P. Lakshmanan and C.S. Loh. 1997. The role of ethylene on direct shoot bud regenerate from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) leaves cultured *in vitro*. **Plant Sci.** 124: 193-202.
- Goodwin, T.W. and E.I. Mercer. 1983. **Introduction to Plant Biochemistry**. Pergamon Press, New York.
- Hamama, L., M. Baaziz and R. Letouze. 2001. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf tissue of jojoba. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 65: 109-113.
- Hoque, M.I., F. Hassan, H. Kiesecker and H.J. Jacobsen. 2004. Tissue culture studies in lentil (*Lens culinaris* Medik), pp. 273-283. In A. Mujib, ed. **In Vitro Application in Crop Management**. Science Publishers, Inc., New Hampshire.

- 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.
- Hutchinson, J. 1964. **The Genera of Flowering Plants.** Oxford University Press, Oxford.
- Jain, A., A. Kantia and S.L. Kothari. 2001. *De novo* differentiation of shoot buds from leaf-callus of *Dianthus caryophyllus* L. and control of hyperhydricity. **Sci. Hortic.** 87: 319-326.
- _____, G.R. Rout and S.N. Raina. 2002. Somatic embryogenesis and plant regeneration from callus cultures of *Phlox paniculata* Linn. **Sci. Hortic.** 94: 137-143.
- Jiang, B., Y.G. Yang, Y.M. Guo, Z.C. Guo and Y.Z. Chen. 2005. Thidiazuron-induced *in vitro* shoot organogenesis of the medicinal plant *Arnebia eachroma* (Royle) Johnston. **In Vitro Cell. Dev. Biol.** 41: 677-681.
- Kandasamy, K, S. Mantell, J. Blake, D. Newton, R. Harris and S. Ferris. 1995. **Unit for Advanced Propagation: The UAPS Manual vol. 1 Plant Tissue Culture Procedures Systems.** Wye College University of London, London.
- Karam, N.S. and M. Al-Majathoub. 2000. *In vitro* shoot regeneration from mature tissue of wild *Cyclamen persicum* Mill. **Sci. Hortic.** 86: 323-333.
- Kessler, P.J.A. 1993. Annonaceae, pp. 93-129. In K. Kubitzki, J.G. Rohrer and V. Bittrich, eds. **The Families and Genera of Vascular Plants vol. 2 Flowering Plants : Dicotyledons.** Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin.
- Kevers, C., N. Boyer, J.C. Courduroux and T. Gasper. 1992. The influence of ethylene on proliferation and growth of rose shoot cultures. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 28: 175-181.

- Khawar, K.M., C. Sancak, S. Uranbey and S. Ozcan. 2004. Effect of thidiazuron on shoot regeneration from different explants of lentil (*Lens culinaris* Medik.) via organogenesis. **Turk. J. Bot.** 28: 421-426.
- Kintzios, S., Er. Stavropoulou and S. Skamneli. 2004. Accumulation of selected macronutrients and carbohydrates in melon tissue cultures: association with pathways of *in vitro* dedifferentiation and differentiation (organogenesis, somatic embryogenesis). **Plant Sci.** 167: 655-664.
- Kotsias, D. and P.A. Roussos. 2001. An investigation on the effect of different plant growth regulating compounds in *in vitro* shoot tip and node culture of lemon seedlings. **Sci. Hortic.** 89: 115-128.
- Krug, M.G.Z., L.C.L. Stipp, A.P.M. Rodriguez and B.M.J. Mendes. 2005. *In vitro* organogenesis in watermelon cotyledons. **Pesq. Agropec. Bras.** 40: 861-865.
- Lemos, E.E.P. and J. Black. 1994. Leaf abscission in micropropagated sugar apple (*Annona squamosa* L.), pp. 227-232. In P.J. Lumsden, J.R. Nicholas and W.J. Davies, eds. **Physiology, Growth and Development of Plants in Culture**. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- _____ and _____. 1996 a. Control of abscission in nodal cultures of *Annona squamosa* L. **J. Hortic. Sci.** 71: 712-728.
- _____ and _____. 1996 b. Micropropagation of juvenile and adult *Annona squamosa* L. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 46: 77-79.
- _____ and _____. 1996 c. Micropropagation of juvenile and mature *Annona muricata* L. **J. Hortic. Sci.** 71: 395-403.

- Li, X., S.F. Krasnyanski and S.S. Korban. 2002. Somatic embryogenesis, secondary somatic embryogenesis and shoot organogenesis in *Rosa*. **J. Plant. Physiol.** 159: 313-319.
- Lyndon, R.F. 1990. **Plant Development: The Cellular Basis**. Unwin Hyman, London.
- Maggon, R. and B.D. Singh. 1995. Promotion of adventitious bud regeneration by ABA in combination with BAP in epicotyl and hypocotyls explants of sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Sci. Hortic.** 63: 123-128.
- Maldonado, G.C.R. and M.C. Ramirez. 2001. Explant for *in vitro* establishment of soursop (*Annona muricata* L.). **Rev. fac. Agron.** 18: 258-265.
- Malik, K.A. and P.K. Sexena. 1992. Thidiazuron induces high-frequency shoot regeneration in intact seedlings of pea (*Pisum sativum*) chickpea (*Cicer arietinum*) and lentil (*Lens culinaris*). **Aust. J. Plant Physiol.** 19: 731-740.
- Martinez-Cayuela, M., L. Sanchez de Medina, M.J. Faus and A. Gil. 1988. Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.): polyphenoloxidase: monophenolase and dihydroxyphenolase activities. **J. Food Sci.** 53: 1191-1194.
- McCown, B.H. and J.C. Sellmer. 1987. General media and vessels suitation for woody plant culture, pp. 4-16. In J.M. Bonga and D.J. Durzan, eds. **Cell and Tissue Culture in Forestry vol. 1**. Martinus Publishers, Dordrecht.
- Miranda, J., M.N. Korschuh, E.C. Yeung and C.C. Chinnappa. 1999. *In vitro* plantlet regeneration from hypocotyls explants of *Stellaria longipes* (Caryophyllaceae). **Can. J. Bot.** 77: 318-322.

- Mohiuddin, A.K.M., M.K.U. Chowdhury, Z.C. Abdullah and S. Napis. 1997. Influence of silver nitrate (ethylene inhibitor) on cucumber *in vitro* shoot regeneration. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 51: 75-78.
- Mok, D.W.S. and M.C. Mok. 1994. **Cytokinins: Chemistry, Activity and Function.** CRC Press, Inc., Florida.
- Mollers C., S.Zhang and G. Wenzel. 1992. The influence of silver thiosulfate on potato protoplast culture culture. **Plant Breeding** 108: 12-18.
- Monteuuis, O. and M.C. Bon. 2000. Influence of auxins and darkness on *in vitro* rooting of micropropagated shoots from mature and juvenile *Acacia mangium*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 63: 173-177.
- Moore, T.C. 1989. **Biochemistry and Physiology of Plant Hormones.** Springer-Verlag, New York.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15:473-497.
- Murthy, B.N.S., S.J. Murch and P.K. Sexena. 1998. Thidiazuron: a potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. **In Vitro Cell. Dev. Biol.** 34: 267-275.
- Nagori, R. and S.D. Purohit. 2004. *In vitro* plantlet regeneration in *Annona squamosa* through direct shoot bud differentiation on hypocotyl segments. **Sci. Hortic.** 99: 89-98.
- Nair, R.R. and S.D. Gupta. 2006. High-frequency plant regeneration through cyclic secondary somatic embryogenesis in black pepper (*Piper nigrum* L.). **Plant Cell Rep.** 24: 699-707.

- Nair, S, P.K. Gupta and A.F. Mascarenhas. 1984 a. *In vitro* propagation of annona hybrid (*A. cherimola* Mill. × *A. squamosa* L.). **Indian J. Hort.** 41: 160-165.
- _____, _____, M. V. Shirgurkar and A.F. Mascarenhas. 1984 b. *In vitro* organogenesis from leaf explants of *Annona squamosa* L. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 3: 29-40.
- Omura, M., N. Matsuta, T. Moriguchi and Kozaki I. 1987. Adventitious shoot and plantlet formation from cultured pomegranate leaf explants. **HortScience** 22: 133-134.
- Padilla, I.M.G. and C.L. Encina. 2004. Micropropagation of adult cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) cv. Fino de jete. **In Vitro Cell. Dev. Biol.** 40: 210-214.
- Pedroso, M.C. and M.S. Pais. 1993. Direct embryo formation in leaves of *Camillia japonica* L. **Plant Cell Rep.** 12: 639-643.
- Philips, R., S.M. Arnot and S.E. Kaplan. 1981. Antibiotics in plant tissue cultures: rifampicin effectively controls bacterial contaminants without affecting the growth of short-term explant cultures of *Helianthus tuberosus*. **Plant Sci. Lett.** 21: 235-240.
- Phillips, G.C., J.F. Hubstenberger and E.E. Hansen. 1995. Plant regeneration by organogenesis from callus and cell suspension cultures, pp. 67-79. In O.L. Gamborg and G.C. Phillips, eds. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. Springle-Verleg Berlin Heidelberge, New York.
- Pierik, R.L.M. 1998. **In Vitro Culture of Higher Plants**. 4th ed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Pirinc, V., A. Onay and H. Yildirim. 2003. Adventitious shoot organogenesis and plant regenerate from cotyledons of diploid diyarbakir watermelon (*Citrullus lanatus* cv. Surme). **Turk J. Biol.** 27: 101-105.

- Plongmai, K. 2001. Taxonomic Study of Family Annonaceae in Some Area of Khao Yai National Park Chang Wat Nakorn Ratchasima. M.S. Thesis, Kasetsart University. Bangkok. (in Thai) Cited P. Poonsaward. 1993. **Comparative Ecology of Sympatric Hornbills (Bucerotidae) in Thailand**. Ph. D. thesis, Osaka City University, Osaka.
- Pollock, K., D.G. Barfield and R. Shields. 1983. The toxicity of antibiotics to plant cell cultures. **Plant Cell Rep.** 2: 36-39.
- Purnhauser, L., P. Medgyesy, M. Czako and P.J. Dix. 1987. Stimulation of shoot regeneration in *Triticum aestivum* and *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. tissue cultures using the ethylene inhibitor AgNO₃. **Plant Cell Rep.** 6: 1-4.
- Purohit, S.D. and A. Singhvi. 1998. Micropropagation of *Achras sapota* through enhanced axillary branching. **Sci. Hortic.** 76: 219-229.
- Raemakers, C.J.J.M., E. Jacobsen and R.G.F. Visser. 1995. Secondary somatic embryogenesis and applications in plant breeding. **Euphytic.** 81: 93-107.
- _____, M. Amati, G. Staritsky, E. Jacobsen and R.G.F. Visser. 1993. Cyclic somatic embryogenesis and plant regeneration in cassava. **Ann. Bot.** 71: 289-294.
- Rasai, S., A.S. Kantharajah and W.A. Dodd. 1994. The effect of growth regulators, source of explants and irradiance on *in vitro* regeneration of atemoya. **Aust. J. Bot.** 42: 333-340.
- _____, A.P. Gource and A.S. Kantharajah. 1995 a. Tissue culture of *Annona* spp. (cherimoya, atemoya, sugar apple and soursop): A review. **Sci. Hortic.** 62:1-14.

- _____, _____ and _____. 1995 b. Tissue culture of *Annona* spp. (cherimoya, atemoya, sugar apple and soursop): A review. **Sci. Hortic.** 62: 1-14. Cited M. Jordan. 1988. Multiple shoot formation and rhizogenesis from cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) hypocotyls and petiole explants. **Gartenbauwissenschaft** 53: 234-237.
- _____, _____ and _____. 1995 c. Tissue culture of *Annona* spp. (cherimoya, atemoya, sugar apple and soursop): A review. **Sci. Hortic.** 62: 1-14. Cited M. Jordan, L. Iturriaga, C. Roveraro and A. Goreux. 1991. Promotion of *Annona cherimola* Mill. *in vitro* shoot morphogenesis as influenced by antioxidants. **Gartenbauwissenschaft** 56: 224-227.
- Reid, M.S. 1995. Ethylene in plant growth, Development and senescence, pp. 486-508. In P.J. Davies, ed. **Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology**. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Ridley, H.N. 1922. **Annonaceae**. The Flora of the Malay Peninsula 1: 21-101.
- Rout, G.R., S. Samantaray and P. Das. 2000. *In vitro* somatic embryogenesis from callus cultures of *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard. **Sci. Hortic.** 86: 71-79.
- Rumyantseva, N.I., V.V. Sal'nikov and V.V. lebedeva. 2005. Structure changes of cell surface in callus of *Fagopyrum esculentum* Moench. during induction of morphogenesis. **Russ. J. Plant Physiol.** 52: 381-387.
- Sanchez, M.C., M.C. San-Jose, A. Ballester and A.M. Vieitez. 1996. Requirements for *in vitro* rooting of *Quercus robur* and *Q. rubra* shoots derived from mature trees. **Tree Physiol.** 16: 673-680.
- Sankhla, D., T.M. Davis and N. Sankhla. 1996. *In vitro* regeneration of silk tree (*Albizzia julibrissin*) from excised roots. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 44: 83-86.

- Sarwar, M. and R.M. Skirvin. 1997. Effect of thidiazuron and 6-benzylaminopurine on adventitious shoot regeneration from leaves of three strains of 'McIntosh' apple (*Malus domestica* Borkh.) *in vitro*. **Sci. Hortic.** 68: 95-100.
- Seabrook, J.E.A. 1980. Laboratory culture, pp. 1-20. In E.J. Staba, ed. **Plant Tissue as a Source of Biochemicals**. CRC Press, Inc., Florida.
- Shan, X., L.I. Desen and Q.C. Rongda. 2000. Thidiazuron promotes *in vitro* regeneration of wheat and barley. **In Vitro Cell. Del. Biol.** 36: 307-310.
- Sharp, W.R., M.R. Sondahl, L.S. Caldas and S.B. Maraff. 1980. The physiology of *in vitro* asexual embryogenesis. **Hortic. Rev.** 2: 268-310.
- 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.
- Singh, S.K. and M.M. Syamal. 2001. A short pre-culture soak in thidiazuron or forchlorfenuron improves axillary shoot proliferation in rose micropropagation. **Sci. Hortic.** 91: 169-177.
- Smet, S.D., P.V. Damme, X. Scheldeman and J. Romero. 1999. Seed structure and germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). **Acta Hort.** 497: 269-278.
- Southworth, D. and S. Kwiatkowski. 1991. Somatic embryogenesis from immature embryos in meadowfoam (*Limnantes alba*). **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 24: 193-198.
- Sriskandarajah, S., M.G. Mullins and Y. Nair. 1982. Introduction of adventitious rooting *in vitro* in difficult-to-propagation cultivars of apple. **Plant Sci. Lett.** 24: 1-9.

- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. **Plant Physiology**. 3rd ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland.
- Talaro, K. and A. Talaro. 1993. **Microbiology**. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque.
- Tazzari, L., P. Pestelli, P. Fiorino and G. Parri. 1990. Propagation techniques for *Annona cherimola* Mill. **Acta Hort.** 275: 315-321.
- Trevisan, F., B. Madalena and J. Mendes. 2005. Optimization of *in vitro* organogenesis in passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicapa*). Sci. Agric. 62 No. 4. Available Source: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=SO103-90162005000400007&script=sci_a , February 2, 2000.
- Vila, S., A. Gonzalez, H. Rey and L. Mroginski. 2003. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryos of *Melia azedarach* (Meliaceae). **In Vitro Cell. Dev. Biol.** 39: 283-287.
- Volk, W.A. 1992. **Basic Microbiology**. 7th ed. Harper Collins Publishers, New York.
- Vyas ,M. and Y.K. Bansal. 2004. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration in semul (*Bombax ceiba*). **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 79: 115-118.
- Wiedemann, B. and H. Grimm. 1996. Susceptibility to antibiotics: species incidence and trends, pp. 900-1168. In V. Lorian, ed. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. 4th ed. Williams and Wilkins, Maryland.
- Xie, D. and Y. Hong. 2001. *In vitro* regeneration of *Acacia mangium* via organogenesis. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 66: 167-173.

- Yancheva, S.D., S. Golubowicz, E. Fisher, S. Lev-Yadun and M.A. Flaishman. 2003. Auxin type and timing of application determine the activation of the developmental program during *in vitro* organogenesis in apple. **Plant Sci.** 165: 299-309.
- Zobayed, S.M.A., J. Armstrong and W. Armstrong. 2002. Multiplication shoot and leaf and flower bud abscission of *Annona* cultures as affected by types of ventilation. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 69: 155-165.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 องค์ประกอบอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

ชื่อสารเคมี	มิลลิกรัมต่อลิตร
<u>Macroelements</u>	
NH_4NO_3	1,650.00
KNO_3	1,900.00
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440.00
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370.00
KH_2PO_4	170.00
<u>Microelements</u>	
H_3BO_3	6.20
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	16.90
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6.14
KI	0.83
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
Na_2EDTA	37.25
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
<u>Organic compounds</u>	
Glycine	2.00
Myo-inositol	100.00
Nicotinic acid	0.50
Pyridoxine-HCl	0.50
Thiamine-HCl	0.10
Sucrose	30,000.00
Agar	8,000.00
pH	5.7-5.8

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	9	62.8167	6.9796	18.06 **
conc.BA (C)	4	62.3667	15.5917	40.33 **
AgNO_3 (A)	1	0.1633	0.1633	<1
C×A	4	0.2867	0.0717	<1
Error	290	112.1024	0.3866	
Total	299	174.9191		

CV = 34.9%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ BA = 0.22

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	9	4.5314	0.5035	8.74 **
conc.BA (C)	4	4.5059	1.1265	19.56 **
AgNO_3 (A)	1	0.0024	0.0024	<1
C×A	4	0.0232	0.0058	<1
Error	290	16.7004	0.0576	
Total	299	21.2318		

CV = 38.9%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ BA = 0.09

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	9	14.5633	1.6181	2.16 **
conc.BA (C)	4	11.9467	2.9867	3.98 **
AgNO_3 (A)	1	1.7633	1.7633	2.35 ^{ns}
C×A	4	0.8533	0.2133	<1
Error	290	217.6333	0.7504	
Total	299	232.1967		

CV = 33.4%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ BA = 0.31

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{ns} = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยหมูลังบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	9	170.1333	18.9037	20.07 **
conc.BA (C)	4	165.8000	41.4500	44.01 **
AgNO_3 (A)	1	0.4267	0.4267	<1
C×A	4	3.9067	0.9767	1.04 ^{ns}
Error	140	131.8673	0.9419	
Total	149	302.0006		

CV = 34.7%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ BA = 0.50

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{ns} = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวรอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยหมูลังบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	9	6.9710	0.7746	6.25 **
conc.BA (C)	4	1.2022	0.3005	2.42 ^{ns}
AgNO_3 (A)	1	5.4036	5.4036	43.57 **
C×A	4	0.3653	0.0913	<1
Error	140	17.3614	0.1240	
Total	149	24.3325		

CV = 43.3%

$\text{LSD}_{0.05}$ การเติมและไม่เติม AgNO_3 = 0.11

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{ns} = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยหมี่บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	9	127.1267	14.1252	10.16 **
conc.BA (C)	4	26.0933	6.5233	4.69 ^{ns}
AgNO_3 (A)	1	85.1267	85.1267	61.22 **
C×A	4	15.9067	3.9767	2.86 *
Error	140	194.6667	1.3905	
Total	149	321.7933		

CV = 32.7%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ BA (C) = 0.60

$\text{LSD}_{0.05}$ การเติมและไม่เติม AgNO_3 (A) = 0.38

$\text{LSD}_{0.05}$ C×A = 0.85

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

* = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{ns} = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของฟิพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการ AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
conc.BA	4	17.0476	4.2619	10.89 **
Error	100	39.1432	0.3914	
Total	104	56.1909		

CV = 41.1%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ BA = 0.38

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของฟิพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
conc.BA	4	1.2437	0.3109	6.17 **
Error	100	5.0394	0.0504	
Total	104	6.2832		

CV = 51.2%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ BA = 0.14

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของ
 พืชน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบน
 อาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
conc.BA	4	6.6286	1.6571	2.28 ^{ns}
Error	100	72.7619	0.7276	
Total	104	79.3905		

CV = 51.2%

^{ns} = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไม้พอน
 บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม
 AgNO_3 และเติม GA_3 ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์
 แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
conc. GA_3	3	10.3093	3.4364	16.15 **
Error	116	24.6881	0.2128	
Total	119	34.9974		

CV = 46.8%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ GA_3 = 0.24

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 และเติม GA_3 ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
conc. GA_3	3	40.4917	13.4972	12.30 **
Error	116	127.3000	1.0974	
Total	119	167.7917		

CV = 29.6%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ GA_3 = 0.54

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
conc.TDZ	4	39.1904	9.7976	21.02 **
Error	145	67.6011	0.4662	
Total	149	106.7915		

CV = 36.8%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ TDZ = 0.35

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
conc.TDZ	4	1.8374	0.4593	2.65 *
Error	145	25.1080	0.1732	
Total	149	26.9454		

CV = 56.8%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ TDZ = 0.21

* = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
conc.TDZ	4	45.5733	11.3933	7.55 **
Error	145	218.7000	1.5083	
Total	149	264.2733		

CV = 36.6%

$\text{LSD}_{0.05}$ ความเข้มข้นของ TDZ = 0.63

** = แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์