



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์)

ปริญญา

พฤกษศาสตร์

พฤกษศาสตร์

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นสร้อยสยาม

In vitro culture of *Bauhinia siamensis* K. & S. S. Larsen sp. nov.

นางสาวผู้วิจัย นางสาวฐิติมา ชาราวุฒิ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์มาลี ณ นคร, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์สุรียา ตันติวิวัฒน์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์สุรียา ตันติวิวัฒน์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นสร้อยสยาม

In vitro culture of *Bauhinia siamensis* K. & S. S. Larsen *sp. nov.*

โดย

นางสาวฐิติมา ชาราวุฒิ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์)

พ.ศ. 2552

ฐิติมา ชาราวุฒิ 2552: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นสร้อยสยาม ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์) สาขาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์มาลี ณ นคร, Ph.D. 64 หน้า

การชักนำยอดของสร้อยสยาม โดยนำชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 จากต้นกล้าที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อ มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์ พบว่า BA ไม่สามารถกระตุ้นให้ข้อเพิ่มปริมาณยอดได้ แต่ BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดมีความยาวเฉลี่ยมากที่สุด 1.26 เซนติเมตร มีจำนวนข้อเฉลี่ย 4.18 ข้อ และลำดับข้อที่ 6 นับจากปลายยอด ให้ยอดที่มีความยาวมากที่สุด 1.29 เซนติเมตร และมีข้อ 4.4 ข้อ การทดลองต่อจากนี้จึงใช้ชิ้นส่วนข้อที่ 6 ในการศึกษาผลของ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ เพียงชนิดเดียว หรือ ใช้ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ในการเพิ่มปริมาณยอด พบว่าบนอาหารทั้งที่เติม TDZ อย่างเดียว หรือ ร่วมกับ BA ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอด จึงศึกษาผลของถ่านกัมมันต์ต่อการเพิ่มปริมาณยอดโดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างกัน 4 ชนิด บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร นาน 6 สัปดาห์ พบว่าการไม่เติมถ่านกัมมันต์มีผลกระตุ้นให้ชิ้นส่วนต่างๆ เพิ่มปริมาณยอดได้ โดยเมื่อเลี้ยงกิ่งยาวประมาณ 6 เซนติเมตร บนอาหารที่เติม BA 5 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอดมากที่สุด 26.9 ยอด สำหรับชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 และยอด (ยาวประมาณ 2 เซนติเมตร) พบว่าที่ BA ความเข้มข้น 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้เพิ่มจำนวนยอดได้มากที่สุด 3.0 (ข้อลำดับที่ 6) และ 9.3 (ยอดยาว 2 เซนติเมตร) ยอด ตามลำดับ และในการเลี้ยงข้อไปเลี้ยง พบว่าที่ BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุด 12.6 ยอด ในการชักนำรากของสร้อยสยาม โดยเลี้ยงยอดที่ยาวประมาณ 4 เซนติเมตร ที่ได้จากต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA หรือ IBA ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ หรือจุ่มโคนยอดลงในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที และจุ่มในสารเร่งรากเซราดิกชนิดผง จากนั้นเลี้ยงบนอาหารแข็ง MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าต้นสร้อยสยามที่จุ่มโคนยอดลงในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที ชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด 70 เปอร์เซ็นต์ และได้จำนวนราก 3.2 ราก หลังจากนั้นนำต้นสร้อยสยามย้ายปลูกลงในวัสดุผสมระหว่างทราย ขี้เถ้าแกลบและอิฐทุบ อัตราส่วน 1: 1: 1 และขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1 เป็นเวลา 30 วัน โดยรักษาความชื้นในระยะแรก พบว่าต้นสร้อยสยามที่ปลูกลงในวัสดุผสมระหว่างทราย ขี้เถ้าแกลบและอิฐทุบ มีอัตราการรอดชีวิต 20 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าในวัสดุปลูกขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว

Thitima Tharawoot 2009: *In vitro* culture of *Bauhinia siamensis* K. & S. S. Larsen *sp. nov.*
Master of Science (Botany), Major Field: Botany, Department of Botany. Thesis Advisor:
Associate Professor Malee Nanakorn, Ph.D. 64 pages.

In vitro shoot induction of *Bauhinia siamensis* K. & S. S. Larsen *sp. nov.* from 2nd - 6th nodal segments was conducted on MS medium containing 1 g/L activated charcoal (AC) and 0, 5, 10 and 15 μ M BA for 6 weeks. BA could not induce shoot multiplication but BA at 10 μ M gave the highest average shoot length of 1.26 cm with average number of 4.18 nodes. The 6th nodal gave the highest average shoot length of 1.29 cm with average number of 4.4 nodes. The following experiments were used 6th nodal *in vitro* shoots as the explant. The effect of TDZ at 0, 0.1, 0.25, 0.5 and 1 μ M in combination with 0 and 5 μ M BA on MS solid medium containing 1 g/L AC on shoot multiplication was investigated. The result showed that TDZ either alone or in combination with BA had no effect on shoot multiplication. Thus the study on the effect of activated charcoal on shoot multiplication of four different explant types were conducted using MS solid medium supplemented with 0, 5, 10 and 15 μ M BA and with or without 1 g/L AC for 6 weeks. It was found that the medium without AC could induce shoot multiplication. The highest average number of shoot was 26.9 shoots when cultured 6 cm height shoot on MS medium supplemented with 5 μ M BA. The 6th node with 2 cm height shoots, which placed on 5 and 10 μ M BA medium, gave the highest average number of shoot at 3.0 and 9.3 shoots, respectively. The average shoot number, 12.6 shoots, was obtained when cultured cotyledonary node on BA 10 μ M. For root induction, derived shoots at 4 cm height were placed on MS medium supplemented with NAA or IBA at 0, 1, 3 and 5 μ M or dipped the cut end of the shoots in NAA solution at the concentrations of 0, 2.6, 4.0 and 5.3 mM for 5 min or in powder of seradix[®] and implanted in free hormone MS media. It was found that dipping the cut end of shoots in 5.3 mM NAA solution gave the highest percentage of rooting at 70% and average root number of 3.2 roots. The plantlets were transplanted to two growing medium; sand: rice-hull ash: brick pieces (1: 1: 1) and rice-hull ash: coconut husk dust (1: 1), under high humidity condition at the initial stage. After 30 day, the plantlets grown in sand: rice-hull ash: brick pieces growing medium gave 20% survival rate which was higher than the plantlets grown in rice-hull ash: coconut husk dust.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. มาลี ณ นคร ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุรียา ตันติวิวัฒน์ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก และอาจารย์ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่ภาควิชาพฤกษศาสตร์และศูนย์รวบรวมพรรณไม้บ้านร่มเกล้าในพระราชดำริ จังหวัดพิษณุโลก ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ชี้แนะและสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่ ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ ชี้แนะและสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง

จิตติมา ธาราวุฒิ

2552

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(7)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	13
อุปกรณ์	13
วิธีการ	14
ผลและวิจารณ์	17
ผล	17
วิจารณ์	32
สรุปและข้อเสนอแนะ	41
สรุป	41
ข้อเสนอแนะ	42
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	43
ภาคผนวก	51
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	64

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความยาวของยอดใหม่ เมื่อเลี้ยงขึ้นส่วนข้อลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	19
2	จำนวนข้อของยอดใหม่ เมื่อเลี้ยงขึ้นส่วนข้อลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	19
3	ความยาวยอดและจำนวนข้อของยอดใหม่ เมื่อเลี้ยงขึ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียว หรือ ร่วมกับ BA 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	20
4	จำนวนยอดใหม่ เมื่อเลี้ยงกิ่งยาวประมาณ 6 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	21
5	จำนวนยอด เมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	23
6	ความยาวยอด เมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	24
7	จำนวนข้อ เมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	25
8	จำนวนยอด และเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส เมื่อเลี้ยงข้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	26

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
9	จำนวนยอดใหม่ และเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส เมื่อเลี้ยงยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	27
10	ผลของออกซินต่อการชักนำรากของยอดสร้อยสยาม	29
11	ผลของการจุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA นาน 5 นาที และเซราดิกซ์ต่อการชักนำรากของยอดสร้อยสยาม	30
12	การรอดชีวิตของสร้อยสยามที่ชักนำให้เกิดรากด้วยการจุ่มยอดลงในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที โดยย้ายปลูกในวัสดุปลูกผสมระหว่างจี้เถาแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1 และทราย: จี้เถาแกลบ: อิฐทุบ อัตราส่วน 1: 1: 1	31
ตารางผนวกที่		
1	องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)	52
2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงขึ้นส่วนข้อลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตรและเติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	53
3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงขึ้นส่วนข้อลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	53
4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงขึ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	54

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	54
6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียว นาน 6 สัปดาห์	55
7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียว นาน 6 สัปดาห์	55
8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงกิ่งของสร้อยสยามที่ยาวประมาณ 6 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	56
9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	56
10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	57
11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	57
12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	58

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	58
14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	59
15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	59
16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนรากของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอด บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	60
17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวรากของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอด บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	60
18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนรากของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอด บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	61
19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวรากของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอด บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	61
20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนรากของสร้อยสยามโดยจุ่มในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที แล้วเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 6 สัปดาห์	62

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
21	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวรากของสร้อยสยามโดยจุ่มในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที แล้วเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 6 สัปดาห์	62
22	ค่า pH ของอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0-1 ไมโครโมลาร์ หรือ BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ที่เติมและไม่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร pH 5.7 โดยวัดค่า pH ก่อนและหลังนั่งมาเชื้อ วัดทุกๆ 2 สัปดาห์	63

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะต้นสร้อยสยามที่ขึ้นอยู่ในสภาพธรรมชาติ (ก) ใบและหูใบ (ข) ช่อดอก (ค) ฝัก (ง) และเมล็ด (จ)	4
2 การเกิดยอดเมื่อเลี้ยงข้อลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	18
3 การเกิดยอด เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียว หรือร่วมกับ BA 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	21
4 การเกิดยอดเมื่อเลี้ยงกิ่งบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร (ก) หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ (ข) และลักษณะยอดเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์ กำลังขยาย $\times 1.6$ (ค) นาน 6 สัปดาห์	22
5 การเกิดยอด เมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยง บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ที่เติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร นาน 6 สัปดาห์	25
6 การเกิดยอดและแคลลัส เมื่อเลี้ยงข้อลำดับที่ 6 และยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์	28
7 การเกิดรากของยอดที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์	29
8 การเกิดรากของยอดที่จุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที และสารเร่งรากเซราดิกซ์ชนิดผง จากนั้นเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 6 สัปดาห์	30
9 ต้นสร้อยสยามที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูกซีเภาแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1 (ก) และทราย: ซีเภาแกลบ: อิฐทุบ อัตราส่วนส่วน 1: 1: 1 (ข)	31

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

BA	=	N ⁶ -benzyladenine
TDZ	=	thidiazuron
NAA	=	α -naphthaleneacetic acid
IBA	=	indole-3-butyric acid
MS	=	Murashige and Skoog
AC	=	activated charcoal
DP	=	Dustable powder

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นสร้อยสยาม

In Vitro Culture of Bauhinia siamensis K. & S. S. Larsen sp. nov.

คำนำ

พืชในวงศ์ Leguminosae-Caesalpinioideae หลายชนิด เป็นที่นิยมปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับ เช่น เลี้ยวดอกขาว อรพิม กาหลง โยทะกา เป็นต้น นอกจากนี้บางชนิดมีฤทธิ์ทางยารักษาโรค เช่น ชงโค (*Bauhinia purpurea* Linn.) ใบรักษาอาการไอ ดอกและรากเป็นยาระบาย ขับพิษไข้ รากต้มกินเป็นยาระบาย (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2537) *B. vahlii* Wight & Arnott รากและเปลือกมีฤทธิ์ทางยา (Upreti and Dhar, 1996) เกาขยัน (*B. strychnifolia* Craib) ลำต้นและรากเป็นยาบำรุงโลหิตสำหรับสตรีหลังคลอด (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2546) สำหรับสร้อยสยามหรือเลี้ยวแดง (*B. siamensis* K. & S. S. Larsen sp. nov.) เป็นไม้เลื้อยป่าถิ่นเดียวของไทย พบเฉพาะที่ภูเมี่ยง จ. พิชณุโลก ภาคเหนือตอนล่างของไทย ตามป่าเบญจพรรณที่มีไผ่หนาแน่นใกล้ทางน้ำไหล ที่ระดับความสูง 300 เมตร (Larsen and Larsen, 2002) ซึ่งเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ได้ง่ายเนื่องจากเป็นไม้ถิ่นเดียวและมีอยู่จำนวนน้อย เพิ่งถูกค้นพบและได้มีการเก็บตัวอย่างมาศึกษาโดยนักพฤกษศาสตร์กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช เมื่อปีพ.ศ. 2544 หลังจากตรวจสอบพบว่าเป็นพืชชนิดใหม่ (new species) และมีลักษณะเด่น คือ ช่อดอกห้อยลง สีชมพูอมขาวถึงสีชมพูคล้ายสร้อยคอ ยาว 75 เซนติเมตร ใบมีความสวยงาม กลีบเลี้ยงรูปปากเปิด และกิ่งอ่อนมีขนสีน้ำตาลแดง ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่เคยพบในสกุลของ *Bauhinia* มาก่อน (Larsen and Larsen, 2002) เนื่องจากมีดอกที่สวยงามสามารถพัฒนาให้เป็นไม้ประดับได้ ควรจะมีการนำมาขยายพันธุ์ เพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน และเป็นการส่งเสริมให้เป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลาย การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์พืชให้ได้ปริมาณมากและเป็นพื้นฐานงานวิจัยที่จะสามารถพัฒนาให้เป็นประโยชน์ในด้านต่างๆได้ต่อไป เช่น การปรับปรุงพันธุ์พืช นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยอนุรักษ์พันธุ์ไม้ป่านี้ไว้ไม่ให้สูญพันธุ์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาชิ้นส่วนที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนยอดสร้อยสยามโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2. เปรียบเทียบผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ต่อการเพิ่มจำนวนยอดสร้อยสยาม
3. เปรียบเทียบอิทธิพลของถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) และชนิดของชิ้นส่วนต่อการเพิ่มจำนวนยอดสร้อยสยาม
4. เปรียบเทียบผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ต่อการชักนำยอดให้เกิดราก
5. เปรียบเทียบชนิดของวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการย้ายต้นสร้อยสยามออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

การตรวจเอกสาร

พืชสกุล *Bauhinia* อยู่ในวงศ์ Leguminosae-Caesalpinioideae ลักษณะทั่วไปเป็นไม้ต้น ไม้พุ่ม และมีลำต้นที่ดัดแปลงไปเป็นมือเกาะสำหรับพันหลักเพื่อไต่ขึ้นที่สูง ใบเดี่ยว ขอบใบเรียบ ปลายใบเว้า แบ่งใบออกเป็น 2 พู (lobes) มีเส้นกลางใบอยู่ระหว่างพู ดอก เป็นดอกสมบูรณ์เพศ วงของกลีบเลี้ยงเป็นรูปถ้วย มี 5 กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ เกสรเพศผู้ มี 1-10 อัน อับละอองเกสรตัวผู้ของพืชสกุลนี้ทุกชนิดในประเทศไทยจะแตกตามยาว ยกเว้น *B. bidentata* ไร่ไร่ มีหรือไม่มีก้านชูรังไข่ ฝัก แก่แล้วแตก (Larsen *et al.*, 1984) ซึ่งสร้อยสยามหรือเสี้ยวแดง (*Bauhinia siamensis* K. & S. S. Larsen *sp. nov.*) จัดอยู่ในสกุลนี้ กลุ่มเดียวกับเสี้ยวดอกขาว ชงโค อรพิม กาหลง โยทกา และอื่นๆ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นสร้อยสยาม

สร้อยสยามหรือเสี้ยวแดง มีลำต้นที่ดัดแปลงไปเป็นมือเกาะสำหรับพันหลักเพื่อไต่ขึ้นที่สูง (ภาพที่ 1ก) กิ่งอ่อนมีขนสั้นๆ สีแดง หูใบรูปไข่ถึงค่อนข้างกลม ยาว 5-6 มิลลิเมตร มีขนนุ่มละเอียด แผ่นใบบางกลม ปลายใบแยกเป็นรอยเว้า ฐานใบรูปหัวใจ มีเส้นใบ 7-9 เส้น (ภาพที่ 1ข) เมื่ออ่อนมีขนปกคลุมทั้ง 2 ด้านของใบ แต่ใบแก่ผิวใบด้านบนเกลี้ยง ส่วนผิวใบด้านล่างมีขนสั้นๆ ละเอียดมากมายบนเส้นใบและฐานใบ ช่อดอกห้อยลง ดอกย่อยแต่ละดอกมีก้านยึดติดแกนกลางตั้งแต่โคนถึงปลายของก้านช่อดอก ช่อดอกยาว 75 เซนติเมตร (ภาพที่ 1ค) และมีหูใบขนาดเล็กปิดอยู่ที่ฐาน เมื่ออ่อนก้านช่อดอกมีขนสั้นๆ สีแดงน้ำตาล ก้านดอกย่อย ยาว 18-25 มิลลิเมตร มีขนสั้นๆ กลีบดอก 5 กลีบ สีชมพู รูปไข่ถึงค่อนข้างรี ฐานกลีบดอกเรียวสอบ ยาว 1-2 มิลลิเมตร ผิวด้านบนบริเวณฐานเกลี้ยง ส่วนผิวด้านล่างมีขนสั้นๆ กลีบเลี้ยงรูปปากเปิด เกสรเพศผู้ที่สามารถสืบพันธุ์ได้ 3 อัน และอีก 6 อัน เป็นหมัน ก้านชูอับเรณู ยาว 1-2 มิลลิเมตร แตกตามยาว ไร่ไร่มีก้าน ยาว 4 มิลลิเมตร ไร่ไร่มีขนสั้นสีทองปกคลุม ก้านเกสรเพศเมีย ขนาด 1 มิลลิเมตร ฝัก สีน้ำตาลดำ แก่แล้วแตก เกลี้ยง ไม่มีขน รูปขอบขนานกว้าง 1.5-2 เซนติเมตร (ภาพที่ 1ง) เมล็ด สีน้ำตาลดำแบนกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 15-20 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1จ)

การกระจายพันธุ์และนิเวศวิทยา เป็นพืชถิ่นเดียวของประเทศไทย พบเฉพาะที่ภูเมียง จ. พิษณุโลก ภาคเหนือตอนล่างของไทย ตามป่าเบญจพรรณที่มีไผ่หนาแน่นใกล้กับทางน้ำไหล ที่ระดับความสูงประมาณ 300 เมตร (Larsen and Larsen, 2002)



ก



ข



ค



ง



จ

ภาพที่ 1 ลักษณะต้นสร้อยสยามที่ขึ้นอยู่ในสภาพธรรมชาติ (ก) ใบและหูใบ (ข) ช่อดอก (ค) ฝัก (ง) และเมล็ด (จ)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ยืนต้น

1. การชักนำยอด

Datta *et al.* (1983) เลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่ได้จากต้นกล้าในสภาวะที่ปลอดเชื้อ และชิ้นส่วนข้อจากต้นในสภาพธรรมชาติของ *Dalbergia sissoo* บนอาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติมออกซิน เช่น indole-3 acetic acid (IAA), indole-3-butyric acid (IBA), 6- γ -dimethylallylamino purine หรือ N-isopentenylamino purine (2iP), α -naphthaleneacetic acid (NAA) และ 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ไซโตไคนิน เช่น N6-benzyladenine (BA), 6-furfurylaminopurine (kinetin) ที่ความเข้มข้นต่างๆ adenine sulphate (Ads), และ gibberellic acid (GA_3) (0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าข้อที่อยู่บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม kinetin หรือ BA จะเกิดยอดได้ถึง 80-90 เปอร์เซ็นต์ หลังจาก 25-30 วัน สำหรับ GA_3 , 2,4-D หรือ 2iP ไม่มีผลในการชักนำให้เกิดยอดใหม่

Dhawan and Bhojwani (1985) นำชิ้นส่วนของ epicotyl ยาว 2.2 เซนติเมตร ที่ได้จากต้นกล้า *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit ในสภาพปลอดเชื้อ มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA, kinetin, 2iP และ Ads ที่ความเข้มข้นเดียวกัน 3×10^6 M น้ำตาล 4 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเปรียบเทียบผลของไซโตไคนินแต่ละชนิดต่อการแตกตาข้าง พบว่าบนอาหารที่เติม BA กระตุ้นให้ epicotyl เกิดการแตกตาข้างได้ดีที่สุด 95 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเลี้ยงอยู่ในอาหารนาน 3 สัปดาห์

Gharyal and Maheshwari (1990) นำชิ้นส่วนลำต้นและก้านใบของ *Albizia lebbeck* และ *Cassia fistula* มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Gamborg medium (B5) ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และบนอาหารแข็ง BM ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในพืชทั้ง 2 ชนิด ชิ้นส่วนของลำต้นจะมีการตอบสนองต่ออาหารทั้ง 2 สูตรได้ดีกว่าชิ้นส่วนก้านใบ

Dewan *et al.* (1992) ทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนที่ต่างกันของต้นกล้า *Acacia nilotica* ที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนข้อของยอดที่เจริญมาจากข้อใบเลี้ยงอายุ 15 วัน epicotyl และปลายยอด มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร B5 ที่เติมไซโตไคนินชนิดต่างๆ คือ BA, kinetin, zeatin และ 2iP ที่ความเข้มข้น 0.1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาล 20 เปอร์เซ็นต์ และถ่านกัมมันต์

0.5-3 เปอร์เซ็นต์ พบว่าข้อใบเลี้ยงจะให้ยอดปริมาณมากที่สุด และเมื่อศึกษาชนิดของไซโตไคนินที่แตกต่างกัน พบว่าทุกชนิดสามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมียอดมากที่สุด 6.3 ยอด การพัฒนาของยอดจะเกิดได้น้อยบนอาหารแข็งที่เติม zeatin และ 2iP

Kumar (1992) ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Bauhinia purpurea* โดยนำกิ่งที่มาจากต้นที่มีอายุประมาณ 15-18 ปี มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม kinetin 5 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียว พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดได้มากที่สุด 4-6 ยอด แต่ถ้าความเข้มข้นของ kinetin มากกว่า 5 ไมโครโมลาร์ จะยับยั้งการเปลี่ยนแปลงและการพัฒนาของตายอด

Mathur and Mukunthakumar (1992) ทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่ยาว 2 เซนติเมตรของ *B. variegata* และ *Parkinsonia aculeata* มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.2, 4.4 8.9, 13.3, 22.2 และ 31.1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ myo-inositol 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และวุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในเวลา 15-20 วัน จะเริ่มมีการพัฒนาของยอดขึ้น และสามารถชักนำยอดได้ในพืชทั้งสองชนิด โดยที่ BA ความเข้มข้น 13.3 ไมโครโมลาร์ จะชักนำให้ *B. variegata* เกิดยอดได้มากที่สุด 7.8 ยอด และที่ BA ความเข้มข้น 8.9 ไมโครโมลาร์ จะชักนำให้ *P. aculeata* เกิดยอดได้มากที่สุด 11.2 ยอด

Rahman et al. (1993) ทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของ *Caesalpinia pulcherrima* ที่มีอายุ 20 ปี บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมออกซิน ไซโตไคนินชนิดต่างๆ หรือใช้ทั้ง 2 อย่างร่วมกัน พบว่าบนอาหารที่เติม 2,4-D อย่างเดียว หรือร่วมกับ BA หรือเติม NAA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และการเกิดยอดจะมีการตอบสนองได้ดีบนอาหารที่เติม NAA ร่วมกับ BA หรือ kinetin สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ โดยบนอาหารที่เติม BA 4.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 5.5 ไมโครโมลาร์ สามารถเกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์

Upreti and Dhar (1996) ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นกล้า *B. vahlii* ที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนข้อของยอดที่เจริญมาจากข้อใบเลี้ยงอายุ 15 วัน มาเลี้ยงบนสูตรอาหารแข็งที่แตกต่างกัน คือ MS, Woody Plant Medium (WPM), B5 และ 1/2MS ร่วมกับการเติม TDZ 1 ไมโครโมลาร์ วุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสูตรอาหาร MS สามารถชักนำข้อให้เกิดยอดได้มากที่สุด นอกจากนี้ศึกษาชนิดของไซโตไคนินที่แตกต่างกันในการชักนำยอด โดยใช้ BA, kinetin,

thidiazuron (TDZ) และ zeatin ที่ความเข้มข้น 1, 2.5 และ 5 ไมโครโมลาร์ ในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 30 วัน พบว่าเกิดยอดสูงที่สุด 96.2 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ 1 ไมโครโมลาร์ รองลงมา kinetin และตาข้างจะไม่มีการแตกยอดบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นอกจากนี้ TDZ ที่ความเข้มข้นต่ำๆ จะสามารถกระตุ้นการเจริญของตาข้างได้

Bhatt and Dhar (2000) ชักนำข้อใบเลี้ยงที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อของ *B. vahlii* ให้เกิดยอดบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1-0.25 ไมโครโมลาร์ kinetin และ GA₃ ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 1 ไมโครโมลาร์ พบว่าจะเกิดยอดมากที่สุดบนอาหารที่เติม GA₃ และ kinetin 1 ไมโครโมลาร์ หรือไม่เติม GA₃ 12 ยอด แต่ยอดจะมีขนาดเล็ก และ GA₃ 1 ไมโครโมลาร์ ส่งเสริมให้ยอดยืดยาวขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนยอดจะลดลงเมื่อใช้ TDZ และ GA₃ ร่วมกับ kinetin ที่มากกว่า 1 ไมโครโมลาร์

Rout (2004) ชักนำข้อของ *Clitoria ternatea* L. บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำยอด จากนั้นเพิ่มปริมาณยอดบนอาหารที่เติม NAA หรือ IAA ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าการเจริญของยอดจะชะงักเมื่อได้รับ BA หรือ kinetin ความเข้มข้นสูง และ kinetin จะให้ผลที่ไม่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับ BA โดยที่บนอาหารที่เติม BA เพียงอย่างเดียว ยอดจะยืดยาวอย่างรวดเร็ว ในการเติม NAA หรือ IAA ร่วมกับ BA จะส่งเสริมให้เกิดยอดปริมาณมากได้ โดยบนอาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA ยอดจะเพิ่มปริมาณได้มากกว่าบนอาหารที่เติม BA ร่วมกับ IAA และพบว่า เกิดยอดมากที่สุด 85.6 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 4 สัปดาห์ นอกจากนี้ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะยับยั้งการเจริญของยอดและกระตุ้นให้เกิดแคลลัสที่ฐานรอยตัด

Uddin *et al.* (2005) นำชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อใบเลี้ยง จากต้นกล้าที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อของ *Peltophorum pterocarpum* มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA BAP และ kinetin ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าปลายยอดสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และบนอาหารที่เติม kinetin 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเกิดยอดต่ำที่สุด 13.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนข้อ พบว่าเกิดยอดได้สูงสุด 73.33

เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่เติม kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้อยที่สุด 6.66 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับข้อใบเลี้ยง พบว่าเกิดยอดได้สูงสุด 86.66 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้อยที่สุด 13.33 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

Ebrahim *et al.* (2007) เลี้ยงยอดของ *Coffea arabica* L. 3 สายพันธุ์ คือ Oudayni, Hammady และ Dawaeiry บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA, TDZ, kinetin, 2iP และ zeatin ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า BA ความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดของกาแพ้ง 3 สายพันธุ์ ให้เกิดยอดของได้มากที่สุด 16.8, 16 และ 15.4 ยอด ตามลำดับ

อิทธิพลของถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) ต่อการเพิ่มจำนวนยอดในสภาพปลอดเชื้อ

ถ่านกัมมันต์ที่เติมในอาหารจะส่งเสริมการเจริญเติบโตและการเกิด organogenesis และ somatic embryogenesis ของพืชมีเนื้อไม้ (woody plant) หลายชนิด เช่น การเกิด somatic embryogenesis ของ *Anemone* และ *Nicotiana* เป็นต้น นอกจากนี้ยังช่วยดูดซับ phenolic compound ที่ขึ้นส่วนพืชปล่อยออกมาในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งจะไปมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งถ่านกัมมันต์สามารถดูดซับโมเลกุลที่มีขี้ผึ้งได้ดีกว่าไม่มีขี้ผึ้งและดูดซับสารระเหย (aromatic) ได้ดี รวมทั้งสารควบคุมการเจริญต่างๆ เช่น ออกซิน, ไซโตไคนิน, ไคเนติน (kinetin) ธาตุอาหารและวิตามิน ทั้งนี้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถ่านกัมมันต์อาจจะมีผลไปส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดพืชและชิ้นเนื้อเยื่อนำมาเพาะเลี้ยง (Pan and Staden 1998; Thomas, 2008) นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงและชนิดของถ่านกัมมันต์ เช่น Mackay *et al.* (1995) ชักนำยอดของ *Cercis canadensis* var. *mexicana* โดยเลี้ยงปลายยอดบนอาหารแข็งสูตร WPM พบว่าการเจริญเติบโตของยอดจะดีที่สุดบนอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์ 0.25 เปอร์เซ็นต์ และ Quoirin *et al.* (2001) พบว่าการเติมถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารแข็งสูตร 3/4 MS สามารถส่งเสริมการเพิ่มจำนวนยอด และการยืดยาวของยอด *Acacia mearnsii* ได้ นอกจากนี้ยังลดการเกิด chlorosis ของใบ แต่อย่างไรก็ตามการเติมถ่านกัมมันต์อาจมีผลยับยั้งการเพิ่มปริมาณยอดได้ เช่น การทดลองของ Das and Mitra (1990) พบว่าการเติมถ่านกัมมันต์ลงในอาหารที่เพาะเลี้ยงจะทำให้การเพิ่มจำนวนยอดของ *Eucalyptus tereticornis* ลดลง

2. การชักนำราก

Datta *et al.* (1983) สามารถชักนำรากของ *Dalbergia sissoo* บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมื่อเติมไซโตไคนิน 2 ชนิด คือ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเกิดรากได้เพียง 5 เปอร์เซ็นต์

Dhawan and Bhojwani (1985) นำยอดที่เกิดจาก epicotyl และ ช่อที่มาจากต้นที่อยู่ในธรรมชาติของ *Leucaena leucocephala* มาชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมและเติมออกซิน (IAA, IBA และ NAA) ที่ความเข้มข้น 5×10^{-7} , 10^{-6} และ 5×10^{-6} โมลาร์ สำหรับยอดที่เกิดจาก epicotyl พบว่าบนอาหารที่ไม่เติมออกซิน เกิดรากได้ 50 เปอร์เซ็นต์ รากมีลักษณะเรียวยาวเล็ก สีน้ำตาล ในขณะที่อาหารที่เติม IAA 5×10^{-6} โมลาร์ จะให้ผลดีที่สุด รากแข็งแรง สีขาว ส่วนช่อที่มาจากต้นที่อยู่ในธรรมชาติ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA 5×10^{-6} โมลาร์ ชักนำให้เกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์

Bates *et al.* (1992) ชักนำรากของ *Fraxinus americana* L. โดยจุ่มโคนยอดที่ได้จากต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อลงในสารละลาย IBA 1 มิลลิโมลาร์ นาน 15 วินาที แล้วเลี้ยงในวัสดุปลูก vermiculite เปรียบเทียบกับยอดที่ไม่ได้จุ่มสารละลาย IBA พบว่ายอดที่จุ่มและไม่จุ่มสารละลายสามารถเกิดรากได้จำนวนเท่ากันคือ 80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเลี้ยงนาน 25 วัน

Dewan *et al.* (1992) ชักนำรากของ *Acacia nilotica* บนอาหารแข็งสูตร B5 ที่เติมออกซิน IAA, IBA, NAA และ β -naphthoxyacetic acid (NOA) ความเข้มข้น 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าช่อ และช่อใบเลี้ยง เกิดรากได้ที่ IAA ทุกความเข้มข้น โดย IAA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์

Kumar (1992) ชักนำรากของ *B. purpurea* บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมออกซินที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 และ 10 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลานาน 15 วัน พบว่าเกิดรากสูงที่สุด 62 เปอร์เซ็นต์ บนอาหาร MS ที่เติม NAA 5 ไมโครโมลาร์

Mathur and Mukunthakumar (1992) ชักนำรากของ *B. variegata* และ *Parkinsonia aculeata* บนอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 2.5-14.8 ไมโครโมลาร์ พบว่าสามารถชักนำให้พืช 2 สกุล เกิดรากได้ โดยที่ IBA ความเข้มข้น 9.8 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้ *P. aculeata* เกิดรากได้มากที่สุด 86 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ IBA ความเข้มข้น 4.9 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้ *B. variegata* เกิดรากได้มากที่สุด 96 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ที่ IBA ความเข้มข้น 14.8 ไมโครโมลาร์ จะยับยั้งการเกิดรากของ *B. variegata* และ *P. aculeata* และการเลี้ยง *B. variegata* บนอาหารที่ชักนำรากนานกว่า 60 วัน จะทำให้เกิดสีน้ำตาล (browning) แต่จะไม่มีผลในการเกิดราก

Rahman *et al.* (1993) ชักนำรากของ *Caesalpinia pulcherrima* บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IAA ร่วมกับ BA หรือ kinetin สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่เติม BA 4.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA 5.5 ไมโครโมลาร์ และพบว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหาร 1/2MS ที่เติม IAA 5.5 ไมโครโมลาร์ นาน 2 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ และจะเพิ่มขึ้น 65 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงนาน 3 สัปดาห์

Goncalves *et al.* (1994) ชักนำรากของ Chestnut โดยทำการทดลอง 2 วิธี คือวิธีที่ 1 เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร 1/2GD (Greshoff & Doy's medium) และ 1/2MS โดยลดปริมาณของ nitrate ลงเหลือ 1/4 จากความเข้มข้นเดิม และเติม IBA ความเข้มข้น 1.5, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 25 กรัมต่อลิตร วิธีที่ 2 จุ่มโคนยอดในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร นาน 30-120 วินาที แล้วเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของสูตรนั้นๆ โดยวิธีแรกจะเลี้ยงบนอาหารที่เติม IBA นาน 7 วัน พบว่าอาหารทั้งสองสูตรที่เติม IBA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดรากได้สูงสุด 82.4 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3.1 รากต่อยอด สำหรับวิธีที่ 2 พบว่าโคนยอดที่จุ่มในสารละลาย IBA นาน 30 วินาที เกิดรากได้สูงสุด 74 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนราก 2.2 รากต่อยอด

Mackay *et al.* (1995) ชักนำรากของ *Cercis canadensis* var. *mexicana* บนอาหารแข็งสูตร 1/2WPM ที่เติม NAA ความเข้มข้น 6.7 ไมโครโมลาร์ หรือ IBA ความเข้มข้น 6.1 ไมโครโมลาร์ ที่เติมหรือไม่เติมถ่าน 1 กรัมต่อลิตร นาน 1 สัปดาห์ จากนั้นย้ายมาบนอาหารแข็งสูตร 1/2WPM ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตนาน 3 สัปดาห์ พบว่าบนอาหารที่เติม NAA 6.7 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับถ่าน 1 กรัมต่อลิตร เกิดรากได้สูงสุด 93 เปอร์เซ็นต์

Upreti and Dhar (1996) ชักนํารากของ *B. vahlii* บนอาหารแข็งสูตร 1/2MS ที่เติมและไม่เติมออกซิน (IBA และ NAA) ความเข้มข้น 0.5, 1, 2.5 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด 55.14 เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA 1 ไมโครโมลาร์ และเมื่อความเข้มข้นของ NAA เพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์การเกิดรากก็เพิ่มมากขึ้น

Bhatt and Dhar (2000) ชักนํารากของ *B. vahlii* โดยนำยอดมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS, 3/4MS, 1/2MS และ 1/4MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ พบว่าบนอาหารสูตร 1/4MS เกิดรากได้มากที่สุด 83 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 10 วัน

Romano *et al.* (2002) ชักนํารากของ *Ceratonia siliqua* โดยทำการทดลอง 2 วิธี คือวิธีที่ 1 เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร 1/2MS ที่เติม IAA, IBA และ NAA ความเข้มข้น 11.42, 9.8 และ 10.74 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ วิธีที่ 2 จุ่มโคนยอดลงในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 4.9 มิลลิโมลาร์ นาน 2 และ 3 นาที แล้วเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร 1/2MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ในที่ไม่มีแสงนาน 1 สัปดาห์ และในที่มีแสง 3 สัปดาห์ ทั้งสองวิธีการทดลอง พบว่าอาหารที่เติม IBA 9.8 ไมโครโมลาร์ เกิดรากได้สูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนราก 10 รากต่อยอด สำหรับวิธีที่ 2 พบว่าโคนยอดที่จุ่มในสารละลาย IBA นาน 3 นาที เกิดรากได้สูงสุด 85 เปอร์เซ็นต์ และให้รากจำนวน 12 รากต่อยอด

Uddin *et al.* (2005) ชักนํารากของ *Peltophorum pterocarpum* บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA หรือ IBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 6 วัน อาหารที่เติม IBA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดรากได้สูงสุด 91.66 เปอร์เซ็นต์ และมีความยาวรากมากที่สุดคือ 4.62 เซนติเมตร

3. การย้ายต้นกล้าออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

การย้ายต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติมีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงหลายประการ เช่น วัสดุปลูก ความชื้น และการปรับสภาพต้นพืชก่อนนำไปปลูก เช่น การทดลองต่อไปนี้

วรัตน์ (2548) ปรับสภาพต้นกล้ากำยานโดยนำขวดเพาะเลี้ยงออกจากห้องเพาะเลี้ยง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 สัปดาห์ แล้วย้ายต้นกล้าลงปลูกในวัสดุปลูก 2 ชนิด คือ จี๊ถั่วแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1 และดินผสมสำเร็จรูป ปรดน้ำจันทน์ ให้ความชื้นสูงในระยะแรกๆ โดยการคลุมด้วยถุงพลาสติก นาน 2 สัปดาห์ แล้วค่อยๆ เปิดปากถุง ลดความชื้นลง พบว่าในวัสดุปลูก จี๊ถั่วแกลบ: ขุยมะพร้าว ทำให้ต้นกำยานมีอัตราการรอดชีวิต 40 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การย้ายปลูก โดยใช้ดินผสมสำเร็จรูปจะให้ต้นกำยานมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 26.7 เปอร์เซ็นต์

พรทิพย์ (2549) ปรับสภาพต้นกล้าของค้ำมอกน้อยโดยนำออกจากห้องเพาะเลี้ยงสู่ โรงเรือนอนุบาล เป็นเวลา 35 วัน แล้วย้ายต้นกล้าลงปลูกในวัสดุปลูกผสมระหว่าง ขุยมะพร้าว: จี๊ถั่วแกลบ อัตราส่วน 1: 1 พบว่าต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์

Mathur and Mukunthakumar (1992) ปรับสภาพต้นกล้า *B. variegata* และ *Parkinsonia aculeate* โดยย้ายลงกระถางที่มีดินเป็นวัสดุปลูก เลี้ยงในที่ที่มีการควบคุมความชื้น แล้วรดด้วย สารละลาย MS ทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 5-15 วัน พบว่าต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์

Goncalves *et al.* (1994) ปรับสภาพต้นกล้า chestnut โดยย้ายลงถ່องพลาสติกปิด สำหรับปลูกที่มีพีท (peat) และเพอร์ไลท์ (perlite) อัตราส่วน 3: 1 เป็นวัสดุปลูก เลี้ยงไว้ในที่มีความชื้นสูง เป็นเวลา 8-9 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายลงกระถางที่มีพีท (peat) เพอร์ไลท์ (perlite) และ ดิน อัตราส่วน 2: 1: 2 เลี้ยงในโรงเพาะชำที่มีระบบพ่นน้ำ พบว่าต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิต 60 เปอร์เซ็นต์

Upreti and Dhar (1996) ปรับสภาพต้นกล้า *B. vahlii* Wight & Arnott โดยย้ายลงใน ถ່องพลาสติกปิดสำหรับปลูกที่มีเวอร์มิคูไลต์และดิน อัตราส่วน 1: 1 เป็นวัสดุปลูก แล้วรดด้วย สารละลาย 1/4MS ทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จนกระทั่งต้นกล้าเริ่มเกิดใบใหม่ ใช้เวลาประมาณ 15 วัน จึงค่อยๆ เปิดปากฝาท่อ พบว่าต้นกล้ามีการรอดชีวิตและเจริญเติบโตดี

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ชิ้นส่วนพืชทดลอง คือ ฝักสร้อยสยามหรือเสี้ยวแดง (*B. siamensis*) ที่เก็บรวบรวมจากศูนย์รวมพรรณไม้บ้านร่มเกล้าในพระราชดำริ และเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูเมี่ยง-ภูทอง จังหวัดพิษณุโลก
2. เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น เครื่องชั่งไฟฟ้า เครื่องวัดความเป็นกรด ด่าง หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโดยความดันไอน้ำ ปีกเกอร์ ปิเปต กระจกดวง ขวดแก้วขนาด 4 ออนซ์ พร้อมฝาปิด
3. สารเคมี ได้แก่
 - 3.1 สารเคมีในการเตรียมสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) (ภาคผนวกที่ 1)
 - 3.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ N⁶-benzyladenine (BA), thidiazuron (TDZ) และ α -naphthaleneacetic acid (NAA), indole-3-butyric acid (IBA) และ เซราดิกซ์[®] (IBA 0.3% DP)
 - 3.3 สารอื่นๆ ได้แก่ ถ่านกัมมันต์ (activated charcoal), NaOH และ HCl ในการปรับค่า pH
4. เครื่องมือและอุปกรณ์ในการย้ายเนื้อเยื่อ ได้แก่ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ มีดผ่าตัด ปากคีบ จานแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์และขวดใส่แอลกอฮอล์สำหรับแช่เครื่องมือ
5. กล้องจุลทรรศน์และอุปกรณ์บันทึกภาพ

วิธีการ

การเตรียมพืชทดลองให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ

นำฝักสร้อยสยาม มาทำความสะอาดด้วยน้ำปะปา และฆ่าเชื้อโดยจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วเผาไฟ จากนั้นนำเมล็ดไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ทดสอบการปนเปื้อนเป็นเวลา 1 สัปดาห์

1. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงต่อการเพิ่มจำนวนยอด

1.1 ผลของ BA ต่อการชักนำให้ข้อเกิดยอดจำนวนมาก

นำยอดสร้อยสยามในสภาพปลอดเชื้อที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุประมาณ 3 เดือน ตัดแบ่งเป็นชิ้นส่วนข้อที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 นับจากปลายยอดตามลำดับ นำแต่ละส่วนลงเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Complete Randomized Design (Factorial in CRD) โดยมี 2 ปัจจัยคือ ลำดับของข้อและความเข้มข้นของ BA ทำการทดลอง 10 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกจำนวนยอดที่เกิดขึ้น จำนวนข้อ ความสูงยอด และบันทึกภาพ

หมายเหตุ การทดลองที่ 1.1 – 3.2 จะใช้ชิ้นส่วนในการทดลองจากต้นสร้อยสยามที่เลี้ยงอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 2 ไมโครโมลาร์ แล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 4 - 6 สัปดาห์ ก่อนที่จะนำมาทำการทดลองครั้งต่อไป

1.2 ผลของ TDZ อย่างเดียว หรือร่วมกับ BA ต่อการชักนำชิ้นส่วนข้อให้เพิ่มจำนวนยอด

การทดลองนี้จะใช้ชิ้นส่วนข้อลำดับที่เพิ่มจำนวนยอดได้ดีที่สุด จากการทดลองที่ 1.1 มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.25 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียวหรือร่วมกับ BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 10 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกจำนวนยอดที่เกิดขึ้น ความสูงยอด จำนวนข้อ และบันทึกภาพ

2. เปรียบเทียบผลของถ่านกัมมันต์ต่อการเพิ่มจำนวนยอด

2.1 นำกิ่งที่มีความยาวประมาณ 6 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์ ทำการทดลอง 10 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกจำนวนยอดที่เกิดขึ้น ความสูงยอด และบันทึกภาพ

2.2 นำข้อใบเลี้ยงของต้นกล้าอายุ 15 วัน มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยมี 2 ปัจจัยคือ การเติมถ่านกัมมันต์และความเข้มข้นของ BA ทำการทดลอง 10 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกจำนวนยอดที่เกิดขึ้น จำนวนข้อ ความสูงยอด และบันทึกภาพ

3. เปรียบเทียบชนิดของชิ้นส่วนต่อการเพิ่มจำนวนยอด

3.1 นำยอดที่มีความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 10 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกจำนวนยอดที่เกิดขึ้น ความสูงยอด เส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส และบันทึกภาพ

3.2 นำชิ้นส่วนข้อลำดับที่เพิ่มปริมาณได้ดีที่สุด จากการทดลองที่ 1.1 มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 10 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกจำนวนยอดที่เกิดขึ้น ความสูงยอด เส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส และบันทึกภาพ

4. ผลของออกซินต่อการเกิดราก

4.1 นำยอดจากต้นในสภาพปลอดเชื้อที่มีความยาวประมาณ 4 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 10 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกจำนวนราก ความยาวราก ลักษณะของราก และบันทึกภาพ

4.2 นำยอดจากต้นในสภาพปลอดเชื้อที่มีความยาวประมาณ 4 เซนติเมตร มาจุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที หรือจุ่มในสารเร่งรากเซราดิคซ์ชนิดผง จากนั้นเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 10 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกจำนวนราก ความยาวราก ลักษณะของราก และบันทึกภาพ

5. ทดสอบผลของวัสดุปลูกต่อการรอดชีวิตของต้นที่ย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ

นำขวดที่มีต้นกล้าที่ได้จากการทดลองเพิ่มจำนวนยอดและมีรากสมบูรณ์มาปรับสภาพโดยนำออกจากห้องเพาะเลี้ยงวางไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ย้ายปลูกในวัสดุปลูกขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1 และ ทราช: ขี้เถ้าแกลบ: อิฐทุบ อัตราส่วน 1: 1: 1 ทำการทดลอง 10 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกการเปลี่ยนแปลงลักษณะของต้น จำนวนต้นที่รอดชีวิต และบันทึกภาพ

6. สภาพห้องเพาะเลี้ยง

ห้องเพาะเลี้ยงให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ประมาณ 50 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

7. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเรือนเพาะชำ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

8. ระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองครั้งนี้เริ่มตั้งแต่ เดือน พฤศจิกายน 2548 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ 2552

ผลและวิจารณ์

ผล

1. ผลของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มจำนวนยอด

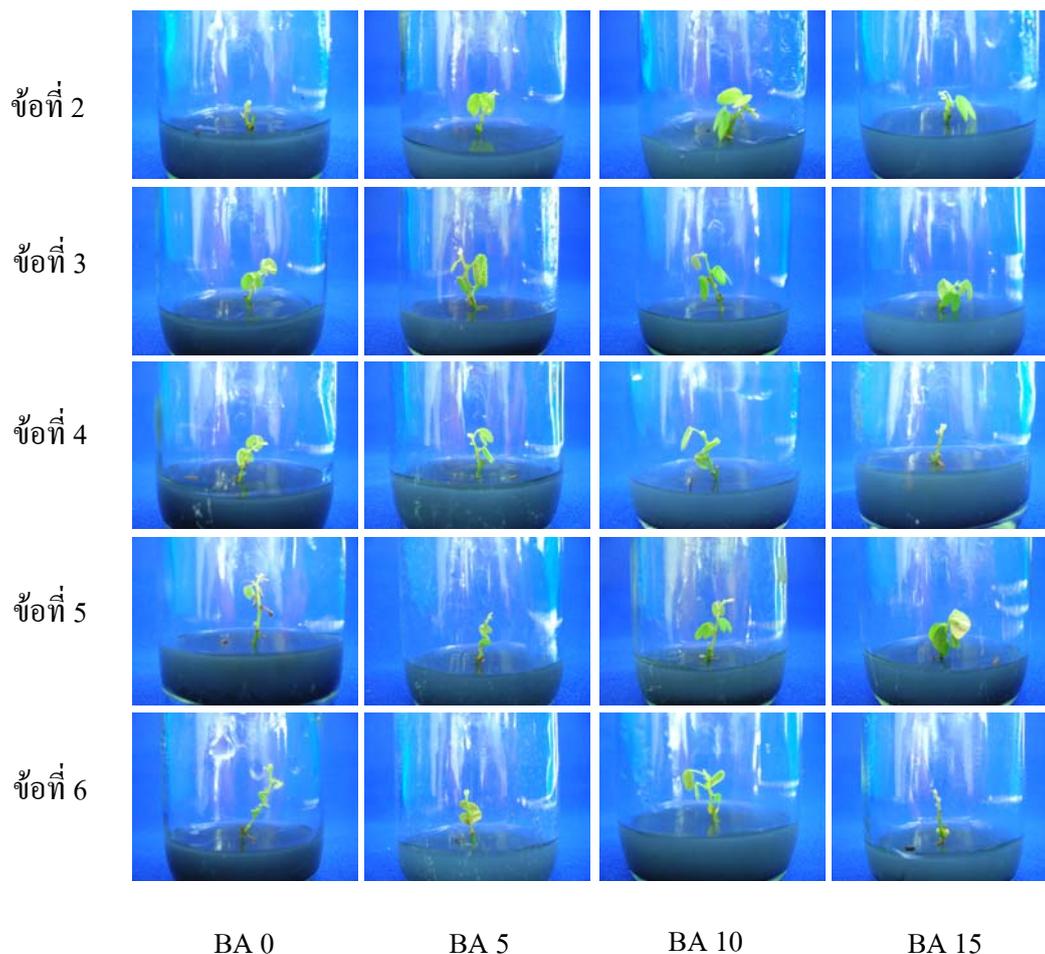
1.1 ผลของ BA ต่อการชักนำให้ข้อเกิดยอดจำนวนมาก

จากการทดลองเลี้ยงข้อสร้อยสยามลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 จากต้นที่เพาะจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ อายุประมาณ 3 เดือน บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า BA ทุกระดับความเข้มข้น ไม่สามารถกระตุ้นให้ข้อทุกลำดับมีการเพิ่มจำนวนยอดได้ โดยทุกชิ้นส่วนเกิดยอดใหม่เพียง 1 ยอด

สำหรับความยาวยอด พบว่า BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้ยอดมีความยาวมากที่สุด โดยให้ค่าเฉลี่ยความยาวยอดเท่ากับ 1.26 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจาก BA ที่ความเข้มข้น 5 และ 15 ไมโครโมลาร์ โดยให้ค่าเฉลี่ยความยาวยอดเท่ากัน คือ 1.14 เซนติเมตร แต่แตกต่างกันทางสถิติจากการที่ไม่เติม BA ที่ให้ค่าเฉลี่ยความยาวยอดเท่ากับ 0.92 เซนติเมตร ส่วนลำดับของข้อที่นำมาเพาะเลี้ยงมีผลต่อความยาวยอด พบว่า ข้อลำดับที่ 6 ให้ค่าเฉลี่ยความยาวยอดมากที่สุด 1.29 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจากข้อลำดับที่ 3 และ 5 โดยให้ค่าเฉลี่ยความยาวยอด 1.16 และ 1.12 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่แตกต่างกันทางสถิติจากข้อลำดับที่ 2 และ 4 ซึ่งให้ค่าเฉลี่ยความยาวยอด 0.91 และ 1.08 เซนติเมตร แต่ลำดับของข้อกับระดับความเข้มข้นของ BA ไม่มีผลร่วมกันต่อความยาวยอด (ตารางที่ 1)

ขณะที่ผลของ BA ต่อการเกิดข้อใหม่ แสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนข้อของยอดใหม่ พบว่า BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้มีจำนวนข้อมากที่สุด โดยให้ค่าเฉลี่ยจำนวนข้อเท่ากับ 4.2 ข้อต่อยอด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจาก BA ที่ความเข้มข้น 5 และ 15 ไมโครโมลาร์ ที่ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนข้อเท่ากับ 3.7 และ 3.8 ข้อต่อยอด ตามลำดับ แต่แตกต่างกันทางสถิติจากการที่ไม่เติม BA ที่ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนข้อ 2.98 ข้อต่อยอด สำหรับลำดับของข้อ มีผลต่อการเกิดจำนวนข้อของยอดใหม่ พบว่าข้อลำดับที่ 6 ให้จำนวนข้อมากที่สุด โดยให้

ค่าเฉลี่ยจำนวนข้อเท่ากับ 4.4 ข้อต่อยอด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจากชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 3 และ 5 โดยให้ค่าเฉลี่ยจำนวนข้อเท่ากับ 3.6 และ 3.8 ข้อต่อยอด ตามลำดับ แต่แตกต่างกันทางสถิติจากข้อลำดับที่ 2 และ 4 โดยให้ค่าเฉลี่ยจำนวนข้อ 3.1 และ 3.5 ข้อต่อยอด ตามลำดับแต่ลำดับของข้อร่วมกับระดับความเข้มข้นของ BA ไม่มีผลร่วมกันต่อจำนวนข้อ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การเกิดยอดเมื่อเลี้ยงข้อลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์

ตารางที่ 1 ความยาวของยอดใหม่ เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์

ความเข้มข้น BA (ไมโครโมลาร์)	ความยาวของยอดใหม่ (เซนติเมตร)					เฉลี่ย ^{1/}
	ข้อลำดับที่					
	2	3	4	5	6	
0	0.75	0.92	0.89	0.95	1.09	0.92 X
5	0.87	1.15	1.18	1.20	1.30	1.14 Y
10	0.92	1.42	1.34	1.23	1.40	1.26 Y
15	1.11	1.13	0.94	1.11	1.39	1.14 Y
เฉลี่ย ^{2/}	0.91 a	1.16 bc	1.08 ab	1.12 bc	1.29 c	

หมายเหตุ CV = 40.8%

^{1/2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในลำดับเดียวกัน (a, b, c; X, Y) แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี LSD

ตารางที่ 2 จำนวนข้อของยอดใหม่ เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์

ความเข้มข้น BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนข้อของยอดใหม่					เฉลี่ย ^{1/}
	ข้อลำดับที่					
	2	3	4	5	6	
0	2.5	2.9	2.7	3.2	3.6	3.0 X
5	2.9	3.4	3.8	3.8	4.7	3.7 Y
10	3.1	4.4	4.4	4.3	4.7	4.2 Y
15	3.9	3.8	2.9	3.8	4.6	3.8 Y
เฉลี่ย ^{2/}	3.1 a	3.6 ab	3.5 a	3.8 ab	4.4 b	

หมายเหตุ CV = 48.8%

^{1/2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในลำดับเดียวกัน (a, b ; X, Y) แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี LSD

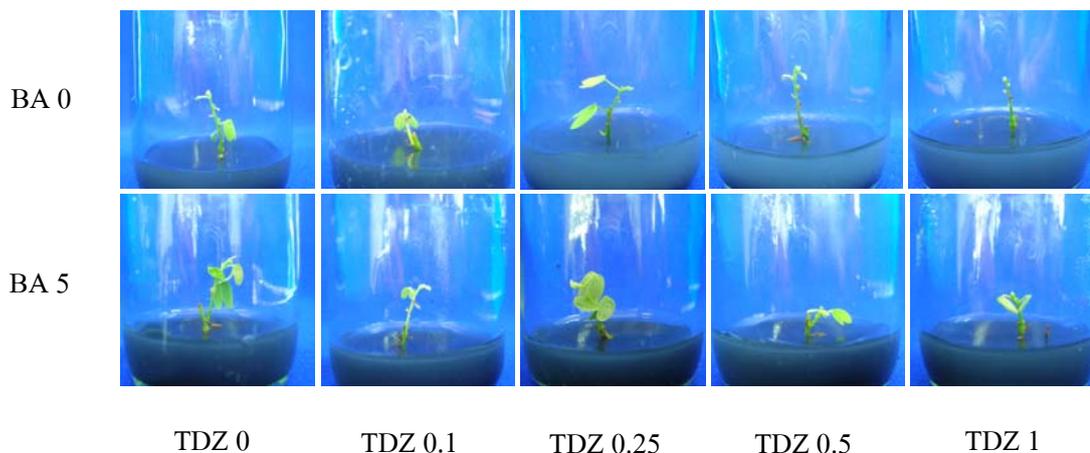
1.2 ผลของ TDZ อย่างเดียว หรือร่วมกับ BA ต่อการชักนำขึ้นส่วนของเนื้อให้เพิ่มจำนวนยอด

นำข้อลำดับที่ 6 มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียว หรือร่วมกับ BA 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์ พบว่า TDZ อย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับ BA ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอด ซึ่งการเกิดยอดนี้พบว่าสามารถเกิดยอดใหม่เพียง 1 ยอดต่อข้อ นอกจากนี้ยังพบว่าความยาวยอดและจำนวนข้อของยอดใหม่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพิจารณาผลของ TDZ เพียงอย่างเดียว ความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ TDZ เพิ่มขึ้นมีแนวโน้มทำให้ความยาวยอดและจำนวนข้อเพิ่มขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นของ TDZ เพิ่มขึ้นเป็น 1 ไมโครโมลาร์ ความยาวยอดและจำนวนข้อจะลดลง (ตารางที่ 3 และภาพที่ 3)

ตารางที่ 3 ความยาวยอดและจำนวนข้อของยอดใหม่ เมื่อเลี้ยงขึ้นส่วนของเนื้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียว หรือร่วมกับ BA 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์

ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)		ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนข้อ
TDZ	BA		
0	-	0.66	1.6
0.1	-	0.28	1.0
0.25	-	0.82	2.0
0.5	-	1.50	3.6
1	-	0.90	3.0
0	5	1.38	4.5
0.1	5	1.19	3.9
0.25	5	1.37	4.1
0.5	5	1.52	4.3
1	5	1.21	3.2
F-test		ns	ns

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



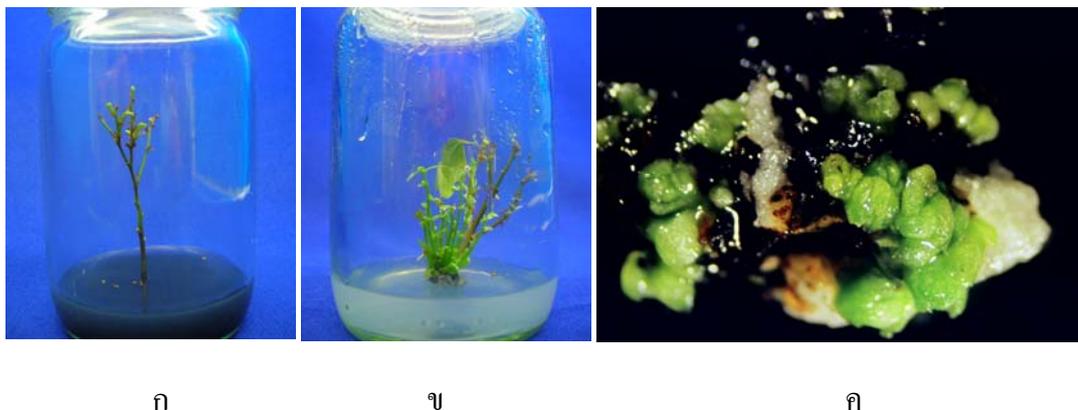
ภาพที่ 3 การเกิดยอด เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียว หรือร่วมกับ BA 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์

2. ผลของถ่านกัมมันต์ต่อการเกิดยอดจำนวนมาก

2.1 เมื่อเลี้ยงกิ่งของสร้อยสยามที่ยาวประมาณ 6 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์ พบว่าถ่านกัมมันต์มีผลต่อจำนวนยอดที่เกิดใหม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกิ่งที่เลี้ยงอยู่บนอาหารที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์เกิดแคลลัสขึ้นที่บริเวณฐานรอยตัด และมีการพัฒนาเป็นยอดเล็กๆ เฉลี่ย 26.9 ยอด ความยาวยอดน้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร ส่วนกิ่งที่เลี้ยงอยู่บนอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์จะไม่เกิดแคลลัสหรือเกิดน้อยที่ฐานรอยตัด และไม่มีการเจริญของยอดเกิดขึ้น (ตารางที่ 4 และภาพที่ 4)

ตารางที่ 4 จำนวนยอดใหม่ เมื่อเลี้ยงกิ่งของสร้อยสยามยาวประมาณ 6 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

ถ่านกัมมันต์ (กรัมต่อลิตร)	จำนวนยอดใหม่
0	26.9
1	0
ค่าเฉลี่ย	13.5
T-test	**
CV(%)	39.1



ภาพที่ 4 การเกิดยอดเมื่อเลี้ยงกิ่งสร้อยสยามบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร (ก) หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ (ข) และลักษณะยอดเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์ กำลังขยาย $\times 1.6$ (ค) นาน 6 สัปดาห์

2.2 จากการทดลองเลี้ยงข้อใบเลี้ยงของสร้อยสยามบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าระดับความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนยอดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นจำนวนยอดจะเพิ่มขึ้น โดย BA ที่ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้เกิดยอดใหม่เฉลี่ยมากที่สุด 5.4 ยอด ไม่แตกต่างกันทางสถิติจาก BA ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ที่เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 5.0 และ 5.1 ยอด ตามลำดับ แต่จะแตกต่างกันทางสถิติจากที่ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ที่เกิดยอดใหม่เฉลี่ยจำนวนยอด 2.2 ยอด สำหรับการเติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยง พบว่าบนอาหารที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์ กระตุ้นให้เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 8.2 ยอด ซึ่งมากกว่าเมื่อเติมถ่านกัมมันต์ที่เกิดยอดใหม่เฉลี่ยเพียง 2.9 ยอด แต่บางยอดมีลักษณะอวบน้ำเมื่อเปรียบเทียบกับที่เติมถ่านกัมมันต์ ส่วนระดับความเข้มข้นของ BA และการเติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์มีผลร่วมกันต่อจำนวนยอด พบว่า BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ในอาหารที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์กระตุ้นให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุด 12.6 ยอด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจาก BA ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ ในอาหารที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์ (ตารางที่ 5 และภาพที่ 5)

ตารางที่ 5 จำนวนยอด เมื่อเลี้ยงข้อไบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด ^{1/}		เฉลี่ย ^{2/}
	ถ่านกัมมันต์ (กรัมต่อลิตร)		
	0	1	
0	1.8a	2.5a	2.2X
5	6.8b	3.3a	5.0Y
10	12.6c	3.3a	5.1Y
15	11.3c	2.7a	5.4Y
เฉลี่ย ^{3/}	8.2B	2.9A	

หมายเหตุ CV = 52.2%

^{1/}, ^{2/}, ^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในลำดับเดียวกัน (A, B; a, b c; X, Y)

แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี LSD

สำหรับความยาวยอดพบว่าระดับความเข้มข้นของ BA มีผลต่อความยาวยอด ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นความยาวยอดจะลดลง โดย BA ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้มีค่าเฉลี่ยความยาวยอดมากที่สุด 5.18 เซนติเมตร และแตกต่างกันทางสถิติจาก BA ความเข้มข้น 5-15 ไมโครโมลาร์ โดยให้ค่าเฉลี่ยความยาวยอด 3.84-4.36 เซนติเมตร สำหรับการเติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร มีผลต่อความยาวยอด พบว่าบนอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์ กระตุ้นให้ยอดมีความยาวเฉลี่ย 5.77 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่าไม่เติมถ่านกัมมันต์ที่มีความยาวเฉลี่ย 2.99 เซนติเมตร และยอดใหม่มีใบสีเขียวเข้มและมียอดแข็งแรงกว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์ ส่วนระดับความเข้มข้นของ BA และการเติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์มีผลร่วมกันต่อความยาวยอด พบว่า BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ในอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ยอดมีความยาวมากที่สุด 6.35 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจากเมื่อได้รับ BA ที่ความเข้มข้น 0, 5 และ 15 ไมโครโมลาร์ ในอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์ แต่แตกต่างกันทางสถิติจากเมื่อได้รับ BA ที่ความเข้มข้น 0-15 ไมโครโมลาร์ ที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์ โดยให้ยอดมีความยาว 2.17-4.26 เซนติเมตร (ตารางที่ 6 ภาพที่ 5)

ตารางที่ 6 ความยาวยอด เมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	ความยาวยอด (เซนติเมตร) ^{1/}		เฉลี่ย ^{2/}
	ถ่านกัมมันต์ (กรัมต่อลิตร)		
	0	1	
0	4.62b	5.74c	5.18Y
5	2.80a	5.47bc	4.13X
10	2.37a	6.35c	4.36X
15	2.17a	5.52bc	3.84X
เฉลี่ย ^{3/}	2.99A	5.77B	

หมายเหตุ CV = 31.2%

^{1/}, ^{2/}, ^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในลำดับเดียวกัน (A, B; a, b c; X, Y) แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี LSD

ส่วนจำนวนข้อพบว่าระดับความเข้มข้นของ BA ไม่มีผลต่อจำนวนข้อ พบว่า BA ระดับความเข้มข้น 0-15 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้ยอดมีจำนวนข้อเฉลี่ย 5.1-6.1 ข้อต่อยอด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ สำหรับการเติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร มีผลต่อจำนวนข้อพบว่าบนอาหารที่เติมถ่าน กระตุ้นให้ยอดมีจำนวนข้อเฉลี่ย 6.6 ข้อต่อยอด ซึ่งมากกว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์ที่มีจำนวนข้อเฉลี่ย 4.3 ข้อต่อยอด ส่วนระดับความเข้มข้นของ BA และการเติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์มีผลร่วมกันต่อจำนวนข้อ พบว่า BA ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ ในอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ยอดมีจำนวนข้อมากที่สุด 7.6 ข้อต่อยอด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจากเมื่อได้รับ BA ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ในอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์ แต่แตกต่างกันทางสถิติจาก BA ที่ความเข้มข้น 0-15 ไมโครโมลาร์ ที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์ โดยให้จำนวนข้อ 3.2-5.8 ข้อต่อยอด (ตารางที่ 7 ภาพที่ 5)

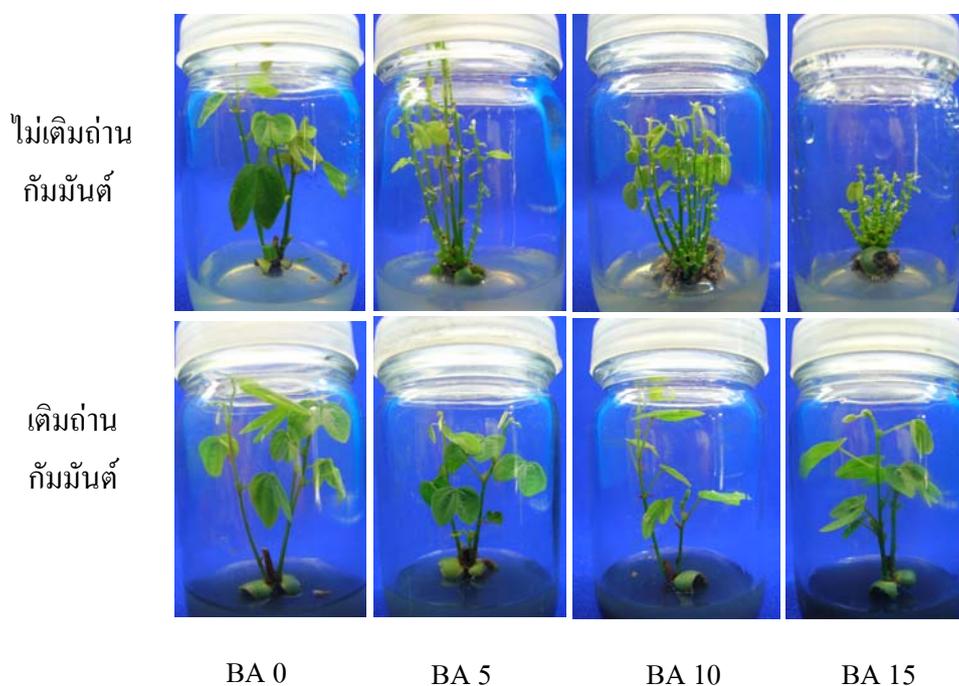
ตารางที่ 7 จำนวนข้อ เมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนข้อ ^{1/}		เฉลี่ย
	ถ่านกัมมันต์ (กรัมต่อลิตร)		
	0	1	
0	5.8b	6.5bc	6.1
5	4.2a	5.9b	5.1
10	4.1a	6.5bc	5.3
15	3.2a	7.6c	5.4
เฉลี่ย ^{2/}	4.3A	6.6B	

หมายเหตุ CV = 29.4%

^{1/2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในลำดับเดียวกัน (A, B; a, b c)

แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี LSD



ภาพที่ 5 การเกิดยอด เมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยง บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ที่เติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร นาน 6 สัปดาห์

3. ผลของชั้นส่วนต่อการเกิดยอดจำนวนมาก

3.1 เมื่อเลี้ยงข้อลำดับที่ 6 ของสร้อยสยามบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าระดับความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนยอด โดยพบว่าที่ BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุด 3 ยอด รองลงมา คือ BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ โดยให้จำนวนยอด 1.8 ยอด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจาก BA ที่ความเข้มข้น 0 และ 15 ไมโครโมลาร์ และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นจำนวนยอดจะลดลง (ตารางที่ 8 และภาพที่ 6)

สำหรับความยาวยอด พบว่า ที่ BA ทุกระดับความเข้มข้นไม่สามารถวัดความยาวยอดได้ เนื่องจากยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีความยาวน้อยกว่า 0.3 เซนติเมตร ดังนั้น ส่วนจำนวนข้อพบว่ายอดมีขนาดเล็กไม่สามารถนับจำนวนข้อได้ นอกจากนี้ยังพบว่าที่ฐานรอยตัดของยอดจะเกิดแคลลัสสีขาวครีมขึ้น โดยระดับความเข้มข้นของ BA จะมีผลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสที่เกิดขึ้น โดยเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสจะเพิ่มขึ้น ซึ่งพบว่าที่ BA ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ แคลลัสจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสมากที่สุด 0.74 เซนติเมตร (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 จำนวนยอด และเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส เมื่อเลี้ยงข้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

ความเข้มข้น BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด ^{1/}	เส้นผ่าน ศูนย์กลาง แคลลัส (เซนติเมตร) ^{2/}
0	1.0a	0a
5	3.0b	0.43b
10	1.8a	0.61bc
15	1.4a	0.74c
F-test	**	**
CV%	55.6	49.9

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

^{1/2/} ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี LSD

3.2 เมื่อเลี้ยงยอดของสร้อยสยามยาวประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าระดับความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนยอดใหม่ โดย BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุดคือ 9.3 ยอด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจาก BA ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ที่ให้มีจำนวนยอด 7.1 ยอด และเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นจำนวนยอดจะลดลงและบนอาหารที่ไม่เติม BA จะไม่มียอดใหม่เกิดขึ้น (ตารางที่ 9 และภาพที่ 6)

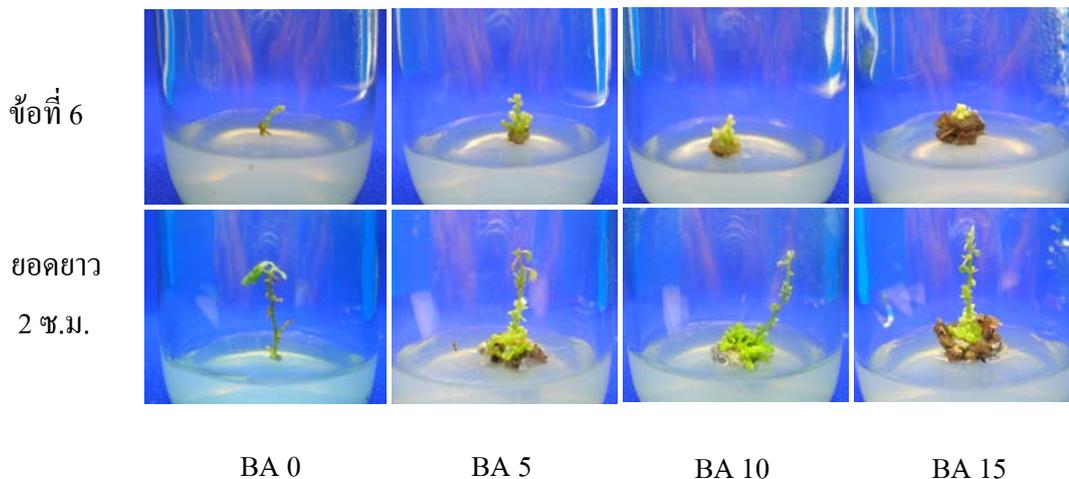
สำหรับความยาวยอด พบว่าที่ BA ทุกระดับความเข้มข้นไม่สามารถวัดความยาวยอดได้ เนื่องจากยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีความยาวน้อยกว่า 0.3 เซนติเมตร ดังนั้น ส่วนจำนวนข้อพบว่ายอดมีขนาดเล็กไม่สามารถนับจำนวนข้อได้ และจากการทดลองพบว่าที่ฐานรอยตัดของยอดจะเกิดแคลลัสสีขาวครีมขึ้น โดยระดับความเข้มข้นของ BA มีผลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส โดยพบว่า BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ มีเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสมากที่สุด 1.2 เซนติเมตร และเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสจะลดลง (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 จำนวนยอดใหม่ และเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส เมื่อเลี้ยงยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

ความเข้มข้น BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด ^{1/}	เส้นผ่าน ศูนย์กลาง แคลลัส (เซนติเมตร) ^{2/}
0	0a	0a
5	7.1c	1.20c
10	9.3c	1.08bc
15	3.6b	0.96b
F-test	**	**
CV%	69.7	33.2

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

^{1/}, ^{2/} ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี LSD



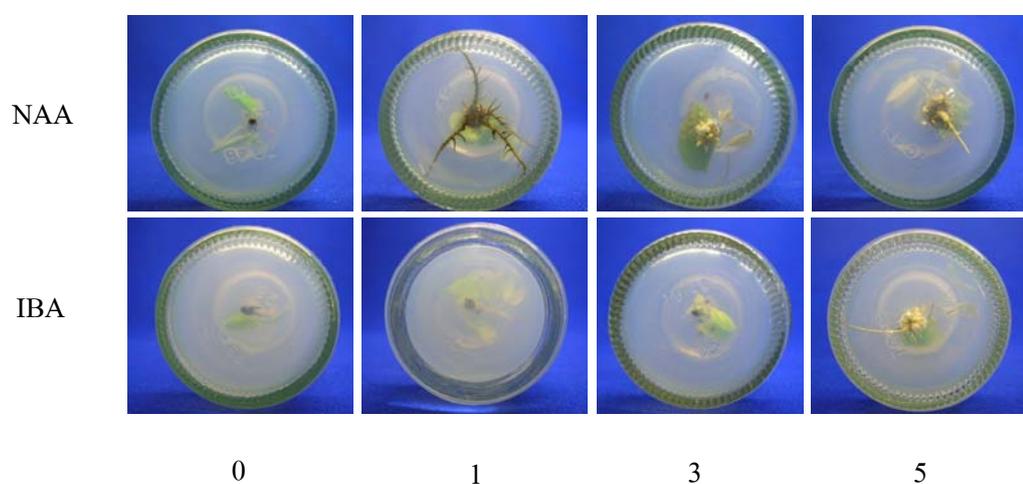
ภาพที่ 6 การเกิดยอดและแคลลัส เมื่อเลี้ยงข้อลำดับที่ 6 และยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

4. ผลของออกซินต่อการเกิดราก

4.1 เมื่อเลี้ยงยอดสร้อยสยามบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA หรือ IBA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์ พบว่า NAA สามารถชักนำให้เกิดรากได้เร็ว และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากกว่า IBA โดย NAA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด 40 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 0.9 ราก แต่รากจะสั้นและอวบกว่าเมื่อชักนำด้วย IBA (ตารางที่ 10 และภาพที่ 7) และชิ้นส่วนยอดของสร้อยสยามที่ได้รับ NAA ทุกความเข้มข้น จะเกิดแคลลัสสีขาวปุ่นที่โคนของชิ้นส่วน และแคลลัสจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และเกิดมากกว่าเมื่อได้รับ IBA

ตารางที่ 10 ผลของออกซินต่อการชักนำรากของยอดศร่อยสยาม

ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	จำนวนราก (\pm SE)	ความยาวราก (เซนติเมตร) (\pm SE)	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (%)
NAA 0	0	0	0
1	0.9 ± 1.5	0.62 ± 1.3	30
3	1.2 ± 3.2	0.05 ± 0.1	20
5	0.9 ± 1.3	0.26 ± 0.5	40
IBA 0	0	0	0
1	0	0	0
3	0	0	0
5	0.4 ± 0.9	0.13 ± 0.3	20



ภาพที่ 7 การเกิดรากของยอดที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์

4.2 เมื่อนำยอดศร่อยสยามที่มีความยาวประมาณ 4 เซนติเมตร มาจุ่มในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที และจุ่มในสารเร่งรากเซราดิกซ์ชนิดผง จากนั้นเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 6 สัปดาห์ พบว่า

ยอดที่จุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 5.3 มิลลิโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 70 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3.2 ราก สำหรับยอดที่จุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA ความเข้มข้นอื่นๆ และ เซราดิกซ์ไม่มีการเกิดราก (ตารางที่ 11 และภาพที่ 8)

ตารางที่ 11 ผลของการจุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA นาน 5 นาที และเซราดิกซ์ต่อการชักนำรากของยอดสร้อยสยาม

ความเข้มข้นของ NAA (มิลลิโมลาร์)	จำนวนราก (±SE)	ความยาวราก(เซนติเมตร) (±SE)	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก
0	0	0	0
2.6	0	0	0
4.0	0	0	0
5.3	3.2 ± 3.5	0.86 ± 1.1	70
เซราดิกซ์	0	0	0



NAA 0

NAA 2.6

NAA 4.0

NAA 5.3



เซราดิกซ์

ภาพที่ 8 การเกิดรากของยอดที่จุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที และสารเร่งรากเซราดิกซ์ชนิดผง จากนั้นเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 6 สัปดาห์

5. ผลของวัสดุปลูกต่อการรอดชีวิตของต้นกล้าสร้อยสยามในสภาพธรรมชาติ

นำขวดเพาะเลี้ยงต้นกล้าที่มีรากสมบูรณ์ที่ได้จากการจุ่มยอดลงในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที แล้วเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มาปรับสภาพ โดยนำออกจากห้องเพาะเลี้ยงมาวางไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วย้ายปลูกในวัสดุปลูกผสมระหว่างขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1 และทราย: ขี้เถ้าแกลบ: อิฐทุบ อัตราส่วน 1: 1: 1 รดน้ำจนชุ่ม คลุมด้วยถุงพลาสติก จากนั้นค่อยๆ เปิดถุงพลาสติก ออกเมื่อครบ 30 วัน พบว่าต้นสร้อยสยามที่อยู่ในวัสดุปลูกทราย: ขี้เถ้าแกลบ: อิฐทุบ อัตราส่วน 1: 1: 1 มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 20 เปอร์เซ็นต์ สำหรับวัสดุปลูก ขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1 พบว่าต้นกล้าไม่สามารถรอดชีวิตได้ (ตารางที่ 12 และภาพที่ 9)

ตารางที่ 12 การรอดชีวิตของสร้อยสยามที่ชักนำให้เกิดรากด้วยการจุ่มยอดลงในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที โดยย้ายปลูกในวัสดุปลูกผสมระหว่างขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1 และทราย: ขี้เถ้าแกลบ: อิฐทุบ อัตราส่วน 1: 1: 1

วัสดุปลูก	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต
ขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว	0
ทราย: ขี้เถ้าแกลบ: อิฐทุบ	20



ก



ข

ภาพที่ 9 ต้นสร้อยสยามที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูกขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1 (ก) และ ทราย: ขี้เถ้าแกลบ: อิฐทุบ อัตราส่วน 1: 1: 1 (ข)

วิจารณ์

1. ผลของ BA ต่อการชักนำให้ข้อเกิดยอดจำนวนมาก

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อเดี่ยวลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 ของสร้อยสยามบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร เพื่อคัดสรรสารประกอบฟีนอลิกที่ชิ้นส่วนพืชปล่อยออกมา พบว่า BA ไม่สามารถกระตุ้นให้มีการเพิ่มปริมาณยอดได้ แต่ BA ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้ความยาวยอดและจำนวนข้อเฉลี่ยของยอดใหม่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับยอดจากชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับ BA สำหรับลำดับข้อของชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง พบว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของยอดใหม่จากข้อลำดับที่อยู่ทางด้านล่างจะดีที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระดับของฮอร์โมนในชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นที่นำมาเพาะเลี้ยงมีผลต่อการเจริญเติบโตของยอดใหม่ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Lardet *et al.* (1998) ที่ทดลองเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 3-10 ของ *Hevea brasiliensis* และข้อลำดับที่ 1-7 ของ *Theobroma cacao* พบว่ายอดที่เจริญจากตาข้างของข้อที่อยู่ด้านล่าง จะมีความยาวมากกว่ายอดที่เจริญจากตาข้างของข้อด้านบนใกล้เคียงยอด และพบว่าการตอบสนองของตาจะเพิ่มขึ้นเมื่อข้อห่างจากปลายยอดมากขึ้น ซึ่ง Lardet *et al.* (1998) มีความเห็นว่า การตอบสนองที่แตกต่างกันนี้เป็นผลมาจากความแตกต่างของปริมาณ growth promoter และ growth inhibitor ภายในชิ้นส่วน นอกจากนี้ การที่ชิ้นส่วนพืชมีปริมาณฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นเองแตกต่างกัน ทำให้มีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เพิ่มให้จากภายนอกแตกต่างกัน (Bhojwani and Razdan, 1983) จากการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นถึง 15 ไมโครโมลาร์ การเจริญเติบโตของยอดสร้อยสยามจะลดลง แสดงให้เห็นว่าในเนื้อเยื่อมีไซโตไคนินอยู่แล้ว การเพิ่มไซโตไคนินจากภายนอกเข้าไป จะทำให้ปริมาณไซโตไคนินภายในเนื้อเยื่อสูงเกินไป จึงยับยั้งการเจริญเติบโตของยอดและการเกิดยอดใหม่ได้ (Bonga, 1982; Huette-man and Preece, 1993; Khalafalla *et al.*, 1999; Rout, 2004) โดยไปมีผลกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์บางชนิดมากเกินไปจนเกิดอันตรายต่อชิ้นส่วนพืช ส่งผลให้ความยาวยอดและจำนวนข้อลดลงได้ (Mok and Mok, 1994) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Begum *et al.* (2004) ที่เลี้ยงชิ้นส่วนข้อของ *Citrus grandis* (L.) Osb. บนอาหารแข็งสูตร 1/2MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.2-2 ไมโครโมลาร์ พบว่าที่ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้ยอดมีความยาวมากที่สุด 4.1 เซนติเมตร เมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มมากขึ้นความยาวยอดจะลดลง

2. ผลของ TDZ อย่างเดียว หรือร่วมกับ BA ต่อการชักนำขึ้นส่วนข้อให้เพิ่มจำนวนยอด

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 บนอาหารอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตรและเติม TDZ อย่างเดียว ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์หรือร่วมกับ BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ พบว่าไม่สามารถกระตุ้นให้มีการเพิ่มปริมาณยอดได้ ความยาวยอดและจำนวนข้อของยอดใหม่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าการเติม TDZ ร่วมกับ BA จะทำให้การเจริญเติบโตของยอดนั้นดีกว่าเมื่อเติม TDZ เพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตามความยาวยอดและจำนวนข้อที่เพิ่มขึ้นไม่ได้เป็นผลมาจากไซโตไคนิน 2 ชนิด แสดงผลส่งเสริมกัน (synergistic effect) ซึ่งสังเกตได้จากความยาวและจำนวนข้อของยอดสร้อยสยาม เมื่อได้รับ TDZ ความเข้มข้น 0-1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ จะต่ำกว่าเมื่อได้รับ BA เพียงอย่างเดียว ซึ่งต่างจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีเนื้อไม้ (woody plant) อื่นๆ หลายชนิด เช่น *Tilia cordata*, *Sorbus acuparia*, *Robinia pseutoacacia* (Bhatt and Dhar, 2000) และ *Vitis rotundifolia* (Sudarsono and Goldy, 1991) ที่พบว่าการเติมไซโตไคนินสองชนิดลงในอาหารเพาะเลี้ยงจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีกว่าใช้ไซโตไคนินเพียงชนิดเดียว ซึ่ง Nielsen *et al.* (1995) ได้สันนิษฐานไว้ว่า การที่ไซโตไคนิน 2 ชนิด แสดงผลส่งเสริมกันเนื่องจากโปรตีนที่ทำหน้าที่จับกับไซโตไคนิน (cytokinin-binding protein, CBP) ภายในเซลล์พืชมีตำแหน่งที่จะจับกับไซโตไคนินอยู่ 2 ตำแหน่ง โดยตำแหน่งแรกจะจับกับ adenine-type cytokinin เช่น BA และอีกตำแหน่งจับกับ phenylurea-type cytokinin เช่น TDZ เมื่อ CBP จับกับ adenine-type cytokinin จะมีผลไปทำให้เกิดการตอบสนองทางสรีรวิทยา ได้แก่ การส่งเสริมการเกิดยอดและการเจริญเติบโตของยอด ยับยั้งการเกิดราก และชะลอการหลุดร่วงของใบ การเติม TDZ ร่วมกับ BA ทำให้ CBP จับได้ทั้ง TDZ และ BA จึงส่งเสริมให้มีการตอบสนองต่อ BA เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า TDZ จะกระตุ้นการทำงานของไซโตไคนินและการสังเคราะห์ไซโตไคนินภายในเซลล์พืช ทำให้ภายในเซลล์มีไซโตไคนินเพิ่มขึ้น (Mok *et al.*, 1987; Bohidar *et al.*, 2008) จึงเป็นไปได้ว่าการที่มีปริมาณของไซโตไคนินที่มากเกินไปจะสามารถไปยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้

จากผลการทดลองที่ 1 และ 2 ยังไม่สามารถเพิ่มจำนวนยอดสร้อยสยามได้ อาจจะเป็นเนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมเข้าไปในอาหารเพาะเลี้ยงมีปริมาณที่ยังไม่เหมาะสม หรืออาจเนื่องจากการทดลองนี้มีการเติมถ่านกัมมันต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยง เพื่อไปดูดซับ phenolic compound ที่ขึ้นเนื้อเยื่อปล่อยออกมา แต่ถ่านกัมมันต์จะไปดูดซับสารอาหารหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เป็นประโยชน์ในการเจริญเติบโตของพืชให้ลดลงด้วย (Komalavalli and Rao, 2000;

Aliyu and Mashood, 2005) จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้ชิ้นส่วนข้อยังไม่สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ จึงศึกษาผลของถ่านกัมมันต์ในการทดลองต่อมา

3. ผลของถ่านกัมมันต์และชนิดของชิ้นส่วนต่อการเกิดยอดจำนวนมาก

เมื่อเลี้ยงกิ่งของสร้อยสยามที่ยาวประมาณ 6 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ และเติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร นาน 6 สัปดาห์ พบว่าการเติมถ่านกัมมันต์จะมีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนยอดได้ สำหรับการเพาะเลี้ยงข้อใบเลี้ยงของสร้อยสยามบนอาหารแข็ง MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ที่เติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร พบว่าการเติมถ่านลงในอาหารเพาะเลี้ยง จะไม่เป็นผลดีต่อการเพิ่มจำนวนยอด แต่เป็นผลดีต่อการเจริญเติบโตของยอด โดยพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนยอดบนอาหารที่ไม่เติมถ่านจะสูงกว่า 3 เท่าของอาหารที่เติมถ่าน การที่เติมถ่านกัมมันต์ลงในอาหารแล้วมีผลยับยั้งหรือลดการเพิ่มจำนวนยอดได้นั้น เนื่องจากถ่านกัมมันต์ที่เติมเข้าไปเพื่อให้ดูดซับสารประกอบฟีนอลิกที่พืชปล่อยออกมา จะดูดซับสารควบคุมการเจริญเติบโต ธาตุอาหารและวิตามินต่างๆ ในอาหารเพาะเลี้ยงด้วย จึงทำให้การเพิ่มปริมาณยอดลดลง (Komalavalli and Rao, 2000; Aliyu and Mashood, 2005) Pan and Staden (1998) รายงานว่า ถ่านกัมมันต์จะยับยั้งการชักนำยอดได้เมื่อใช้ร่วมกับ BA สอดคล้องกับการทดลองของ Komalavalli and Rao (2000) ที่เลี้ยงยอดของ *Gymnema sylvestre* บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ 10-50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการไม่เติมถ่านกัมมันต์สามารถกระตุ้นให้เกิดยอด 132 ยอด ในขณะที่การเติมถ่านกัมมันต์ ทำให้เกิดยอดเพียง 5.8-11 ยอด อย่างไรก็ตามถ่านกัมมันต์ยังช่วยดูดซับสารที่ไปยับยั้งการเจริญเติบโตบางอย่างนอกจากสารประกอบฟีนอลิก เช่น สารประกอบ 5-hydroxymethylfurfural ที่ได้จากน้ำตาลที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ การเติมถ่านกัมมันต์จึงส่งเสริมการเจริญเติบโตของยอดได้ ทำให้ความยาวและจำนวนข้อของยอดเพิ่มขึ้น (Pan and Staden, 1998; Aliyu and Mashood, 2005) เช่นเดียวกับ การทดลองของ Boggetti *et al.* (1999) ได้เลี้ยงชิ้นส่วนข้อของ *Anacardium occidentale* L. บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม 2ip ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และเติมถ่านหรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าบนอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์กระตุ้นให้ยอดมีความยาวมากที่สุด 1.8 เซนติเมตร มากกว่ายอดที่เลี้ยงอยู่บนอาหารที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์ ที่ให้ความยาวยอดเพียง 0.7 เซนติเมตร

จากการทดลองในสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยงพบว่ายอดที่เกิดมาใหม่บางยอดที่อยู่บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์มีลักษณะง่าน้ำ

(vitriification) อาจจะเป็นเนื่องจาก ethylene ที่พืชปล่อยออกมา หรือปริมาณวุ้นที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยง และระดับความเข้มข้นของไซโตไคนินที่มากเกินไป (Huetteman and Preece, 1993) นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นที่สูงในภาชนะเพาะเลี้ยงเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการจ้ำน้ำได้เช่นกัน (Ibanez *et al.*, 2003) ดังนั้นยอดใหม่ของสร้อยสยามที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์จึงไม่เกิดการจ้ำน้ำ เนื่องจากการเติมถ่านกัมมันต์จะช่วยดูดซับ BA ที่มากเกินไป และดูดซับ ethylene ที่พืชอาจจะปล่อยออกมา แต่อย่างไรก็ตามการเติมถ่านกัมมันต์อาจมีผลในการส่งเสริมการเพิ่มจำนวนยอดของพืชบางชนิดได้ เช่น ในการเพาะเลี้ยงยอดและข้อของ *Gloriosa superba* L. บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร พบว่าสามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเพิ่มปริมาณยอดได้ (Hassan and Roy, 2005)

สำหรับผลของ BA ในการเพาะเลี้ยงข้อใบเลี้ยง พบว่า BA ความเข้มข้น 5-15 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้เกิดยอดจำนวนเพิ่มขึ้น (5.0-5.4 ยอด) มากกว่าข้อที่ได้รับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ (2.2 ยอด) ประมาณ 2 เท่า เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ที่มีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงสภาพ (differentiation) โดยส่งเสริมการสังเคราะห์ RNA และโปรตีน โดยเฉพาะโปรตีนที่มีความสำคัญต่อการแบ่งเซลล์ จึงมีผลกระตุ้นให้เพิ่มปริมาณยอดได้ (Lyndon, 1990; Lopez-Escamilla *et al.*, 2000; Taiz and Zeiger, 2002) สำหรับผลของ BA ต่อความยาวของยอดสร้อยสยามที่เกิดจากข้อใบเลี้ยง พบว่าที่ความเข้มข้น 5-15 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้ความยาวยอดไม่แตกต่างกัน แต่มีความยาวน้อยกว่ายอดบนอาหารที่ไม่ได้เติม BA การที่ชิ้นส่วนพืชที่ไม่ได้รับ BA มีการเจริญเติบโตขึ้นได้ เนื่องจากปลายยอดมีการสังเคราะห์ออกซินซึ่งมีผลกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์และการยืดยาวของเซลล์ได้ และเมื่อไม่มีบทบาทของไซโตไคนิน ออกซินจึงแสดงบทบาทได้เต็มที่ ทำให้ยอดยืดยาวมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมไซโตไคนิน (Pierik, 1989) เช่นเดียวกับการทดลองเลี้ยงข้อใบเลี้ยงของก้านบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-20 ไมโครโมลาร์ พบว่าบนอาหารที่ไม่เติม BA ยอดมีความยาวสูงสุดและเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นความยาวของยอดมีแนวโน้มลดลง (วรรัตน์, 2548) ในการเพาะเลี้ยง *Acacia sinuata* (Lour) Merr. ที่ BA ความเข้มข้น 8.9 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้ยอดมีความยาวมากที่สุด 2 เซนติเมตร เมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้น ความยาวยอดจะลดลง (Vengadesan *et al.*, 2003)

เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 และยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ พบ BA ความเข้มข้น 5-15 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนยอดจากชิ้นส่วนที่นำเพาะเลี้ยงทั้ง 2 ชนิดได้ แต่พบว่าข้อลำดับที่ 6 จะมีจำนวนยอดลดลง เมื่อความเข้มข้นของ BA มากกว่า 5 ไมโครโมลาร์ และสำหรับยอดยาว 2 เซนติเมตร จำนวนยอดจะลดลงเมื่อ BA มีความเข้มข้นมากกว่า 10 ไมโครโมลาร์ แสดงให้เห็นว่า BA ในระดับดังกล่าวมีความเข้มข้นสูงเกินไป จึงไปยับยั้งการเกิดยอดใหม่ (Bonga, 1982; Huettelman and Preece, 1993; Khalafalla *et al.*, 1999; Rout, 2004) เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของ *Eucalyptus urophylla* บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1 และ 2 ไมโครโมลาร์ พบว่าเมื่อ BA มีความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้เกิดยอดมากที่สุด 4.3 ยอด แต่เมื่อความเข้มข้นของ BA มากกว่า 1 ไมโครโมลาร์ จำนวนยอดจะลดลง (Jintana and Roongrattanakul, 2002)

สำหรับผลของ BA ต่อความยาวของยอดใหม่ เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่ 6 และยอดยาว 2 เซนติเมตร พบว่าที่ BA ทุกระดับความเข้มข้น กระตุ้นให้เกิดยอดใหม่ที่มีความยาวน้อยกว่า 0.3 เซนติเมตร แสดงว่าความเข้มข้นของฮอร์โมนที่อยู่ภายในและสารควบคุมการเจริญเติบโตจากภายนอกชิ้นเนื้อเยื่ออาจจะอยู่ในระดับที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ทั้งนี้อาจจะต้องมีการเติม GA₃ หรือออกซินร่วมเข้าไปในอาหารที่เพาะเลี้ยง หรือลดความเข้มข้นของไซโตไคนินลงโดยการย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อกระตุ้นให้ยอดยืดยาวขึ้น (Davies, 1995; Quoirin *et al.*, 2001) เช่นการทดลองของ Vengadesan *et al.* (2003) พบว่าการเติม GA₃ ความเข้มข้น 1.7 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ ลงในอาหารแข็งสูตร 1/2MS สามารถกระตุ้นให้ยอดของ *Acacia simuata* (Lour) Merr. ที่ยาว 1.8 เซนติเมตร เพิ่มขึ้นเป็น 5.3 เซนติเมตร ได้ และ Barracto *et al.* (1999) สามารถชักนำให้ยอดของ *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* ยืดยาวได้บนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และ GA₃ 2 ไมโครโมลาร์ นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมถ่านกัมมันต์สามารถชักนำให้ยอดยืดยาวได้ เช่น ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อใบเลี้ยงของสร้อยสยามในการทดลองครั้งนี้ และในการทดลองของ Quoirin *et al.* (2001) พบว่าการเติมถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารแข็งสูตร 3/4 MS สามารถชักนำให้ยอดของ *Acacia mearnsis* ยืดยาวได้

เมื่อเปรียบเทียบการเกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 และข้อใบเลี้ยง บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (5-15 ไมโครโมลาร์) และไม่เติมถ่านกัมมันต์ พบว่าข้อใบ

เลี้ยงเกิดยอดใหม่ได้ดีกว่าข้อลำดับที่ 6 เนื่องจากข้อใบเลี้ยงได้มาจากต้นกล้าที่มีอายุ 15 วัน หลังจากเมล็ดงอก ซึ่งอ่อนเยาว์กว่าชิ้นส่วนข้อ ที่ได้จากต้นเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้ออายุประมาณ 3 เดือน ชิ้นเนื้อเยื่อที่มีอายุน้อย (juvenile) สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าเนื้อเยื่อที่แก่กว่า เพราะเนื้อเยื่อที่มีอายุน้อย เซลล์ยังมีความว่องไว (active) ในการแบ่งเซลล์และมีความแข็งแรงกว่า (Pierik, 1989) สอดคล้องกับหลายงานทดลองที่พบว่า ข้อใบเลี้ยงเป็นชิ้นส่วนที่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าชิ้นส่วนอื่น เช่น ในมะตุ่ม (*Aglaia odorata* Lour.) เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอด ข้อและข้อใบเลี้ยง บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-50 ไมโครโมลาร์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อใบเลี้ยงเกิดยอดได้สูงที่สุด 3.5 ยอด มากกว่าชิ้นส่วนยอดและข้อ ซึ่งเกิดยอดได้ 1 และ 1.1 ยอด ตามลำดับ (วินิจ, 2546) ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และ ข้อใบเลี้ยงของ *Peltophorum pterocarpum* บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม kinetin ร่วมกับ NAA พบว่า ข้อใบเลี้ยงเกิดยอดมากที่สุด 4.5 ยอด (Uddin *et al.*, 2005) แต่มีการทดลองของ Komalavalli and Rao (2000) พบว่าการเพิ่มปริมาณยอด *Gymnema sylvestre* ด้วยชิ้นส่วนข้อสามารถเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด 57.2 ยอด ในขณะที่เมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยงและปลายยอดได้เพียง 24.5 และ 18.6 ยอด ตามลำดับ

สำหรับการเปรียบเทียบการเกิดยอดสร้อยสยามจากชิ้นส่วนยอดยาว 2 เซนติเมตร และข้อลำดับที่ 6 บนอาหารที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน (5-15 ไมโครโมลาร์) และไม่เติมถ่านกัมมันต์ พบว่ายอดยาว 2 เซนติเมตร สามารถเกิดยอดได้มากกว่าชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 สอดคล้องกับเมื่อเพาะเลี้ยงยอดยาว 6 เซนติเมตร บนอาหารที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนยอดเพิ่มจำนวนยอดได้มากกว่าชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 อาจเนื่องจากชิ้นส่วนข้อ ไม่มีปลายยอดที่จะสร้างฮอร์โมนเพิ่มขึ้น ดังนั้นสัดส่วนของไซโตไคนินที่เติมเข้าไปกับฮอร์โมนภายในเนื้อเยื่ออาจจะอยู่ในระดับที่ไม่เหมาะสมต่อการกระตุ้นให้เพิ่มปริมาณยอดได้มากเท่ากับชิ้นส่วนที่มีปลายยอด หรืออาจจะเนื่องจาก ยอดยาว 2 เซนติเมตร ที่นำมาเพาะเลี้ยงเป็นชิ้นส่วนยอดที่มีใบที่สามารถสร้างอาหารเองได้ และจากการทดลองในสร้อยสยามเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดยาว 2 และข้อลำดับที่ 6 พบว่ายอดใหม่ที่เพิ่มขึ้นส่วนใหญ่เกิดมาจากตาที่อยู่บริเวณโคนของยอดที่นำมาเพาะเลี้ยง และเนื้อเยื่อบริเวณรอยตัดที่โคนชิ้นส่วนที่พองตัวขึ้น โดยพบว่าชิ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 มีขนาดของเนื้อเยื่อนี้เล็กกว่าชิ้นส่วนยอดที่ยาว 2 เซนติเมตร จึงทำให้การพัฒนาของยอดใหม่ที่ได้น้อยกว่าชิ้นส่วนยอดยาว 2 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบว่ายอดใหม่บางส่วนของสร้อยสยามเกิดมาจากแคลลัส โดยพบว่าจะเกิดแคลลัสสีขาวที่ฐานรอยตัดของชิ้นส่วน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมถ่าน แต่เติม BA ทุกความเข้มข้น และแคลลัสนี้บางส่วนสามารถเจริญไปเป็นยอดได้ แสดงว่าออกซินและไซโตไคนินที่มีอยู่ในชิ้นเนื้อเยื่อร่วมกับ

ไซโตไคนินที่เติมเข้าไป ทำให้มีสัดส่วนของไซโตไคนินกับออกซินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่จากแคลลัสได้ โดยถ้าสัดส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินต่ำ แคลลัสจะพัฒนาไปเป็นยอด (Pierik, 1989; รังสฤษดิ์, 2541) เช่นเดียวกับการทดลองใน *Ceratonia siliqua* เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ พบว่าเกิดแคลลัสที่ฐานรอยตัดและแคลลัสนี้สามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ (Romano *et al.*, 2002)

4. ผลของออกซินต่อการเกิดราก

เมื่อเลี้ยงยอดสร้อยสยามบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA หรือ IBA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ พบว่า NAA ทุกความเข้มข้น สามารถกระตุ้นให้ยอดมีการเจริญของรากได้ แต่จะไม่พบการเจริญของรากในอาหารที่ไม่เติมออกซิน เนื่องจากออกซินจะกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์แล้วชักนำให้เกิดราก (Hopkins, 1995) นอกจากนี้ยังพบว่า NAA สามารถชักนำให้ยอดของสร้อยสยามเกิดรากได้เร็ว และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากกว่า IBA โดย NAA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด 40 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 0.9 ราก แต่รากจะอวบน้ำกว่าเมื่อชักนำด้วย IBA ซึ่งสอดคล้องกับที่ Watad *et al.* (1992) รายงานว่าเมื่อเลี้ยงยอดของ *Grerillea crithmifolia* บนอาหารแข็งสูตร MS โดยเปรียบเทียบผลของ NAA IBA และ IAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า NAA สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 83 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ IBA และ IAA ชักนำให้ยอดเกิดรากเพียง 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจาก IBA เป็นสารที่มีฤทธิ์ของออกซินค่อนข้างต่ำ เคลื่อนย้ายได้ช้าและสลายตัวเร็ว เมื่อเปรียบเทียบกับ NAA ที่มีฤทธิ์ของออกซินสูง เคลื่อนย้ายภายในต้นได้ดีและสลายตัวช้ากว่าจึงสามารถชักนำการเกิดรากได้ดีกว่า IBA (Moncousin, 1991) ต่างจากรายงานในพืชหลายชนิดที่พบว่า IBA จะกระตุ้นให้เกิดรากได้ดีกว่า NAA เช่น ใน *Prosopis tamarugo* (Nandwani and Ramawat, 1992) *Acacia seyal* Del. (Wasel, 2000) *Acacia sinuata* (Lour) Merr. (Vengadesan *et al.*, 2003) และกำยาน (*Styrax benzoides* Craib) (วรรัตน์, 2548) เป็นต้น นอกจากนี้การทดลองชักนำรากของสร้อยสยามที่ได้รับ NAA ทุกความเข้มข้น จะเกิดแคลลัสสีขาวขุ่นที่ฐานรอยตัดของชิ้นเนื้อเยื่อ และแคลลัสจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และเกิดมากกว่าเมื่อได้รับ IBA เนื่องจาก NAA ไปกระตุ้นการแบ่งเซลล์และชักนำให้เกิดแคลลัส (Pierik, 1989) สอดคล้องกับการชักนำรากของ *Pappea capensis* บนอาหารแข็ง MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม IBA ความเข้มข้น 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรืออย่างใดอย่างหนึ่ง พบว่าชักนำให้เกิดแคลลัสที่ฐานรอยตัดได้ (Mng' omba, *et al.*, 2007) ซึ่งในการเกิดรากนี้ นอกจากชนิดและความ

เข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต ยังมีปัจจัยอื่นๆ อีก เช่น สูตรอาหาร ปริมาณน้ำตาล หรือ ชนิดของพันธุ์พืช เป็นต้น (Mathur and Mukunthakumar, 1992; Bhatt and Dhar, 2000)

เมื่อนำยอดที่มีความยาวประมาณ 4 เซนติเมตร มาจุ่มโคนยอดในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที และจุ่มในสารเร่งรากเซราดิกชนิดผง จากนั้นเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าสารละลาย NAA ความเข้มข้น 5.3 มิลลิโมลาร์ สามารถกระตุ้นยอดให้เกิดรากได้มากที่สุด 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้มากกว่าการเติม NAA ลงในอาหารเพาะเลี้ยงในการทดลองแรก ซึ่งสอดคล้องกับที่ Kotsias and Roussos (2001) รายงานว่าการจุ่มโคนยอดในสารละลายออกซินสามารถกระตุ้นยอดให้เกิดรากเพิ่มขึ้นได้ดีกว่าการเติมออกซินลงในอาหารเพาะเลี้ยง เช่น การชักนำรากใน *Citrus limon* (L.) Burm, f. cv. Interdonato โดยการเติม IBA ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร เปรียบเทียบกับการจุ่มโคนยอดลงในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 นาที พบว่าการจุ่มโคนยอดสามารถกระตุ้นให้ยอดมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การเติม IBA ลงในอาหารเพาะเลี้ยงกระตุ้นให้เกิดรากได้เพียง 48 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการจุ่มโคนยอดลงในสารละลายออกซิน แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงที่ไม่เติมออกซิน จะส่งเสริมการเกิดรากและลดการเกิดแคลลัสที่ฐานรอยตัดของพืชที่มีเนื้อไม้ได้ (Puddephat *et al.*, 1999)

5. ผลของวัสดุปลูกต่อการรอดชีวิตของต้นกล้าสร้อยสยามในสภาพธรรมชาติ

เมื่อนำต้นกล้าสร้อยสยามออกย้ายปลูกในวัสดุปลูกผสมระหว่างขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1 และทราย: ขี้เถ้าแกลบ: อิฐทุบ อัตราส่วน 1: 1: 1 รดน้ำจนชุ่ม คลุมด้วยถุงพลาสติก จากนั้นค่อยๆ เปิดถุงพลาสติกออกเมื่อครบ 30 วัน พบว่าต้นสร้อยสยามที่อยู่ในวัสดุปลูกทราย: ขี้เถ้าแกลบ: อิฐทุบ อัตราส่วน 1: 1: 1 มีอัตราการรอดชีวิตเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่วัสดุปลูกผสมระหว่างขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว ต้นกล้าไม่สามารถรอดชีวิตได้ อาจจะเป็นเนื่องจากรากที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อมีขนาดเล็ก อ่อนแอ นอกจากนี้ต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อใบจะมีการสังเคราะห์แสงได้น้อย ร่วมกับการที่ใบมีชั้นของคิวติเคิล (cuticle) ที่บาง จึงเป็นสาเหตุทำให้เมื่อย้ายปลูกต้นพืชจะสูญเสียน้ำได้ง่าย (Pierik, 1989) เป็นสาเหตุให้การรอดชีวิตต่ำ นอกจากนี้ระดับของ NAA ที่สูงจะกระตุ้นให้เกิดแคลลัสที่ฐานของยอดซึ่งแคลลัสนี้จะไปชะลอหรือทำให้การเชื่อมต่อของท่อลำเลียงของยอดและรากเกิดได้ไม่ดี ส่งผลทำให้ยอดไม่ได้รับสารอาหารหรือปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้อย่างพอเพียง (Puddephat *et al.*, 1999) จึงมีผลต่อการอยู่รอดของต้นกล้า สอดคล้อง

กับการย้ายปลูกร *Coffea arabica* L. พบว่ายอดที่ชักนำให้เกิดรากด้วย IAA หรือ IBA เมื่อย้ายปลูกรจะมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อชักนำด้วย NAA จะพบการเกิดแคลลัสรอบๆ ราก และมีอัตราการรอดชีวิตเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ (Ebrahim *et al.*, 2007)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การชักนำยอดโดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่ 2-6 นับจากปลายยอด กิ่งยาวประมาณ 6 เซนติเมตร และยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ที่ได้จากต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ และข้อใบเลี้ยงที่ได้จากต้นกล้าอายุ 15 วัน บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA หรือ TDZ ความเข้มข้นต่างๆ และเติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ ให้ผลดังนี้

1.1 ชิ้นส่วนข้อที่ 2-6 ที่เลี้ยงบนอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์ พบว่า BA ไม่สามารถกระตุ้นให้เพิ่มจำนวนยอดได้ แต่ BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้อุดมีความยาวเฉลี่ยมากที่สุด 1.26 เซนติเมตร มีจำนวนข้อเฉลี่ย 4.18 ข้อ และลำดับข้อที่ 6 นับจากปลายยอด ให้ยอดที่มีความยาวมากที่สุด 1.29 เซนติเมตร มีข้อ 4.4 ข้อ

1.2 ชิ้นส่วนข้อที่ 6 ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติมถ่านกัมมันต์ และ TDZ อย่างเดียวหรือร่วมกับ BA ไม่สามารถกระตุ้นให้เพิ่มจำนวนยอดได้ ความยาวยอดและจำนวนข้อของยอดใหม่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

1.3 เมื่อเพาะเลี้ยงกิ่งยาวประมาณ 6 เซนติเมตร บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ ให้จำนวนยอดมากที่สุด 26.9 ยอด แต่บนอาหารที่เติมถ่านกัมมันต์ไม่มีการเพิ่มปริมาณของยอด

1.4 เมื่อเพาะเลี้ยงข้อลำดับที่ 6 และยอด (ยาวประมาณ 2 เซนติเมตร) พบว่าบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ กระตุ้นให้ชิ้นส่วนยอดเพิ่มจำนวนยอดได้มากที่สุด 9.3 ยอด

1.5 ข้อใบเลี้ยง ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์และเติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอดมากที่สุด 12.6 ยอด

2. การชักนำโรคโดยเชื้อยีสต์ที่ยาวประมาณ 4 เซนติเมตร ที่ได้จากต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA หรือ IBA ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ หรือจุ่มโคนยอดลงในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที และจุ่มในสารเร่งรากเซราดิกซ์ชนิดผง จากนั้นเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ให้ผลดังนี้

2.1 ยอดที่เลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติม NAA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้ยอดเกิดรากได้มากที่สุด 40 เปอร์เซ็นต์ ได้รากจำนวน 0.9 ราก

2.2 เมื่อจุ่มโคนยอดลงในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก มากที่สุด 70 เปอร์เซ็นต์ และมีรากจำนวน 3.2 ราก

3. การย้ายปลูก ต้นสร้อยสยามที่ใช้วัสดุปลูก ทราบ: ขี้เถ้าแกลบ: อิฐทุบ อัตราส่วน 1: 1: 1 มีอัตราการรอดชีวิต 20 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าการใช้วัสดุปลูก ขี้เถ้าแกลบ: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสร้อยสยาม พบว่าในขั้นตอนการเตรียมพืชให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ โดยการเพาะเมล็ดบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต จะทำให้เมล็ดงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และลดการเกิด phenolic compound ได้ดีกว่าเพาะเมล็ดบนอาหารที่ไม่เติมถ่านกัมมันต์ ซึ่งจะทำให้เกิด phenolic compound มาก และทำให้การงอกของเมล็ดช้าหรือไม่งอก

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

พรทิพย์ บุญมงามงคล. 2549. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อค้ำมอกน้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

วรรณัน บุญสนองสุภา. 2548. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อค้ำยาน. ปัญหาพิเศษปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วินิจ พลศักดิ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประยงค์ (*Aglaia odorata* Lour.) และการเปรียบเทียบสารทุติยภูมิที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับต้นที่พบในสภาพธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2544. สรีรวิทยาของพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

องค์การสวนพฤกษศาสตร์. 2537. องค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์. เล่ม 1. โอ. เอส. พรินติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

_____ 2546. องค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์. เล่ม 7. โอ. เอส. พรินติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

Aliyu and O. Mashood. 2005. Application of tissue culture to cashew (*Anacardium occidentale* L.) breeding: An appraisal. **Afri. J. Biotech.** 4(13): 1485-1489.

Barrueto, L. P., A. C. M. G. Machado, S. B. R. C. Carvalheira and A. C. M. Brasileiro. 1999. Plant regeneration from seedling explants of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 56: 17-23.

- Bates, S., J. E. Preece, N. E. Navarrete, J. W. V. Sambeek and G. R. Gaffney. 1992. Thidiazuron stimulates shoot organogenesis and somatic embryogenesis in white ash (*Fraxinus Americana* L.). **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 31: 21-29.
- Begum, F., M. N. Amin, S. Islam and M. A. K. Azad. 2004. A comparative study of axillary shoot proliferation from the nodal explants of three varieties Pummelo (*Citrus grandis* (L.) Osb.). **Biotech.** 3(1): 56-62.
- Bhatt, I. D. and U. Dhar. 2000. Combined effect of cytokinins on multiple shoot production from cotyledonary node explants of *Bauhinia vahlii*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 62: 79-83.
- Bhojwani, S. S. and M. K. Razdan. 1983. **Plant Tissue Culture: Theory and Practice.** Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Boggetti, B., J. Jasik and S. Mantell. 1999. In vitro multiplication of cashew (*Anacardium occidentale* L.) using shoot node explants of glasshouse-raised plants. **Plant Cell Rep.** 18: 456-461.
- Bohidar, S., M. Thirunavoukkarasu and T. V. Rao. 2008. Effect of plant growth regulators on *in vitro* micropropagation of 'Garden rue' (*Ruta graveolens* L.). **Int. J. Integrative Biol.** 3(1): 36-43.
- Bonga, J. M. 1982. Tissue culture techniques, pp. 4-35. *In* J. M. Bonga and D. J. Durzan (eds.). **Tissue Culture in Forestry. Vol. 1.** Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
- Das, T and Mitra G. C. 1990. Micropropagation of *Eucalyptus tereticornis* Smith. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 22: 95-103.

- Datta, S. K., K. Datta and T. Pramanik. 1983. *In vitro* clonal multiplication of mature trees of *Dalbergia sissoo* Roxb. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 2: 15-20.
- Davies, P. J. 1995. **Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology.** Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Dewan, A., K. Nanda and S. C. Gupta. 1992. *In vitro* micropropagation of *Acacia nilotica* subsp. *indica* Brenan via cotyledonary nodes. **Plant Cell Rep.** 12: 18-21.
- Dhawan, V. and S. S. Bhojwani. 1985. *In vitro* vegetative propagation of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 4: 315-318.
- Ebrahim, N., R. Shibli, I. Makhadmeh, M. Shatnawi and A. Abu-Ein. 2007. *In vitro* propagation and *in vitro* acclimatization of three coffee cultivars (*Coffea Arabica* L.) from Yemen. **World Applied Sci. J.** 2(2): 142-150.
- Eymar, E., J. Alegre, M. Toribio and D. Lopez-Vala. 2002. Effect of activated charcoal and 6-benzyladenine on *in vitro* nitrogen uptake by *Lagerstroemia indica*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 63: 57-65.
- Gharyal, P. K. and S. C. Maheshwari. 1990. Differentiation in explant from mature leguminous trees. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 8: 550-553.
- Goncalves, J. C., S. Amancio and J. Santos. 1994. Rooting and acclimatization of chestnut by *in vitro* propagation. **Physiol. Growth Develop. Plants Cult.** : 303-308.
- Hassan, A. K. M. S and S. K. Roy. 2005. Micropropagation of *Gloriosa superba* L. through high frequency shoot proliferation. **Plant Tissue Cult.** 15(1): 67-74,
- Hopkins, W. G. 1995. **Introduction to Plant Physiology.** John Wiley & Sons, Inc., USA.

- 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.
- Ibanez, A., M. Valero and A. Morte. 2003. Influence of cytokinins and subculturing on proliferation capacity of single-axillary-bud microcuttings of *Vitis vinifera* L. cv. Napoleon. **Analea de Biol.** 25: 81-90.
- Jintana, P. and P. Roongrattanakul. 2002. Tissue culture of *Eucalyptus urophylla*. **Proceedings of the Forestry Conference.** pp. 193-201.
- Khalafalla, M. M. 1999. A combination of thidiazuron and benzyladenine promotes multiple shoot production from cotyledonary node explants of faba bean (*Vicia faba* L.). **Plant Growth Regul.** 27: 145-148.
- Komalavalli, N. and M. V. Rao. 2000. *In vitro* micropropagation of *Gymnema sylvestre* – A multipurpose medicinal plant. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 61: 97-105.
- 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 seedling. **Sci. Hort.** 89: 115-128.
- Kumar, A. 1992. Micropropagation of a mature leguminous tree-*Bauhinia purpurea*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 31: 257-259.
- Lardet, L., E. Aguilar, N. M. Ferriere and M. Berthouly. 1998. Effect of strictly plant-related factors on the response of *Hevea brasiliensis* and *Theobroma cacao* nodal explants cultured *in vitro*. **In. Vitro Cell. Dev. Biol. –Plant** 34: 34-40.
- Larsen, K. and S. S. Larsen 2002. *Bauhinia siamensis* (Leguminosae-Caesalpinioideae), an extraordinary new species from Thailand. **Nat. Hist. Bull. Siam Soc.** 50(1): 99-104.

- _____, _____, and J. E. Vidal. 1984. Leguminosae-Caesalpinioideae, pp. 1-129. *In* T. Smitnand and K. Larsen, eds. **Flora of Thailand** 4(1). The Tistr Press, Bangkok.
- Lopez-Escamilla, A. L., L. T. Olguin-Santos, J. Marquez, V. M. Chavez and R. Bye. 2000. Adventitious bud formation from mature embryos of *Picea chihuahuana* Martinez, an endangered Mexican spruce tree. **Ann. Bot.** 86: 921-927.
- Lyndon, R. F. 1990. **Plant Development: The Cellular Basis**. Unwin Hyman, London.
- Mackay, W. A., J. L. Tipton and G. A. Thompson. 1995. Micropropagation of Mexican redbud, *Cercis canadensis* var. *mexicana*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 43: 295-299.
- Mathur, J and S. Mukunthakumar. 1992. Micropropagation of *Bauhinia variegata* and *Parkinsonia aculeate* from nodal explant of mature trees. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 28: 119-121.
- Mng'omba, S. A., E. S. D. Toit, F. K. Akinnifesi and H. M. Venter. 2007. Repeated exposure of jacket plum (*Pappea capensis*) micro-cuttings to indole-3-butyric acid (IBA) improved *in vitro* rooting capacity. **South Afri. J. Bot.** 73: 230-235.
- Mok, M. C., D. W. S. Mok, J. E. Turner and C. V. Mujer. 1987. Biological and biochemical effect of cytokinin-active phenylurea derivatives in tissue culture systems. **Hort. Sci.** 22(6): 1194-1197.
- _____, D. W. S. and M. C. Mok. 1994. **Cytokinins: Chemistry, Activity and Function**. CRC.
- Moncousin, C. H. 1991. Rooting of *in vitro* cuttings, pp. 231-216. *In* Y. P. S. Bajaj (eds). **Biotechnology in Agriculture and Forestry vol. 17 High-tech and Micropropagation** I. Springer-Verlag. Berlin.

- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassats with tobacco tissue culture. **Physiol. Plant.** 15: 473 – 497.
- Nandwani, D. and K. G. Ramawat. 1992. Highfrequency plantlets regeneration from seedling explants of *Prosopis tamarugo*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 29: 173-178.
- Nayak, P., P. R. Behera and T. Manikkannan. 2007. High frequency plantlet regeneration from cotyledonary node culture of *Aegle marmelos* (L.) Corr. **In vitro Cell. Dev. Biol. –Plant** 43: 231-236.
- Nielsen, J. M., J. Hansen and K. Brandt. 1995. Synergism of thidiazuron and benzyladenine in axillary shoot formation depends on sequence of application in *Miscanthus X ogiformis* ‘Giganteus’. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 41: 165-170.
- Pan, M. J. and J. Van Staden. 1998. The use of charcoal in *in vitro* culture-a review. **Plant Growth Regul.** 26: 155-163.
- Pierik, R.L.M. 1987. **In Vitro Culture of Higher Plant.** Kluwer Academic, Dordrecht
- Puddephat, I. J., P. G. Alderson and N. A. Wright. 1999. *In vitro* root induction in axillary microshoots of *Quercus robur* L. **Ann. Appl. Biol.** 134: 233-239.
- Quoirin, M., M. C. D. Silva, K. G. Martins and D. E. D Oliveira. 2001. Multiplication of juvenile black wattle by microcuttings. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 66: 199-205.
- Rahman, S. M., M. Hossain, B. K. Biswas, O. I. Joarder and R. Islam. 1993. Micropropagation of *Caesalpinia pulcherrima* through nodal bud culture of mature tree. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 32: 363-365.

- Romano, A., S. Barros and M. A. M. Loucao. 2002. Micropropagation of the Mediterranean tree *Ceratonia siliqua*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 68: 35-41.
- Rout, G. R. 2004. Effect of cytokinins and auxin on micropropagation of *Clitoria ternatea* L. **Biol. Lett.** 41(1): 21-26.
- Sudarsono and R. G. Goldy. 1991. Growth regulator and axillary bud position effects on *in vitro* establishment of *Vitis rotundifolia*. **Hort. Sci.** 26(3): 304-307.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. **Plant Physiology**. 3th ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland.
- Thomas, T. D. 2008. The role of activated charcoal in plant tissue culture. **Biotech. Adv.** 26: 618-631.
- Uddin, M. S., K.Nasirujjaman, S. Zaman and M. A. Reza. 2005. Regeneration of multiple shoots from different explants vis. shoot tip, nodal segment and cotyledonary node of *in vitro* grown seedlings of *Peltophorum pterocarpum* (DC.) Backer ex K. Heyne. **Biotech.** 4(1): 35-38.
- Upreti, J and U. Dhar. 1996. Micropropagation of *Bauhinia vahlii* Wight & Arnott-a leguminous liana. **Plant Cell Rep.** 16: 250-254.
- Vengadesan, G., A. Ganapathi, S. Amutha and N. Selvaraj. 2003. High-frequency plant regeneration from cotyledon callus of *Acacia sinuata* (Lour) Merr. **In vitro Cell. Dev. Biol. –Plant** 39: 28-33.
- Wasel, A. S. 2000. Micropropagation of *Acacia seyal* Del. *in vitro*. **J. Arid Environ.** 46: 425-431.

Watad, A. A., J. Ben-Laacov, E. Tal and H. Solomon. 1992. *In vitro* propagation of *Grevillea* species. **Acta Hort.** 361: 51-53.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

สารเคมี	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Macroelements	
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
Microelements	
H_3BO_3	6.2
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	6.9
$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	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
Organic Compound	
Myo-inositol	100
Glycine	2
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Sucrose	30000
Agar	7000
pH	5.7

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงขึ้นส่วนข้อ ลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	19	7.38	0.38	1.83**
BA (B)	3	3.03	1.01	4.89**
Node order (N)	4	3.03	0.75	3.66**
B x N	12	1.32	0.11	0.53 ^{ns}
Error	180	37.27	0.207083	
Total	199	44.66		

CV = 40.8%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงขึ้นส่วนข้อลำดับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	19	92.82	23.30	7.27**
BA (B)	3	37.78	12.59	3.93*
Node order (N)	4	36.77	9.19	2.87*
B x N	12	18.27	1.52	0.47 ^{ns}
Error	180	577.4	3.20	
Total	199	670.22		

CV = 48.8%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ
ลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 5
ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	4	0.74	0.18	0.64 ^{ns}
Error	45	13.03	0.28	
Total	49	13.77		

CV = 40.3%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับ
ที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม BA 5 ไม
โครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 ไมโครโมลาร์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	4	10.00	2.50	1.34 ^{ns}
Error	45	84.00	1.86	
Total	49	94.00		

CV = 34.2%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ
ลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ
0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียว นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	4	3.92	0.98	2.30 ^{ns}
Error	20	8.52	0.42	
Total	24	12.54		

CV = 78.5%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำดับ
ที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ 0, 0.1,
0.25, 0.5, 1 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียว นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	4	22.16	5.54	1.34 ^{ns}
Error	20	82.40	4.12	
Total	24	104.56		

CV = 90.6%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงกิ่งของสร้อย
สยามที่ยาวประมาณ 6 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 ไมโครโม
ลาร์ ร่วมกับถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

	Variable 1	Variable 2
Mean	26.55555556	0
Variance	61.02777778	0
Observations	9	9
df	16	
t Stat	10.19794976	**
P(T<=t) one-tail	1.04487E-08	
t Critical one-tail	1.745883669	

CV = 39.1%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ
ลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และ
ไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	22.40	7.46	7.47**
Error	36	36.00	1.00	
Total	39	58.40		

CV = 55.6%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงขึ้นส่วนข้อลำดับที่ 6 บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	3.12	1.04	21.14**
Error	36	1.77	0.049	
Total	39	4.89		

CV = 49.9%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	498.60	166.20	13.68**
Error	36	437.40	12.15	
Total	39	936.00		

CV = 69.7%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยง ยอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ และไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	9.03	3.01	41.70**
Error	36	2.60	0.072	
Total	39	11.63		

CV = 33.2%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยง บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	7	1504.11	214.87	25.51**
activated charcoal (AC)	1	640.66	640.66	76.03**
BA (B)	3	472.54	157.51	18.69**
AC x B	3	390.91	130.30	15.46**
Error	88	741.50	8.42	
Total	95	2245.62		

CV = 52.2%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยง บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	7	235.90	33.70	18.02**
activated charcoal (AC)	1	184.87	184.87	98.46**
BA (B)	3	23.81	7.93	4.23**
AC x B	3	27.22	9.07	4.83**
Error	88	165.22	1.87	
Total	95	401.13		

CV = 31.2%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนข้อของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงข้อใบเลี้ยง บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หรือไม่เติมถ่านกัมมันต์ นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	7	188.57	26.93	10.43**
activated charcoal (AC)	1	131.95	131.95	50.96**
BA (B)	3	14.87	4.95	1.91 ^{ns}
AC x B	3	41.75	13.91	5.37**
Error	88	227.87	2.58	
Total	95	416.45		

CV = 29.4%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนรากของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอดบนอาหาร
 แข็งสูตร MS ที่เติม NAA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6
 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	8.10	2.70	0.78 ^{ns}
Error	36	125.40	3.48	
Total	39	133.50		

CV = 248.8%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวรากของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอดบน
 อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน
 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	2.48	0.82	1.63 ^{ns}
Error	36	18.28	0.50	
Total	39	20.76		

CV = 286.1%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนรากของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอดบนอาหาร
 แข็งสูตร MS ที่เติม IBA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 6
 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	1.20	0.40	1.71 ^{ns}
Error	36	8.40	0.23	
Total	39	9.60		

CV = 483%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวรากของสร้อยสยามเมื่อเลี้ยงยอดบน
 อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน
 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	0.11	0.039	1.42 ^{ns}
Error	36	1.00	0.027	
Total	39	1.12		

CV = 530.4%

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนรากของสร้อยสยามโดยจุ่มในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที แล้วเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	76.80	25.60	8.41**
Error	36	109.60	3.04	
Total	39	186.40		

CV = 218.1%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวรากของสร้อยสยามโดยจุ่มในสารละลาย NAA ความเข้มข้น 0, 2.6, 4.0 และ 5.3 มิลลิโมลาร์ นาน 5 นาที แล้วเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 6 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	5.49	1.83	6.08**
Error	36	10.84	0.30	
Total	39	16.34		

CV = 256.5%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 22 ค่า pH ของอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0-1 ไมโครโมลาร์ หรือ BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ที่เติมและไม่เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร pH 5.7 โดยวัดค่า pH ก่อนและหลังนึ่งฆ่าเชื้อ วัสดุทุกๆ 2 สัปดาห์

ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	pH ก่อนนึ่ง ฆ่าเชื้อ	pH หลังนึ่งฆ่าเชื้อ									
		สัปดาห์ที่ 1		สัปดาห์ที่ 2		สัปดาห์ที่ 4		สัปดาห์ที่ 6			
		no AC	AC	no AC	AC	no AC	AC	no AC	AC		
TDZ	0	4.23	6.12	5.45	6.03	4.79	6.03	4.81	5.97	4.62	5.95
	0.1	4.23	6.14	5.24	6.02	4.94	5.99	4.15	5.99	4.64	5.12
	0.25	4.24	6.15	5.33	5.95	5.00	5.95	4.76	5.96	4.61	5.98
	0.5	4.23	6.16	5.24	6.01	4.90	6.00	4.82	5.97	4.69	5.97
	1	4.25	6.18	5.24	6.05	4.87	5.90	4.81	5.98	4.60	5.95
BA	5	4.37	6.15	5.24	5.98	4.93	5.95	4.80	5.92	4.64	5.80

หมายเหตุ AC = เติมถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร

no AC = ไม่เติมถ่านกัมมันต์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวฐิติมา ธาราวุฒิ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 26 ธันวาคม 2522
สถานที่เกิด	พิษณุโลก
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเฉลิมขวัญสตรี วท.บ.(ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยนเรศวร
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-