ผลของสารไธไดอะซูรอนต่อการเกิดยอดของหน้าวัว

(Anthurium andraeanum Lind.)

นางสาวมิ่งขวัญ ทวีทรัพย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2549

EFFECTS OF THIDIAZURON ON SHOOT REGENERATION OF ANTHURIUM (*Anthurium andraeanum* Lind.)

Mingkwan Taweesap

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Crop Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2006

ผลของสารไธไดอะซูรอนต่อการเกิดยอดของหน้าวัว *(Anthurium andraeanum* Lind.)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....

(อ. ดร.โสภณ วงศ์แก้ว)

ประธานกรรมการ

.....

(ผศ. ดร.ปิยะดา ทิพยผ่อง)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

.....

(ศ. ดร.ไพศาล เหล่าสุวรรณ)

กรรมการ

.....

(ผศ. ดร.ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร)

กรรมการ

.....

(อ. ดร.ฐิติพร มะชิโกวา)

กรรมการ

.....

(รศ. ดร.เสาวณีย์ รัตนพานี)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

.....

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)

คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มิ่งขวัญ ทวีทรัพย์ : ผลของสารไธไดอะซูรอนต่อการเกิดยอดของหน้าวัว (*Anthurium andraeanum* Lind.) [EFFECTS OF THIDIAZURON ON SHOOT REGENERATION OF ANTHURIUM (*Anthurium andraeanum* Lind.)] อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา ทิพยผ่อง, 87 หน้า.

หน้าวัว (*Anthurium andraeanum* Lind.) เป็นไม้ตัดดอกที่ได้รับความนิยมและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจสูงทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ แต่การผลิตหน้าวัวมักมีปัญหาในเรื่องการขยายพันธุ์ช้า จึงมีการนำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์ ในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาผลของสารไธไดอะซูรอน (Thidiazuron; TDZ) ต่อการเกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตและทรอปพิคอล โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตในสภาพปลอดเชื้อในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.01, 0.05, 0.10, 0.50 และ 1.00 มก./ล. เป็นระยะเวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ แล้วย้ายไปยังอาหาร MS ที่ปราศจากฮอร์โมนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าระดับความเข้มข้นของ TDZ และระยะเวลาการเลี้ยง มีผลต่อจำนวนยอด/ชิ้นและจำนวนยอดรวมของหน้าวัวอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) TDZ ที่ระดับ 0.50 มก./ล. เป็นความเข้มข้นที่ชักนำยอดได้จำนวนยอดสูงสุดที่ระยะ 6 และ 8 สัปดาห์ และเมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลานาน 8 สัปดาห์ มีการเกิดจำนวนยอด/ชิ้นสูงสุด 3.94 ยอด และมีจำนวนยอดรวม 349.94 ยอด รองลงมาคือในอาหารสูตรเดียวกันที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ ให้จำนวนยอด/ชิ้น 3.38 ยอด และเกิดยอดรวม 311.55 ยอด ซึ่งการเลี้ยงทั้ง 2 ระยะเวลาให้จำนวนยอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ การเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ระดับความเข้มข้น 1.00 มก./ล. ทำให้เนื้อเยื่อมีการพัฒนาไปเป็นแคลลัสสูงในทุกระยะเวลาการเลี้ยง ที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ให้จำนวนยอด/ชิ้น และจำนวนยอดรวมต่ำกว่า TDZ ความเข้มข้น 0.50 มก./ล. อย่างมีนัยสำคัญ และยอดที่ได้มีลักษณะสั้นและแคระแกร็น บางส่วนมีการเกิดลักษณะใบด่าง เมื่อนำเนื้อเยื่อส่วนข้อของพันธุ์ลินเนตมาเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ 0.10-0.50 มก./ล. เปรียบเทียบกับอาหารสูตรที่เติม BA 0.20 มก./ล. (สูตรเปรียบเทียบ) เป็นระยะเวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ แล้วย้ายไปยังอาหาร MS ที่ปราศจากฮอร์โมนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าทุกระดับความเข้มข้นของ TDZ ให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ยในทุกระยะเวลาการเลี้ยงมากกว่า BA อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) สำหรับอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวเพื่อเพิ่มจำนวนยอด ได้แก่ อาหารที่เติม TDZ เข้มข้น 0.40 มก./ล. เลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยให้จำนวนยอด/ชิ้นสูงสุด 5.56 ยอด และจำนวนยอดรวมสูงสุด 547.90 ยอด มากกว่าอาหารสูตรเปรียบเทียบ 5.6 และ 6.8 เท่า ตามลำดับ ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล ในอาหารสูตรที่เติม TDZ 0.10, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 มก./ล. เปรียบเทียบกับ BA 0.20 มก./ล. เป็นเวลา 4, 6 และ 8 สัปดาห์ จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่ต่างกันให้จำนวนยอด/ชิ้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ให้จำนวนยอดรวมต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญ (P<0.05) โดย TDZ 0.25-0.50 มก./ล. เป็นช่วงความเข้มข้นที่มีการชักนำให้เกิดยอดสูง ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และจำนวนยอดเฉลี่ยสูงกว่าสูตรเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) และมีแนวโน้มในการเกิดจำนวนยอดสูงสุดเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ 0.50 มก./ล. ที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยให้จำนวนยอด/ชิ้น 2.50 ยอด ซึ่งมากกว่าอาหารสูตรเปรียบเทียบ 1.4 เท่า และเกิดจำนวนยอดรวม 239.75 ยอด ซึ่งมากกว่าสูตรเปรียบเทียบ 4.1 เท่า ผลการทดลองแสดงว่าปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติดของหน้าวัว ได้แก่ ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต ระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อ รวมถึงพันธุกรรมของหน้าวัว

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2549 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

MINGKWAN TAWEESAP : EFFECTS OF THIDIAZURON ON SHOOT REGENERATION OF ANTHURIUM (*Anthurium andraeanum* Lind.).
THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PIYADA THIPYAPONG, Ph. D. 87 P.

THIDIAZURON/ ANTHURIUM/ *Anthurium andraeanum* Lind./ TISSUE CULTURE/ SHOOT REGENERATION

Anthurium (*Anthurium andraeanum* Lind.) is one of the most popular and economically important cut flower in Thailand and many countries. But its production is usually limited due to long propagation period. Therefore, tissue culture has been used to allow more efficient anthurium clonal propagation. The effects of thidiazuron (TDZ) on direct shoot formation of anthurium cv. 'Linnet' and 'Tropical' were studied in vitro. Node sections, each containing a single bud, of in vitro plantlets of anthurium cv. 'Linnet' were cultured on MS medium supplemented with 0.01, 0.05, 0.10, 0.50 and 1.00 mg/L TDZ for 2, 4, 6 and 8 weeks, and then transferred to hormone-free medium for 8 weeks. Number of shoots/explant and total number of shoots formed were highly significant ($P<0.01$) among different TDZ concentrations and culture time. The medium containing 0.50 mg/L TDZ gave the highest number of shoots at 6 and 8 weeks. The highest number of shoots/explant (3.94) and total number of shoots (349.94) were obtained when cultured for 8 weeks. Six weeks of culture resulted in lower number of shoots/explant (3.38) and total number of shoots (311.55), however, no significant difference was found between 6 and 8 weeks. Callus was significantly induced on medium containing 1.00 mg/L TDZ at all culture time. At 6 and 8 weeks, number of shoots/explant and total number of shoots were significantly lower than those obtained from medium supplementing with 0.50 mg/L TDZ. In addition,

the shoots formed were short and stunt with some mosaic leaves. When similar explants were cultured on medium supplemented with 0.10-0.50 mg/L TDZ and 0.20 mg/L BA (control) for 2, 4, 6 and 8 weeks, and then transferred to hormone-free medium for 8 weeks, TDZ at all of the tested concentrations gave significantly higher total number of shoots, averaged over all culture time, than BA ($P<0.05$). The optimum TDZ concentration for shoot formation was 0.40 mg/L when cultured for 6 weeks. Under this condition, the number of shoots/explant was 5.56 and the total number of shoots was 547.90 which were 5.6- and 6.8-fold higher than control, respectively. For anthurium cv. 'Tropical', explants were cultured on medium supplemented with 0.10, 0.25, 0.50, 0.75 and 1.00 mg/L TDZ, compared with 0.20 mg/L BA (control), for 4, 6 and 8 weeks, and then transferred to hormone-free medium for 8 weeks. There was no significant difference on the number of shoots/explant among different media. But various media gave significantly different total number of shoots ($P<0.05$). The range of TDZ concentrations leading to the highest shoot regeneration was 0.25-0.50 mg/L, giving significantly higher percentage of shoot formation and total number of shoots, averaged over culture time, than control. The highest number of shoots tended to be obtained when cultured on medium containing 0.50 mg/L TDZ for 6 weeks, with the average number of shoots per explant of 2.50 (1.4-fold higher than control) and the total number of shoots of 239.75 (4.1-fold higher than control). These results suggested that factors affecting in vitro shoot regeneration of anthurium node sections included types of growth regulators, concentrations of growth regulators, culture time and genotypes.

School of Crop Production Technology — Student's Signature Mingkwan Taweesap

Academic Year 2006 — Advisor's Signature Pinta Thipyapong

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบุคคลและกลุ่มบุคคลต่าง ๆ ที่ได้ให้ความกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ทั้งในด้านวิชาการและด้านการดำเนินการวิจัยดังรายนามต่อไปนี้

ขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงยิ่ง ศาสตราจารย์ ดร. อารีย์ วรัญญูวัฒก์ อาจารย์ที่ปรึกษาเดิมที่ให้การอบรมสั่งสอน ให้ความรู้ ให้โอกาส และประสบการณ์ต่าง ๆ เป็นเวลาเกือบ 5 ปี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะดา ทิพยผ่อง รักษาการอาจารย์ที่ปรึกษา และศาสตราจารย์ ดร. ไพศาล เหล่าสุวรรณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร และ ดร. ฐิติพร มะชิโกวา ที่ช่วยให้คำแนะนำ ให้การอบรมสั่งสอน ให้ความรู้ และตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ และคณาจารย์ทุกท่านที่ให้การอบรมสั่งสอน

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ คุณเอกวัฒน์ ธาราพฤกษพงษ์ คุณอรทัย นาชิน และเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือ ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์

ขอขอบคุณ อนงค์นุช ผลวงษ์ และน้อง ๆ ทุกท่านที่มีส่วนช่วยอำนวยความสะดวกและเป็นกำลังใจในการทำวิจัย ขอขอบคุณเป็นพิเศษ คุณจุฑามาศ เพียซ้าย และคุณบัณฑิต ทองพิมาย ที่ให้ความช่วยเหลือในทุกด้านและเป็นกำลังใจที่ดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงยิ่งสำหรับ คุณแม่เพ็ญพักตร์ น้อยอรุณ และคุณพ่อสมเกียรติ ทวีทรัพย์ ที่ให้การอบรมเลี้ยงดู ช่วยเป็นพลังใจส่งเสริมในทุกด้านเป็นอย่างดี ทำให้ผู้วิจัยดำเนินชีวิตที่ดีมาโดยตลอด และได้ประสบผลสำเร็จในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

มิ่งขวัญ ทวีทรัพย์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ซ

สารบัญภาพ ..... ฎ

บทที่

1. บทนำ 1

1.1 ความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ 3

1.3 สมมุติฐานของการวิจัย 3

1.4 ขอบเขตของการวิจัย 3

2. วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหน้าวัว 4

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 7

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวเพื่อการขยายพันธุ์ 9

2.4 คุณสมบัติทางเคมีของสาร thidiazuron (TDZ) 18

2.5 การชักนำให้เกิดยอดด้วยสาร TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 20

3. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย 25

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ 25

3.2 วิธีทดลอง 26

3.2.1 การเตรียมการทดลอง 26

3.2.2 การทดลอง 29

3.2.3 สถานที่ทำการทดลอง 33

3.2.4 ระยะเวลาการทดลอง 33

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 34
4.1 การทดลองที่ 1 34
4.2 การทดลองที่ 2 42
4.3 การทดลองที่ 3 49
4.4 วิจารณ์ผลการทดลอง 56
5. สรุปผลการทดลอง 58
ข้อเสนอแนะ 59
รายการอ้างอิง 60
ภาคผนวก 67
ประวัติผู้เขียน 87

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสของหน้าวัว 15

2 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดจากแคลลัสของหน้าวัว 17

3 การวิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์) 38

4 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร 39

5 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์) 40

6 การวิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์) 45

7 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร 46

8 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์) 47

9 การวิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา (4, 6 และ 8 สัปดาห์) 52

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

10 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร 53

11 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา (4, 6 และ 8 สัปดาห์) 54

ตารางภาคผนวกที่

1 สูตรอาหารของ Murashige and Skoog (1962) 68

2 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามสูตรอาหาร) 70

3 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามระยะเวลา) 72

4 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามสูตรอาหาร) 74

5 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามระยะเวลา) 76

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

6 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอลเมื่อเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามสูตรอาหาร) 78

7 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอลเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามระยะเวลา) 80

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลา 4 ระยะเวลา 41

2 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา 48

3 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล เมื่อเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา 55

ภาพภาคผนวกที่

1 การเลี้ยงเนื้อเยื่อในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 82

2 ยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.01 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 82

3 เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 1.00 มก./ล. เป็นเวลา 2 สัปดาห์ 83

4 เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 1.00 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ [A-C: เนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัส ยอดที่ได้สั้นแคระแกร็น ใบมีลักษณะผิดปกติ, D: เนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัส แบบ compact, E: เนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัส แบบ friable, F: เนื้อเยื่อมีการเกิดยอดที่มีลักษณะใบด่าง] 83

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพภาคผนวกที่ **หน้า**

5 เนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ลินเนตที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ (0.01, 0.05, 0.10, 0.50 และ 1.00 มก./ล.) เลี้ยงที่ระยะเวลาต่างกัน 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์) จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ 84

6 เนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ลินเนตที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ (0.10, 0.20, 0.30, 0.40 และ 0.50 มก./ล.) เทียบกับอาหารที่เติม BA 0.20 มก./ล. เลี้ยงที่ระยะเวลาต่างกัน 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์) จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 85

7 เนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอลที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ (0.10, 0.25, 0.50, 075 และ 1.00 มก./ล.) เทียบกับอาหารที่เติม BA 0.20 มก./ล. เลี้ยงที่ระยะเวลาต่างกัน 3 ระยะเวลา (4, 6 และ 8 สัปดาห์) จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ 86

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

หน้าวัว หรือ Anthurium *(Anthurium andraeanum* Lind.) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อยู่ในสกุล Anthurium ซึ่งเป็นสกุลที่ใหญ่ที่สุดของพืชในวงศ์ Araceae มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้นของประเทศโคลัมเบียและตอนเหนือของประเทศเอกวาดอร์ ในทวีปอเมริกาใต้ พืชในวงศ์นี้มีอยู่มากกว่า 100 สกุล ประมาณ 1,500 ชนิด (Higaki et al., 1994) หน้าวัวมีลักษณะเด่น คือ เป็นไม้ตัดดอกที่มีจานรองดอกเด่น มีสีสันสวยงามสะดุดตา ซึ่งคนส่วนมากเข้าใจว่าเป็นดอก และทำให้หน้าวัวเป็นไม้ตัดดอกที่มีสีสันสดใสและหลากหลาย คือมีตั้งแต่สีขาว แดง ชมพู ส้ม ไปจนถึงสีเขียวและสีน้ำตาล ซึ่งไม่ค่อยพบในไม้ตัดดอกชนิดอื่น นอกจากสีสันที่สดใสแล้ว ยังมีความสวยงามของรูปทรงดอก ก้านดอกยาวแข็งแรง ดอกบานทน มีอายุการใช้งานนานกว่า 10 วัน และยังออกดอกตลอดทั้งปี จึงเป็นที่นิยมของตลาดไม้ตัดดอกทั้งในประเทศและต่างประเทศ (ปิฎฐะ บุนนาค, 2529)

หน้าวัวเป็นไม้ตัดดอกเมืองร้อน ที่มีบทบาทความสำคัญมากขึ้นในตลาดไม้ตัดดอกโลก โดยมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอันดับสองรองจากกล้วยไม้ (RAP, 1996) ในปี พ.ศ. 2542 มีการซื้อขายดอกหน้าวัวผ่านตลาดประมูลในประเทศเนเธอร์แลนด์ ประมาณ 49 ล้านดอก มูลค่า 1,179.8 ล้านบาท อยู่ในลำดับที่ 13 ของไม้ดอกที่มีการซื้อขายมากที่สุดในตลาดประมูล (โอฬาร พิทักษ์และเศรษฐพงศ์ เลขะวัฒนะ, 2544) ส่วนตลาดในประเทศ หน้าวัวจัดเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่มีความสำคัญไม่น้อยไปกว่าไม้ตัดดอกชนิดอื่น ๆ กรมส่งเสริมการเกษตรได้ทำการสำรวจและประมาณการมูลค่าการผลิตไม้ตัดดอก ในปีการเพาะปลูก พ.ศ. 2528-2529 พบว่า หน้าวัวเป็นไม้ตัดดอกที่ทำรายได้สูงสุด คือ 140,000 บาท/ไร่/ปี (สุรวิช วรรณไกรโรจน์, 2534) ประมาณการลงทุน 732,000 บาท/ไร่ โดยสามารถคืนทุนได้ในระยะเวลา 4 ปี (สุรวิช วรรณไกรโรจน์, 2541) ปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากสามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศ และเป็นพืชที่ใช้พื้นที่ปลูกน้อย ให้ผลผลิตเร็วและต่อเนื่อง ให้ผลตอบแทนสูง มีตลาดรองรับทั้งภายในและต่างประเทศ และยังได้รับการส่งเสริมให้เป็นพืชเสริมในสวนยางพารา สามารถเพิ่มรายได้จากเดิมและยังลดต้นทุนการผลิตได้อีกทางหนึ่ง นอกจากการปลูกเพื่อเป็นไม้ตัดดอกแล้ว หน้าวัวยังสามารถปลูกเป็นไม้กระถางได้ด้วย

จากการปรับปรุงพันธุ์และการนำเข้าต้นพันธุ์จากต่างประเทศ ทำให้เกิดความหลากหลายในด้านรูปแบบ สีสัน และขนาดดอก ส่งผลให้ความต้องการของตลาดเพิ่มมากขึ้น แต่การผลิตดอกที่มีคุณภาพดีในประเทศไทยยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด จึงทำให้ดอกหน้าวัวมีราคาสูงขึ้น สำหรับดอกที่มีคุณภาพและมาตรฐานตรงกับความต้องการของตลาดอาจได้ราคาถึงดอกละ 15-30 บาท ส่วนราคาส่งเริ่มต้นอยู่ที่ดอกละ 1-5 บาท และราคาดอกหน้าวัวที่นำเข้าจากต่างประเทศอยู่ที่ราคาดอกละ 45 บาท ซึ่งถือว่าเป็นราคาที่สูงสำหรับไม้ตัดดอก ทำให้การปลูกหน้าวัวเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกรผู้ปลูกไม้ดอก นอกจากนั้นในการปลูกสามารถใช้วัสดุปลูกที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น ปัจจุบันหน้าวัวสามารถทำรายได้จากการปลูกเลี้ยงให้แก่เกษตรกรได้ประมาณหนึ่งล้านบาทต่อปี (ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตลำปาง, 2532) เนื่องจากเป็นไม้ตัดดอกเศรษฐกิจที่ทำรายได้ต่อไร่สูง และยังมีแนวโน้มในการพัฒนาให้เป็นสินค้าส่งออกได้ต่อไปในอนาคต ทำให้ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 7 ได้ระบุไว้ว่าควรส่งเสริมให้มีการปลูกไม้ประดับสกุลหน้าวัว ในลักษณะของการเป็นไม้ตัดดอกเพื่อการส่งออก (สุรวิช วรรณไกรโรจน์, 2541; ทรงพล สมศรี, 2549) จากสถานการณ์ดังกล่าวจะเห็นว่าหน้าวัวเป็นไม้ดอกที่มีอนาคตไกล

ปัจจุบันได้มีการนำสายพันธุ์จากต่างประเทศเข้ามาศึกษาวิจัยและพัฒนา เพื่อให้ได้พันธุ์ที่เหมาะสมในการผลิตเป็นไม้ตัดดอก แต่มีปัญหาในการขยายพันธุ์ โดยเดิมใช้การขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด และการตัดส่วนต่าง ๆ ของต้นมาขยายพันธุ์ เช่น วิธีตัดชำยอด แยกหน่อ และตัดชำต้น สำหรับการเพาะเมล็ดใช้ในการขยายพันธุ์เพื่อปรับปรุงพันธุ์ใหม่ ๆ เท่านั้น เนื่องจากมีความปรวนแปรสูง ต้นที่ได้ไม่เหมือนกับต้นพ่อแม่ นอกจากนี้การเพาะเมล็ดยังใช้เวลานานในการรอให้เมล็ดแก่ จึงได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงคัพภะ (embryo culture) เข้ามาช่วย คือเมื่อผสมเมล็ดติดแล้วประมาณ 2-3 เดือน นำเมล็ดผ่าเอาคัพภะมาเลี้ยง ทำให้ใช้เวลาในการผลิตลูกผสมสั้นลง การเพาะเลี้ยงแบบนี้ทำให้ต้นโตเร็วและมีปริมาณมาก ภายในเวลา 2 เดือนก็สามารถนำต้นออกมาปลูกเลี้ยงได้ (สำนักบริการคอมพิวเตอร์, 2547) การตัดส่วนต่าง ๆ มาขยายพันธุ์เป็นวิธีที่นิยมมากในประเทศไทย เพราะได้ต้นที่เหมือนกับต้นเดิมทุกประการ แต่มีปัญหาคือมีอัตราการขยายพันธุ์ช้า ในระยะเวลา 1 ปีสามารถขยายจำนวนเพิ่มจากเดิมได้ไม่เกิน 3 เท่า ทำให้ไม่สามารถรองรับการผลิตเพื่อการค้าได้ (โอฬาร พิทักษ์ และเศรษฐพงศ์ เลขะวัฒนะ, 2544) ทำให้การขยายพันธุ์เพื่อให้ได้ปริมาณมาก เป็นปัจจัยสำคัญต่อการส่งเสริมให้หน้าวัวเป็นพืชเศรษฐกิจ จึงได้มีการนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยในการขยายพันธุ์เพื่อผลิตในเชิงการค้า

Pierik et al. (1974) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวเป็นครั้งแรก โดยชักนำให้เกิดแคลลัสจากคัพภะ และจากใบ ก้านใบ จานรองดอก และก้านช่อดอก ที่ยังอ่อน พบว่าเนื้อเยื่อเกิดแคลลัสได้ดี แต่ในปัจจุบันการขยายพันธุ์หน้าวัวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังมีปัญหา คือมีอัตราการขยายพันธุ์ต่ำกว่า

พืชอื่น ๆ มาก (สุรวิช วรรณไกรโรจน์, 2534) นอกจากนี้ยังใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนาน โดยใช้ระยะเวลาในการเกิดแคลลัสประมาณ 3 เดือน การเพิ่มปริมาณแคลลัส 2 เดือน และระยะเวลาในการชักนำต้น 4 เดือน รวมทั้งกระบวนการมีระยะเวลาประมาณ 12 เดือน (Pierik et al., 1974) ดังนั้น การปรับปรุงเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัว ให้สามารถขยายพันธุ์หน้าวัวที่มีลักษณะดีให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น และยังคงลักษณะเดิมทุกประการ เพื่อผลิตต้นพันธุ์ให้เพียงพอกับความต้องการของตลาด และสามารถลดต้นทุนการผลิตให้ต่ำลง จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่น่าจะช่วยแก้ไขปัญหาให้แก่เกษตรกรได้ และยังสามารถลดการนำเข้าต้นพันธุ์และไม้ตัดดอกจากต่างประเทศได้อีกทางหนึ่ง

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสาร TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัว
2. เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวเพื่อขยายพันธุ์

1.3 สมมุติฐานของการวิจัย

TDZ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ทั้งการใช้ TDZ เพียงอย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น โดยกระตุ้นการพัฒนาของเนื้อเยื่อให้เปลี่ยนแปลงตามวัตถุประสงค์ได้หลายทาง เช่น กระตุ้นการเกิดแคลลัส ชักนำให้เกิดยอด หรือกระตุ้นการเกิดเอ็มบริโอจากเซลล์ร่างกายเป็นต้น ดังนั้น TDZ น่าจะมีความสามารถในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัว โดยไม่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์เพื่อเพิ่มอัตราการขยายพันธุ์พืช ในการผลิตหน้าวัวเพื่อการค้าต่อไปในอนาคต

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นการศึกษาในห้องปฏิบัติการเพื่อหาความเข้มข้นของสาร TDZ ที่เหมาะสมในการชักนำหน้าวัวพันธุ์ลินเนต (Linnet) และพันธุ์ทรอปพิคอล (Tropical) ให้เกิดยอดจำนวนมากโดยไม่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหน้าวัว

ลักษณะทั่วไป

หน้าวัวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อยู่ในสกุล Anthurium วงศ์ Araceae มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Anthurium andraeanum* Lind. ชื่อสามัญคือ Anthurium มีรากศัพท์มาจากภาษากรีก สองคำ คือ Anthos แปลว่า ดอก และ Aura แปลว่า หาง ซึ่งหมายความว่า ดอกไม้ที่มีหาง เนื่องจากลักษณะของดอกที่มีช่อดอกเป็นแท่งเรียวยาวคล้ายหาง นอกจากนี้ยังมีชื่ออื่น ๆ ที่เรียกตามลักษณะนี้เช่นกัน คือ Flamingo flower หรือ Tail flower เป็นต้น หน้าวัวมีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้นของประเทศโคลัมเบียและตอนเหนือของประเทศเอกวาดอร์ ในทวีปอเมริกาใต้ ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1876 โดย Edouard André บนเทือกเขา Andes และ André ได้ส่งหน้าวัวไปที่ประเทศเบลเยียม จากนั้นหน้าวัวจึงได้รับการขยายพันธุ์จนเป็นที่นิยมในยุโรป และเป็นที่แพร่หลายไปทั่วโลกในเวลาต่อมา (Madison, 1980) มีการนำหน้าวัวเข้ามาในประเทศไทยครั้งแรกในปี พ.ศ. 2440 แต่ไม่ปรากฏว่าใครเป็นผู้นำเข้ามา และได้มีการสั่งพันธุ์มาจากยุโรปอีกในปี พ.ศ. 2446 (ไพศาล โตสวัสดิ์, 2510) ไม้ตัดดอกในกลุ่มนี้มี 2 ชนิด ที่สำคัญ คือ *Anthurium andraeanum* Lind. และ *Anthurium scherzerianum* Schott. แต่ในประเทศไทยนิยมปลูกเฉพาะ *Anthurium andraeanum* Lind. เท่านั้น เนื่องจาก *Anthurium scherzerianum* Schott. ต้องการอากาศที่หนาวเย็นกว่า และปลีดอกยังมีลักษณะบิดงอทำให้ไม่ได้รับความนิยมในประเทศไทย

ลำต้น หน้าวัวเป็นไม้เนื้ออ่อน (herbaceous) ลำต้นตั้งตรงค่อนไปทางเลื้อย การเจริญมีลักษณะเป็นต้นเดี่ยวหรือเป็นกอ มีข้อสั้น เมื่อต้นโตและสูงขึ้นจะทิ้งใบล่าง

ใบ มีลักษณะเป็นรูปหัวใจ ค่อนข้างยาวรี ปลายใบแหลม เส้นใบเป็นร่างแห (reticulate) บริเวณใต้ใบมีเส้นใบนูนเป็นสันขึ้นมา ใบอ่อนม้วนกลมสีน้ำตาลอ่อน จากนั้นค่อย ๆ คลี่และเปลี่ยนเป็นสีเขียว มีใบประมาณ 4-6 ใบ/ต้น

ราก เป็นรากพิเศษแบบ adventitious root เจริญจากข้อของลำต้น รากอ่อนมีสีแดงส่วนปลายมีสีขาว จากนั้นเปลี่ยนเป็นสีเขียวและน้ำตาล เมื่อเกิดใหม่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มม. เมื่อเจริญต่อไปจะเกิดรากแขนงแผ่กระจายยึดแน่นทั่ววัสดุปลูก วัสดุปลูกจึงต้องโปร่งเพื่อดูดน้ำและธาตุอาหาร และเพื่อเจริญเติบโตได้ดี

ดอก ดอกหน้าวัวเกิดจากตาในซอกใบ ปกติตาดอกและใบอ่อนจะเกิดขึ้นพร้อมกัน แต่ดอกจะมีการพัฒนาขึ้นหลังจากใบมีความสมบูรณ์แล้ว ดังนั้นเมื่อมีใบใหม่จึงมีดอกเกิดขึ้นเสมอ ดอกเป็นแบบ aroids ประกอบด้วยสองส่วน คือ ส่วนจานรองดอก (spathe) หรือส่วนที่มักเข้าใจว่าเป็นดอกนั้นคือใบประดับที่มีสีสันหลากหลาย และส่วนที่สองคือส่วนดอกที่แท้จริง มีดอกขนาดเล็กเรียงกันแน่นอยู่บนปลีดอก (spedix) ซึ่งเป็นส่วนของก้านดอก ดอกแต่ละดอกมีกลีบขนาดเล็ก 4 กลีบ เป็นดอกสมบูรณ์เพศ เกสรตัวเมียบานก่อนเกสรตัวผู้ โดยทยอยบานจากโคนปลีขึ้นไปจนถึงปลายปลีตามลำดับ (ปิฏฐะ บุนนาค, 2529; สุรวิช วรรณไกรโรจน์, 2541)

พันธุ์หน้าวัวที่นิยมปลูกในประเทศไทยมีหลายพันธุ์ ดังนี้

พันธุ์ไทย ส่วนมากเป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศและและปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ปรับตัวกับสภาพแวดล้อมในประเทศไทยจนได้ลูกผสมที่ มีหลากหลายสี แบ่งตามสีได้ดังนี้

พันธุ์ที่มีจานรองดอกสีแดง ได้แก่

พันธุ์ดวงสมร มีจานรองดอกสีแดงเข้มเป็นรูปหัวใจ หูดอกชิด ร่องน้ำตาลึก ปลีสีขาวแกมชมพู ให้ดอกดก เป็นพันธุ์ที่ได้รับความนิยมมากในการผลิตไม้ตัดดอกของประเทศไทย แต่มีข้อเสียคือจานรองดอกมีรอยเว้าฉีกขาดง่ายในช่วงที่สภาพอากาศมีการเปลี่ยนแปลง

พันธุ์จักรพรรดิ มีจานรองดอกสีแดงเลือดนกเป็นรูปสามเหลี่ยม จานรองดอกร่องไม่ลึก ปลีดอกชี้ขึ้น โคนปลีสีขาวส่วนปลายเป็นสีชมพูและปลายใบเรียว หูใบสั้น มีเส้นใบขึ้นถึงหูใบ ให้ดอก 6-8 ดอกต่อปี

พันธุ์ที่มีจานรองดอกสีชมพู ได้แก่ พันธุ์ศรีสง่า ศรียาตรา จักรเพชร ศรีเงินยวง

พันธุ์ที่มีจานรองดอกสีส้ม ได้แก่ พันธุ์ผกามาศ โพธิ์ทอง มงกุฎทอง ดาราทอง ดาวทอง

พันธุ์ที่มีจานรองดอกสีขาว ได้แก่ พันธุ์ขาวนายหวาน ขาวคุณหนู ขาวเศวต

พันธุ์ต่างประเทศ นอกจากนี้ยังมีพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศและได้รับความนิยมจากเกษตรกรเนื่องจากดอกมีขนาดใหญ่ เป็นที่ต้องการของตลาด และมีตลาดรองรับสำหรับการส่งออก เช่น

พันธุ์ทรอปิคอล (Tropical) มีจานรองดอกสีแดง เป็นพันธุ์ที่นำสายพันธุ์เข้ามาจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ซึ่งได้รับความนิยมสูงสุดในตลาดประมูลไม้ตัดดอกประเทศเนเธอร์แลนด์ ปี พ.ศ. 2542 และสามารถเจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทย (โอฬาร พิทักษ์ และ เศรษฐพงศ์ เลขะวัฒนะ, 2544)

พันธุ์มิโดริ (Midori) มีจานรองดอกสีเขียว ร่องน้ำตาลึก ดอกขนาดใหญ่ อายุการใช้งานสูง

พันธุ์ซิมบา (Simba) มีจานรองดอกสีขาวขอบเขียวหรือที่เรียกว่าแบบโอบาเกะ (Obage)

พันธุ์ชอคโก (Chocco) มีจานรองดอกสีน้ำตาล

พันธุ์ลินเนต (Linnet) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศนานแล้ว สามารถปรับตัวและเจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทย และมีความทนทานต่อโรค มีจานรองดอกสีชมพู ร่องน้ำตาไม่ลึก ให้ดอกดก (วันดี ใจนิ่ม, 2543)

การปลูก

เนื่องจากถิ่นกำเนิดของหน้าวัวอยู่ในเขตร้อนชื้น จึงสามารถปลูกได้ดีในสภาพอากาศแบบประเทศไทย ธรรมชาติของหน้าวัวชอบสภาพอากาศที่มีความชื้นสูง มีความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 70-80% และมีแสงแดดรำไรไม่ชอบแดดจัดและลมโกรก อุณหภูมิเหมาะสมอยู่ที่ 25-32 °ซ ต้องการแสงประมาณ 20-30% ความเข้มแสงประมาณ 16,000-27,000 ลักซ์ และต้องมีการถ่ายเทอากาศที่ดี โดยสามารถปลูกได้ทั้งในกระถางและลงแปลงปลูก วัสดุปลูกที่เหมาะสมสำหรับหน้าวัวควรเป็นวัสดุโปร่ง อุ้มน้ำหรือเก็บความชื้นได้ดี ยึดรากและลำต้นได้ดี และมีการย่อยสลายช้า โดยทั่วไปใช้อิฐมอญ ถ่าน ปุ๋ยคอก กาบมะพร้าว หรือใบไม้ผุ แต่ปัจจุบันมีการพัฒนาวัสดุปลูกที่เหมาะสมหาได้ง่ายในท้องถิ่นทดแทน วัสดุปลูกที่นิยมใช้ในประเทศไทยคืออิฐมอญทุบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-3.0 ซม. เนื่องจากสามารถเก็บความชื้นได้ดี มีความคงทนสูง และยังสามารถควบคุมการระบายน้ำได้ตามต้องการ ถ้าอากาศแห้งเกินไปอาจเติมมะพร้าวสับเพื่อช่วยเก็บความชื้นได้ การเลือกใช้วัสดุปลูกขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและความสะดวกในแต่ละท้องที่ เช่น กาบมะพร้าว ถ่านกะลาปาล์ม ถ่านไม้ ถ่านซังข้าวโพด ซังข้าวโพดหมัก แกลบสด เป็นต้น

การขยายพันธุ์

การขยายพันธุ์หน้าวัวทำได้หลายวิธีดังนี้

1. เพาะเมล็ด ใช้เพื่อปรับปรุงพันธุ์ เพราะต้นที่ได้มีลักษณะแตกต่างจากต้นพ่อแม่ และใช้ระยะเวลานาน 2-3 ปี จึงจะได้ต้นที่ให้ผลผลิต

2. ตัดชำยอด การขยายพันธุ์วิธีนี้กระทำเมื่อลำต้นสูง การตัดยอดต้องมีใบติดมา 3-4 ใบ และราก 2-3 ราก โดยให้ต้นเดิมมีใบติดอยู่ 1-2 ใบ และควรทาสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่รอยแผล

3. ชำต้น ต้นตอขนาดใหญ่ที่ตัดยอดแล้ว สามารถนำมาตัดชำโดยตัดต้นเป็นท่อน ๆ แต่ละท่อนมีข้อ 2-3 ข้อ วางนอนหรือปักเอียง 45 ° ชำในทรายหรืออิฐมอญทุบก้อนเล็ก ๆ เก็บไว้ในที่ชื้น เมื่อแตกตาใหม่สามารถนำไปปลูกได้

4. แยกหน่อ หน้าวัวบางพันธุ์มีการแตกกอที่โคนลำต้น เมื่อหน่อใหม่มีราก 1-3 ราก สามารถแยกออกมาปลูกใหม่ได้

5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีการที่รวดเร็วและได้ปริมาณมากกว่าวิธีการอื่น ๆ โดยสามารถนำส่วนต่าง ๆ ที่อยู่ในระยะเจริญมาทำการเพาะเลี้ยง เช่น ใบอ่อน จานรองดอกที่ยังไม่คลี่ และตาข้าง โดยนำมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ เหมาะสำหรับการผลิตเพื่อการค้า (ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตลำปาง, 2532; สุรวิช วรรณไกรโรจน์, 2541; วันดี ใจนิ่ม, 2543; สำนักบริการคอมพิวเตอร์, 2547)

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

2.2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อขยายพันธุ์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเทคนิคที่นำเอาชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุอาหารที่พืชต้องการในสภาพปลอดเชื้อ และภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม Murashige (1974) ได้เสนอขั้นตอนของการขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไว้ 3 ขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมชิ้นส่วนพืชให้สะอาด โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับเนื้อเยื่อผิวเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ให้มีชีวิตรอดและมีการเจริญเติบโตต่อไป

2. การเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อ โดยนำเนื้อเยื่อพืชที่มีการเจริญเติบโต และสะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ มาทำการขยายปริมาณ และกระตุ้นให้มีการเจริญเติบโต

3. การเตรียมต้นพืชใหม่ที่สมบูรณ์ให้แข็งแรง และย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกในสภาวะแวดล้อมภายนอก

2.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต

ต้นพืชมีการสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตขึ้นเพื่อทำหน้าที่กระตุ้นและมีส่วนร่วมในกระบวนการต่าง ๆ ให้มีการพัฒนาของต้น การเจริญเติบโต ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงพัฒนาของเซลล์ที่เป็นปกติ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหาร เพื่อช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อให้มีการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงตามต้องการ ซึ่งได้แก่ ฮอร์โมนพืชชนิดต่าง ๆ แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1. ออกซิน (auxin) ช่วยเร่งการขยายเซลล์ ชักนำให้เกิดราก นิยมใช้ในการสร้างแคลลัส สารที่นิยมใช้ ได้แก่

- Indole-3-acetic acid (IAA)
- Indole butyric acid (IBA)
- α-napthalene acetic acid (NAA)
- 2, 4-dichorophenoxyacetic acid (2, 4-D)

2. ไซโตไคนิน (cytokinin) ส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์โดยเฉพาะการเจริญเติบโตของใบ แต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของราก และกระตุ้นชิ้นส่วนของพืชให้เกิดยอดพร้อมกันหลายยอด สารที่นิยมใช้ได้แก่

- N6-benzyladenine (BA)
- 6-furferylaminopurine (kinetin)
- zeatin
- N6-isopentenyl adenine (2iP)

3. สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่น ๆ เช่น

- gibberellic acid (GA)
- paclobutrazol
- abscissic acid (ABA)
- picloram

ไม่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากการมีมากเกินพออาจมีผลเสียต่อสมดุลของออกซินและไซโตไคนิน ทำให้ปิดกั้นการสร้างอวัยวะ (รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ, 2541)

2.2.3 การสร้างยอดของพืช

การชักนำให้เกิดต้นใหม่จากการนำชิ้นส่วนของพืชมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาจพัฒนาผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

1. direct morphogenesis เป็นการชักนำให้เกิดยอดหรือต้นจากเนื้อเยื่อที่มีเนื้อเยื่อเจริญ (meristem) อยู่แล้ว ชิ้นส่วนที่มีเนื้อเยื่อเจริญได้แก่ เนื้อเยื่อเจริญ (meristem) ตายอด (shoot tip) หรือตาข้าง (axillary bud) สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากด้วยอาหารที่เหมาะสม โดยไม่มีการเกิดแคลลัส โดยกระตุ้นด้วยไซโตไคนินเพื่อกระตุ้นให้เกิดยอดหรือต้นเป็นจำนวนมาก

2. indirect morphogenesis เป็นการเกิดเอ็มบริโอจากเซลล์ร่างกายโดยผ่านแคลลัส และถูกพัฒนาให้เป็นเซลล์เอ็มบริโอจากกระบวนการ embryogenesis และพัฒนาต่อไปเป็นต้นในที่สุด หรือการเกิดยอดผ่านแคลลัส มีประโยชน์โดยตรงต่อการได้ต้นพืชจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น แต่มีข้อควรระวังและควรหลีกเลี่ยง เนื่องจากเสี่ยงต่อการเกิดความปรวนแปรทางพันธุกรรม

3. adventitious organogenesis เป็นการชักนำให้เกิดต้นจากเนื้อเยื่อส่วนที่ไม่มีเนื้อเยื่อเจริญ เช่น ส่วนของก้านใบ ใบ ใบเลี้ยง ลำต้นที่ไม่มีตา หรือราก มาเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยตรง โดยสามารถชักนำยอดหรือต้นจากตาพิเศษ การใช้ตาพิเศษนี้จะดีกว่าการชักนำยอดผ่านแคลลัส โดยลดความเสี่ยงจากการเกิดความปรวนแปรทางพันธุกรรม แต่ยังมีโอกาสเกิดความเปลี่ยนแปลงด้านลำต้นของพืชที่มีพันธุกรรมที่แตกต่างกัน (chimeras) โดยได้ต้นใหม่ที่แตกต่างจากพ่อแม่ในลักษณะการเจริญเติบโต การออกดอก การติดผล เป็นต้น

ปัจจัยที่มีผลโดยตรงต่อการพัฒนาของชิ้นส่วนพืชคืออัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนิน นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น เช่น อายุพืช ชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง อาหารและสภาพแวดล้อม เป็นต้น (รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ, 2541; อารีย์ วรัญญูวัฒก์, 2541)

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวเพื่อขยายพันธุ์

2.3.1 การฟอกฆ่าเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การฟอกฆ่าเชื้อถือได้ว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่งสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัว เนื่องจากการปนเปื้อนของเนื้อเยื่อมีผลกระทบต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อ (Kunisaki, 1980) โดยเนื้อเยื่อต่างชนิดกันอาจต้องใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกัน เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหน้าวัวเพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้ สำหรับเนื้อเยื่อจากส่วนข้อที่มีตาข้างของหน้าวัวพันธุ์คัวมานา (Kaumana) ซึ่งมีขนาดประมาณ 1 × 1 × 0.5 ซม. Kunisaki (1980) พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.52% (w/v) [Clorox 10% (v/v)] ซึ่งมี Tween 20 2 หยด/100 มล. เป็นเวลา 20 นาที ลอกกาบหุ้มตาออกจากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.26% (w/v) [Clorox 5% (v/v)] ซึ่งมี Tween 20 2 หยด/100 มล. เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพมากที่สุด ส่วนในพันธุ์ดวงสมรและดาราทอง สรรลาภ สงวนดีกุล (2526) ได้รายงานไว้ว่า วิธีที่มีประสิทธิภาพที่สุดในการฟอกฆ่าเชื้อคือการฟอกในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.52% [Clorox 10% (v/v)] นาน 20 นาที ลอกกาบหุ้มตาออก 2-3 ชั้น จากนั้นแช่ใน โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.52% (w/v) [Clorox 5% (v/v)] นาน 45 นาที

บางครั้งชิ้นส่วนของหน้าวัวที่ปลูกเลี้ยงในสภาพแปลงปลูกอาจมีจุลินทรีย์เจริญอยู่ในชิ้นเนื้อเยื่อ ทำให้การฟอกฆ่าเชื้อเฉพาะที่ผิวยังไม่เพียงพอ จึงจำเป็นต้องเพิ่มขั้นตอน pre-sterilization เช่น Puchooa (2005) และ Puchooa and Sookun (2003) นำใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ของหน้าวัวมาแช่ใน Benlate (benomyl) 0.6% เป็นเวลา 30 นาทีก่อน จึงนำมาฆ่าเชื้อโดยล้างด้วยน้ำสบู่ แล้วจุ่มในเอทธิลแอลกอฮอล์ 70% (v/v) 30 วินาที จากนั้นแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% (w/v) ซึ่งมี Tween 20 2 หยด/100 มล. นาน 20 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่น 4 ครั้ง นอกจากนี้ วิชชุดา รุ่งเรือง (2535) พบว่าการแช่ใบอ่อนของหน้าวัวที่ยังไม่คลี่ใน 1% natriphene ซึ่งมีคุณสมบัติในการดูดซึมเข้าเนื้อเยื่อใบได้ดี และมีฤทธิ์ในการทำลายแบคทีเรีย นาน 15 นาที แล้วจึงนำไปแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.52% (w/v) [Clorox 10% (v/v)] นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ตามด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.26% (w/v) [Clorox 5% (v/v)] นาน 45 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 3 ครั้ง มีประสิทธิภาพสูงกว่าการแช่ใน 1% natriphene นานเพียง 10 นาที เช่นเดียวกัน ชะอ้อน หิรัญรัตน์ (2531) นำใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ของหน้าวัวพันธุ์ดับเบิ้ลสแปธ (Double Spathe) มาแช่ใน natriphene 1% (w/v) นาน 15 นาทีก่อน แล้วจึงนำไปแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.52% (w/v) [Clorox 10% (v/v)] นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง จากนั้นนำไปแช่โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.26% (w/v) [Clorox 5% (v/v)] นาน 45 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้ออีก 3 ครั้ง ส่วนอรพิน เสละคร และ กิตติภัฏ เฟื่องเพียร (2543) พบว่าการนำใบอ่อนที่ยังไม่คลี่แช่ในอัลฟ่ามัยซิน (alfamycin) ความเข้มข้น 1% (w/v)

นาน 30 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง จากนั้นนำไปเขย่าในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.78% (w/v)[Clorox 15% (v/v)] นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ให้ผลดีที่สุด

2.3.2 การชักนำให้เกิดแคลลัสและการชักนำยอดจากแคลลัส

Pierik et al. (1974) ขยายพันธุ์หน้าวัวโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นครั้งแรก โดยเพาะเลี้ยงคัพภะ(embryo) และใบ ก้านใบ จานรองดอก และก้านช่อดอกที่ยังอ่อนอยู่ ในอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ดัดแปลงโดยใช้ธาตุอาหารหลักเพียงครึ่งเดียว (1/2 MS) ธาตุอาหารรอง ธาตุเหล็ก และสารอินทรีย์เท่าเดิม พบว่าชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ดีในอาหารที่เติม BAP [6-(benzylamino)-9-(2-tetrahydropyranyl)-9H-purine] 1.00 มก./ล. เมื่อเลี้ยงในที่มืดนาน 12-16 สัปดาห์ และเมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงต่อในอาหารที่มี BAP 0.10-1.00 มก./ล. ในที่มีแสงจะชักนำให้เกิดต้นได้ [Pierik et al., 1974 อ้างโดย Te-chato et al., 2002 และวิชชุดา รุ่งเรือง, 2535] หลังจากนั้นมีรายงานการขยายพันธุ์หน้าวัวโดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ตาข้าง (axillary buds) (Kunisaki, 1980) ตาพิเศษ (adventitious buds) (Cen et al., 1993), organogenic callus จากใบหรือก้านใบ (Pierik et al., 1974 ; Pierik, 1975, 1976 ; Finnie & Van Staden, 1986 ; Kuehnle & Sugii, 1991) somatic embryos จากใบ (Kuehnle et al., 1992) และใน *Anthurium scherzeranium* สามารถชักนำต้นได้จากจานรองดอกและใบ (Geier, 1982 อ้างโดย Puchooa, 2005)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัส และการชักนำยอดจากแคลลัส ได้แก่ พันธุกรรม ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อที่ใช้เพาะเลี้ยง (explants) สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต สภาพแวดล้อม ฯลฯ

พันธุกรรม ระยะเวลาในการสร้างแคลลัสจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง ขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของหน้าวัว (Pierik , 1976 อ้างโดย Te-chato et al., 2002; Te-chato et al., 2006) Te-chato et al. (2002) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบ ใบ จานรองดอก และปลีดอกของหน้าวัวพันธุ์ทรอปิกานา (Tropicana) แชมเปญ (Champaign) และดวงสมร พบว่า พันธุ์มีผลต่อการสร้างสร้างแคลลัสในสภาพมืด และการชักนำให้เกิดยอด โดยพันธุ์ทรอปิกานาสร้างแคลลัสโดยเฉลี่ยในทุกชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงได้ดีที่สุด 83% รองลงมาคือ พันธุ์แชมเปญ (48%) และพันธุ์ดวงสมร (30%) ตามลำดับ เมื่อนำแคลลัสจากพันธุ์เหล่านี้ไปเลี้ยงชักนำยอดบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ที่ BA 0.50 มก./ล. แคลลัสจากใบของพันธุ์แชมเปญให้การสร้างยอดสูงสุด 7.50 ยอด/ชิ้น รองลงมาคือ พันธุ์ดวงสมร (3 ยอด/ชิ้น) และพันธุ์ทรอปิกานา (2 ยอด/ชิ้น) ต่อมาเมื่อ Te-chato et al. (2006) ทำการชักนำแคลลัสจากเนื้อเยื่อใบ ข้อ และลำต้นระหว่างข้อ ของหน้าวัว 3 พันธุ์ คือ เปลวเทียนภูเก็ต โซเนต (Sonat) และวาเลนติโน (Valantino) ในอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA 0.50 มก./ล. และ TDZ 0.50 มก./ล ในสภาพมืด พบว่าพันธุ์วาเลนติโนมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสในทุกชิ้นส่วนที่

เพาะเลี้ยงสูงสุด 83.70% จึงไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์โซเนต (78.70%) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ต (45.60%) นอกจากนี้พบว่าชนิดของแคลลัสที่ได้มีความแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ด้วย โดยแคลลัสจากพันธุ์โซเนตมีโครงสร้างคล้ายต้นอ่อน (embryogenic-like callus; ELC) ส่วนพันธุ์วาเลนติโนและเปลวเทียนภูเก็ตให้แคลลัสแบบปม (meristematic nodular callus; MNC) ในขณะที่การเพาะเลี้ยงใบอ่อนที่ยังไม่คลี่เพื่อชักนำแคลลัสของหน้าวัวพันธุ์โอซากิ (Osaki) นิตตา (Nitta) และอะเนาช์กา (Anouchka) ในอาหาร 3 สูตร ที่เติม BA 1.00 มก./ล. และ2,4-D 0.10 มก./ล. ให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และการเกิดยอดด้วยแคลลัสใกล้เคียงกันในทั้ง 3 พันธุ์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสในอาหาร Nitsch (1969) ดัดแปลง 100% อาหาร Nitsch 8.30-12.50% และอาหาร MS ดัดแปลง 0% (Puchooa, 2005)

ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อที่ใช้เพาะเลี้ยง มีรายงานการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนของหน้าวัวหลายชนิด เช่น ใบ ข้อ จานรองดอก ก้านช่อดอก และคัพภะ (Te-chato et al., 2006; Te-chato et al., 2002) เมื่อ Te-chato et al. (2006) ชักนำเนื้อเยื่อใบและข้อของหน้าวัวพันธุ์โซเนตในอาหาร 4 สูตร พบว่า มีการสร้างแคลลัสจากใบ 40.00-86.60% และจากข้อ 20-100% ในสูตรอาหารต่าง ๆ นอกจากนี้พบว่า การทำให้เกิดแผลบนใบมีแนวโน้มกระตุ้นให้เกิดการสร้างแคลลัสเพิ่มขึ้น Te-chato et al., (2002) นำชิ้นส่วน 4 ประเภท คือ ใบอ่อน ก้านใบ ปลีดอก และจานรองดอกของหน้าวัว 3 พันธุ์ ไปเลี้ยงบนอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BA 0.50 มก./ล. และ TDZ 0.50 มก./ล. พบว่าก้านใบให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ยสูงที่สุด (82.70%) รองลงมาคือแผ่นใบ (57.90%) ปลีดอก (55.60%) และจานรองดอก (18.40%) ตามลำดับ และเมื่อนำแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนต่าง ๆ นี้ไปเลี้ยงบนอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.00, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 มก./ล.) พบว่าไม่มีการสร้างยอดจากชิ้นส่วนจานรองดอก และปลีดอกของทุกพันธุ์ แคลลัสจากชิ้นส่วนใบตอบสนองต่อ BA 0.25-0.50 มก./ล. ดีที่สุด ในขณะที่ก้านใบตอบสนองต่อ BA ความเข้มข้น 0.50-0.75 มก./ล.

นอกจากนี้ชนิดของเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนเดียวกันมีผลต่อการเกิดแคลลัสด้วย เนื้อเยื่อจากบริเวณเส้นกลางใบจะสร้างแคลลัสได้ดีกว่าจากบริเวณริมใบ เนื้อเยื่อใบส่วนที่มีเส้นใบเกิดแคลลัสได้ดีกว่าเนื้อเยื่อใบส่วนอื่น และเนื้อเยื่อจากปลายยอดของใบสร้างแคลลัสดีกว่าด้านฐานใบ (Leffering et al., 1976 อ้างโดย มัณฑนา นวลเจริญ, 2541; Puchooa, 2005)

อาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตรอาหาร โดยเฉพาะความเข้มข้นของ NH_4NO_3 มีผลต่อการชักนำแคลลัส และการชักนำยอดจากแคลลัสของหน้าวัว Puchooa (2005) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ของหน้าวัวพันธุ์โอนิซากิ นิตตา และอะเนาช์กา ในอาหารสูตร Nitsch (1969) (NH_4NO_3 720 มก./ล.) Nitsch ดัดแปลง (NH_4NO_3 200 มก./ล.) และ MS ดัดแปลง (NH_4NO_3 825 มก./ล.) พบว่าสูตร Nitsch

ดัดแปลงชักนำแคลลัสได้ดีที่สุด โดยให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 100% สูงกว่าสูตร Nitsch และ MS ดัดแปลง 87.50-100% ส่วนการชักนำยอดจากแคลลัสนั้น พบว่าสูตร Nitsch ที่มีความเข้มข้น NH_4NO_3 สูง มีประสิทธิภาพสูงสุดโดยให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 87.50-100% และให้จำนวนยอดมากกว่า 10 ยอด/แคลลัส ในขณะที่สูตร Nitsch ดัดแปลง และ MS ดัดแปลงให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และจำนวนยอด/แคลลัส 0-20.80% และ 0-5 ยอด ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม Pierik et al. (1979) อ้างโดย มัณฑนา นวลเจริญ (2541) รายงานว่าความเข้มข้น NH_4NO_3 ที่ต่ำส่งเสริมการเกิดยอด

Te-chato et al. (2006) ทดสอบสูตรอาหาร 4 สูตร คือ MS, MS ดัดแปลง(MMS) ซึ่งใช้ธาตุอาหารหลักและรองเพียงครึ่งเดียว, woody plant medium (WPM) และ Nitsch and Nitsch (NN) (Nitsch and Nitsch , 1969) ที่เติม TDZ 0.50 มก./ล. และ BA 0.50 มก./ล. ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบของหน้าวัวพันธุ์โซเนต พบว่า อาหาร MS และ MMS ให้การเกิดแคลลัสสูงสุด 86.60% ตามด้วย WPM (66.70%) และ NN (40%) นอกจากนี้ชนิดของแคลลัสที่ได้ยังแตกต่างกันด้วย โดยอาหาร MMS และ NN ให้แคลลัสแบบปม (MNC) ในขณะที่อาหาร MS และ WPM ที่มี NH_4NO_3 ให้แคลลัสแบบมีโครงสร้างคล้ายต้นอ่อน (ELS)

Adenine sulphate ทำให้อัตราการพัฒนาของยอดรวมเพิ่มขึ้น เมื่อนำแคลลัสซึ่งมีกลุ่มตายอดขนาดประมาณ 1 มม. ของหน้าวัวสายพันธุ์กระถางดอกสีแดงมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BA 1.00 มก./ล. และ adenine sulphate ความเข้มข้น 0.10 0.50 และ 1.00 มก./ล. นาน 2 เดือน Nitayadatpat and Te-chato (2005) พบว่า การใช้ adenine sulphate 1.00 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 21 ยอด ในขณะที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 มก./ล. ให้จำนวนยอดเพียง 3 และ 5 ยอด ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าชนิดของผงวุ้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของยอดรวม โดยแคลลัสซึ่งมีกลุ่มตายอดเมื่อเลี้ยงบนอาหารชักนำยอดที่เติมผงวุ้นเจลไรท์ จะมีการแตกยอดใหม่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 20 ยอด/ชิ้น ซึ่งมากกว่าอาหารที่เติมวุ้นชนิด agar-agar ประมาณ 3 เท่า

ความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนิน และชนิดของออกซินและไซโตไคนิน มีผลต่อการชักนำแคลลัส ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดพืช และชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงด้วย ในหน้าวัวโดยทั่วไปไซโตไคนินมีอิทธิพลต่อการเกิดแคลลัส ในขณะที่ออกซินมีอิทธิพลน้อยหรือไม่มีอิทธิพลต่อการเกิดแคลลัส จากการทดลองของ วิชชุดา รุ่งเรือง (2535) ซึ่งชักนำแคลลัสจากใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ของหน้าวัวพันธุ์ดวงสมรในอาหารสูตรที่เติม NAA 1.00 และ 2.00 มก./ล. หรือ BA 0.60 และ 1.00 มก./ล. นาน 4 เดือน พบว่าจะเกิดแคลลัสเฉพาะในอาหารที่เติม BA โดย BA 1.00 มก./ล. ทำให้แคลลัสเกิดเร็วกว่า 0.60 มก./ล. แคลลัสมีลักษณะค่อนข้างแน่น (compact callus) และมีแนวโน้มที่จะเจริญเป็นยอด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ชะอ้อน หิรัญรัตน์ (2531) ซึ่งเพาะเลี้ยงใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ของหน้าวัวพันธุ์ Double Spathe บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA หรือ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 4 เดือน พบว่า แคลลัสที่ได้จากอาหารที่เติม BA มีลักษณะแข็ง และมีแนวโน้มที่จะเจริญไป

เป็นยอด ส่วนการเติม NAA ให้แคลลัสที่จับตัวกันอย่างหลวม (friable callus) นอกจากนี้ Te-chato et al. (2002) ไม่ประสบผลสำเร็จจากการชักนำแคลลัสโดยใช้ออกซิน แต่พบว่าการใช้ BA และ TDZ ร่วมกันที่ความเข้มข้น 0.50 มก./ล. ส่งเสริมการสร้างแคลลัสได้ดีที่สุด

นอกจากนี้ไซโตไคนินยังมีอิทธิพลต่อการชักนำยอดจากแคลลัส การชักนำยอดหน้าวัวพันธุ์ขาวนายหวานจากแคลลัสหน้าวัว ที่เลี้ยงในอาหาร Basal medium (BM) ที่ใช้ธาตุอาหารหลักของ SH (Shantz and Steward 1952) 100 มล. ธาตุอาหารรองของ Nitch (Nitch and Nitch, 1969) 2 มล. และวิตามินของ MS (Murashige, 1974) 10 มล. น้ำตาลซูโครส 40 กรัม เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ ได้แก่ NAA 0.10-1.00 มก./ล., BA 0.10-1.00 มก./ล., kinetin 0.10 มก./ล. ร่วมกับ PCPA 0.50 มก./ล. และ 2, 4-D 0.10-0.50 มก./ล. ร่วมกับ kinetin 0.10 มก./ล. และ PCPA 0.50 มก./ล. พบว่าเกิดยอดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติม BA เท่านั้น (จรูญ อิ่มเอิบสิน, 2523) เช่นเดียวกับวิชชุดา รุ่งเรือง (2535) ซึ่งพบว่าการเติม BA 3.00 มก./ล. ในอาหาร MS ดัดแปลงที่มีธาตุอาหารหลักเพียงครึ่งเดียว กระตุ้นให้แคลลัสพัฒนายอดได้จำนวนมากกว่าอาหาร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

อย่างไรก็ตาม สรรลาภ สงวนดีกุล (2526) อ้างโดย Te-chato et al. (2002) รายงานว่าการชักนำยอดจากแคลลัสหน้าวัวต้องการออกซินในอัตราความเข้มข้นต่ำ และมัณฑนา นวลเจริญ (2541) พบว่าใบอ่อนของหน้าวัวพันธุ์ดวงสมร เกิดแคลลัสได้ดีในอาหาร MS ที่เติมทั้ง BA 1.00 มก./ล. และ IAA 1.00 มก./ล. และสามารถเจริญเป็นยอดได้ในเวลา 5 เดือน ในขณะที่อาหารที่เติมเฉพาะ BA เกิดแคลลัสเพียงเล็กน้อยและตายไปในที่สุด

ชนิดของไซโตไคนินมีอิทธิพลต่อการเกิดแคลลัสและยอด โดย Pierik et al. (1979) อ้างโดย มัณฑนา นวลเจริญ (2541) พบว่า เมื่อเปรียบเทียบไซโตไคนิน 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน การใช้ zeatin 1.00 มก./ล. ให้แคลลัสและยอดดีที่สุด รองลงมาคือการใช้ BA 1.00 มก./ล. kinetin 1.00 มก./ล. และ 2iP 10.00 มก/ล. ตามลำดับ

สถานะอาหารก็มีความสำคัญต่อการเจริญของแคลลัสเช่นกัน โดยแคลลัสของหน้าวัวที่เลี้ยงในอาหารเหลวมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่าในอาหารแข็ง (Pierik et al., 1976 อ้างโดย มัณฑนา นวลเจริญ, 2541)

สภาพแวดล้อม เช่นแสงมีอิทธิพลต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ การเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม BAP 1.00 มก./ล. ในที่มีแสงทำให้เนื้อเยื่อสร้างแคลลัสพร้อมยอดและต้นจำนวนมาก ในขณะที่การเลี้ยงในที่มืดจะสร้างแคลลัสเท่านั้น (Pierik et al., 1979 อ้างโดย ชะอ้อน หิรัญรัตน์, 2531)

เนื่องจากการชักนำแคลลัสและชักนำยอดจากแคลลัสขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยดังกล่าวข้างต้น สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหน้าวัวจึงมีหลากหลาย ดังสรุปไว้ในตารางที่ 1 และ 2

2.3.3 การชักนำยอดโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

เนื่องจากการชักนำยอดผ่านแคลลัส (indirect morphogenesis) มีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์ระหว่างเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูงกว่าการชักนำยอดโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช (direct morphogenesis) จึงมีการพัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณยอดโดยไม่ผ่านแคลลัสในหน้าวัว

Kunisaki (1980) ชักนำยอดหลายยอด (multiple shoots) จากลำต้นที่มี 2 ข้อ ของหน้าวัวพันธุ์มาเรียนซีเฟิร์ท (Marian Seefurth) ในอาหาร MS ที่เติม BA 0.00 0.20 0.40 0.60 0.80 หรือ 1.00 มก./ล.พบว่า BA 0.20-1.00 มก./ล.เพิ่มจำนวนยอด/ชิ้นเฉลี่ย จาก 1.00 เป็น 2.00-3.10 ยอด และ 0.20 มก./ล. เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดเนื่องจากให้จำนวนยอด/ชิ้นสูงสุด 3.10 ยอด และมีการเกิดแคลลัสต่ำกว่าการใช้ความเข้มข้นของ BA สูง นอกจากนี้การใช้ความเข้มข้นของ BA สูง ยังทำให้ยอดแคระแกร็นอีกด้วย ยอดที่ได้นี้เกิดจากตาข้างโดยตรง เมื่อนำต้นที่ได้ออกปลูกจนมีดอกจึงตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ Martin et al. (2003) ทำการชักนำยอดโดยตรงจากเนื้อเยื่อใบอ่อนหน้าวัวพันธุ์ ไทโนราเรด (Tinora Red) และซีเนเตอร์ (Senator) โดยพบว่าใบอ่อนที่ยังไม่คลี่และมีสีน้ำตาลให้ผลการเกิดยอดดีกว่าใบที่เปลี่ยนเป็นสีเขียวแล้วโดยเกิดยอดผ่านกระบวนการเกิดเอ็มบริโอจากเซลล์ร่างกาย โดยการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ใช้ธาตุอาหารหลักเพียงครึ่งเดียว เติม BA 0.25 มก./ล. ร่วมกับ IAA 0.25 มก./ล. และ kinetin 0.10 มก./ล. เป็นสูตรที่ให้จำนวนยอดสูงสุดในการชักนำให้เกิดยอด ส่วนในอาหารที่เติม BA 0.10 มก./ล. เป็นสูตรที่ชักนำยอดโดยไม่เกิดแคลลัส นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณยอดโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืชยังอาจร่นระยะเวลาในการขยายพันธุ์ลงได้ โดยการขยายพันธุ์ผ่านแคลลัสต้องใช้เวลาในการเกิดแคลลัสประมาณ 3 เดือน เพิ่มปริมาณแคลลัส 2 เดือน ชักนำต้นประมาณ 4 เดือน สร้างคลอโรฟิลล์และการเจริญของยอดประมาณ 1 เดือน และการเกิดราก 2 เดือน รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 12 เดือน (Pierik et al., 1974 อ้างโดย ชะอ้อน หิรัญรัตน์, 2531) แต่การชักนำยอดโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืชอาจใช้เวลาเพียง 6 เดือน อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาณยอดโดยตรงจากตาข้างให้จำนวนยอด/ชิ้นที่น้อยกว่าการเพิ่มปริมาณผ่านแคลลัสซึ่งสามารถให้ยอดได้มากกว่า 20 ยอด/แคลลัสในหน้าวัวบางพันธุ์ (Nitayadatpat and Techato, 2005) จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำยอดโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืชต่อไป เพื่อให้เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์หน้าวัวเพื่อการค้าในอนาคต

ตารางที่ 1 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสของหน้าวัว

พันธุ์	ส่วนที่นำมาเลี้ยง	อาหาร	เอกสารอ้างอิง
1. *A.andraeanum*	คัพภะ (embryo) และใบ ก้านใบ จานรองดอก ก้านช่อดอก	1/2 MS + BAP 1.0 มก./ล. (ที่มืด)	Pierik et al. (1974)
2. *A. scherianum*	ใบอ่อน	MS + zeatin 1.0 มก./ล.	Pierik and Steegman (1975)
3. ขาวนายหวาน	แคลลัส	BM + NAA 0.1 มก./ล. + น้ำมะพร้าว 10% (v/v)	จรูญ อิ่มเอิบสิน (2523)
4. ลูกผสม	เมล็ด	1/2 MS + 2, 4-D 0.8 มก./ล. + kinetin 1.0 มก./ล.	จารุวรรณ โตวิวัฒน์ (2523)
5. มาเรียนซีเฟิร์ท	ข้อที่มีตาติด	MS ดัดแปลง	Kunisaki (1980)
6. ดวงสมร ดาราทอง	ลำต้นที่มีตาติด ใบ ก้านใบ	MS + IAA 1.0 มก./ล. + BA 1.0 มก./ล.	สรรลาภ สงวนดีกุล (2526)
7. ดวงสมร	ใบอ่อน	MS + BA 0.6 มก./ล. และ 1.0 มก./ล.	วิชชุดา รุ่งเรือง (2535)
8. ดวงสมร	ใบอ่อน	MS + BA 1.0 มก./ล. และ NAA 1.0 มก./ล.	มัณฑนา นวลเจริญ (2541)
9. Double Spathe	ใบอ่อน	MS + NAA 1.0 มก./ล.	ชะอ้อน หิรัญรัตน์ (2531)

ตารางที่ 1 (ต่อ) สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสของหน้าวัว

พันธุ์	ส่วนที่นำมาเลี้ยง	อาหาร	เอกสารอ้างอิง
10. ทรอปพิกานา แชมเปญ ดวงสมร	ใบ ก้านใบ ปลีดอก	MS ดัดแปลง + BA 0.5 มก./ล. + TDZ 0.5 มก./ล.	Te-chato et al. (2002)
11. ลิมาไวท์ ทรอปพิคอลไวท์ ทรอปพิคอลเรด	ใบอ่อน	1/2 MS + BA 0.88 ไมโครโมลาร์ + 2,4-D 0.9 ไมโครโมลาร์ +kinetin 0.46 ไมโครโมลาร์ pH 5.5	Joseph et al. (2003)
12. หน้าวัวกระถาง ดอกสีแดง	ใบ	MS + BA 0.5 มก./ล. + adenine sulphate 0.1 มก./ล.	Nitayadatpat and Te-chato (2005)
13. นิตตา โอซากิ และอะเนาช์กา	ใบอ่อน	Nitsch ดัดแปลง + NH_4NO_3 200 มก./ล. + BA 1.0 มก./ล. + 2,4-D 0.1 มก./ล. (สภาพมืด)	Puchooa (2005)
14. เปลวเทียนภูเก็ต โซเนต วาเลนติโน	ใบอ่อน ข้อ ลำต้นระหว่างข้อ	MS, MS ดัดแปลง + BA 0.5 มก./ล. + TDZ 0.5 มก./ล. (สภาพมืด)	Te-chato et al. (2006)

ตารางที่ 2 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดจากแคลลัสของหน้าวัว

พันธุ์	แคลลัสจากส่วน	สูตรอาหาร	เอกสารอ้างอิง
1. *A. andraeanum*	คัพภะ (embryo) และใบ ก้านใบ จานรองดอก ก้านช่อดอกที่ยังอ่อน	1/2MS + BAP 0.1-1.0 มก./ล. (ที่มีแสง)	Pierik et al. (1974)
2. ขาวนายหวาน	แคลลัส	1/2 MS + BA 1.0 มก./ล.	จรูญ อิ่มเอิบสิน (2523)
3. ขาวนายหวาน	ลำต้นที่มีตาติด ใบ ก้านใบ	MS + IAA 1.0 มก./ล. + BA 0.1 มก./ล.	สรรลาภ สงวนดีกุล (2526)
4. Double Spathe	ใบอ่อน	MS + BA 0.6 มก./ล.	ชะอ้อน หิรัญรัตน์ (2531)
5. ดวงสมร	ใบอ่อน	1/2MS + BA 3.0 มก./ล.	วิชชุดา รุ่งเรือง (2535)
6. ดวงสมร	ใบอ่อน	MS + BA 1.0 มก./ล. และ NAA 1.0 มก./ล.	มัณฑนา นวลเจริญ (2541)
7. ทรอปพิกานา แชมเปญ ดวงสมร	ใบอ่อน ก้านใบ	MS ดัดแปลง + BA 0.5-0.75 มก./ล.	Te-chato et al. (2002)
8. นิตตา โอซากิ อเนาช์กา	ใบอ่อน	Nitsch + NH_4NO_3 720 มก./ล.	Puchooa (2006)
9. หน้าวัวกระถาง ดอกสีแดง	ใบ	MS + BA 1.0 มก./ล. + adenine sulphate 1.0 มก./ล. + ผงวุ้นเจลไรท์ 1.8 ก./ล.	Nitayadatpat and Te-chato (2005)

2.3.4 การชักนำรากและย้ายปลูก

หลังจากมีการชักนำยอดจากแคลลัสและชักนำยอดจากเนื้อเยื่อโดยตรงแล้ว สามารถชักนำรากได้บนสูตรอาหารต่าง ๆ เช่น Te-chato et al. (2002) ชักนำรากจากยอดของหน้าวัวที่ได้จากแคลลัสโดยย้ายไปยังอาหารสูตร MS ที่ลดองค์ประกอบลงครึ่งหนึ่งและไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 1-2 เดือน Vargas et al. (2004) ชักนำรากจากยอดที่ได้จากแคลลัสโดยย้ายไปยังอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 3 เดือน ต้นที่ได้สมบูรณ์สามารถย้ายออกปลูกได้ Martin et al. (2003) ทำการชักนำรากจากยอดที่เกิดจากใบอ่อนในอาหาร 1/2MS ที่เติม NAA 0.1 มก./ล. ร่วมกับ kinetin 0.2 มก./ล. ต้นที่ได้มีความสมบูรณ์

ในการย้ายปลูกต้นกล้า ทำได้โดยการนำต้นหน้าวัวที่สมบูรณ์ออกจากขวดเพาะเลี้ยง ล้างวุ้นที่ติดกับรากออกให้สะอาด อย่างระมัดระวัง เพื่อไม่ให้รากและต้นได้รับการกระทบกระเทือน ใช้กาบมะพร้าวตัดเป็นท่อนยาว 4-5 ซม. แช่น้ำอย่างน้อย 1 คืน ห่อหุ้มรากของต้นกล้าให้แน่น มัดด้วยหนังยาง หรือใส่ถาดหลุม คลุมด้วยถุงพลาสติกเพื่อป้องกันการสูญเสียความชื้น ประมาณ 1 สัปดาห์ เจาะถุงพลาสติกเป็นรูขนาดเล็ก 2-3 รู เพื่อให้ต้นกล้าปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม ขยายขนาดรูและเอาถุงพลาสติกออกภายใน 2 สัปดาห์ (Te-chato et al., 2002) ส่วนชะอ้อน หิรัญรัตน์ (2531) ใช้ขุยมะพร้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วเป็นวัสดุปลูกในการอนุบาลต้นกล้า เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือนจึงย้ายไปปลูกในอิฐทุบที่ร่อนฝุ่นออกหมดแล้ว Vargas et al. (2004) ทำการย้ายต้นออกปลูกวิธีการเดียวกัน แต่ใช้วัสดุปลูกที่มีส่วนผสมระหว่าง ดินและปุ๋ยอินทรีย์ (organic humus) อัตรา 1:1 เลี้ยงในตู้ควบคุมที่มีความชื้นสูง ให้สภาพแสงต่ำ เป็นเวลา 1 เดือน เมื่อต้นแข็งแรงจึงย้ายออกปลูกในโรงเรือน

2.4 คุณสมบัติของสาร Thidiazuron (TDZ)

Thidiazuron (TDZ) หรือ *N*-phenyl-*N'*-1,2,3-thidiazol-5-yl urea เป็นสารประกอบพวก phenylurea มีสูตรเคมีคือ $C_9H_8N_4OS$ มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลืองอ่อน (light-yellow-crystal) มวลโมเลกุลเท่ากับ 220.2 มีจุดหลอมเหลวที่ 213 °ซ และละลายได้ดีในเอทธานอล (ethanal) หรือตัวทำละลายอื่น ๆ เช่น อะซีโตน เบนซีน และ ดีเอ็มเอ็สโอ (DMSO) เป็นต้น (Murthy et al., 1998) TDZ ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์ทางการค้า เพื่อทำให้ใบฝ้ายหลุดร่วงก่อนเก็บเกี่ยว (Arndt et al., 1976 อ้างโดย Huetteman and Preece, 1993) และจดทะเบียนในชื่อทางการค้าเป็นครั้งแรกว่า Dropp นอกจากนี้ TDZ ยังมีความเสถียรสูง สามารถเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้นและเก็บไว้ในตู้เย็นได้โดยไม่เสื่อมสภาพ และสามารถเตรียมรวมกับอาหารและนึ่งฆ่าเชื้อได้โดยไม่สูญเสียการออกฤทธิ์ (Huetteman and Preece, 1993) ทำให้สะดวกในการเตรียมอาหารเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และมีการใช้อย่างแพร่หลายในเวลาต่อมา

ในการใช้สาร TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่ามีการแสดงออกหลายแบบ มีการใช้อย่างแพร่หลายและมีประสิทธิภาพสูงในพืชหลาย ๆ ชนิด ตั้งแต่ไม้พุ่ม จนถึงไม้ยืนต้น โดยเฉพาะในไม้เนื้อแข็ง Mok et al. ได้นำ TDZ มาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Phaseolus lunatus* L. พันธุ์ Kingston เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1982 พบว่ามีการออกฤทธิ์แบบไซโตไคนิน โดยมีการกระตุ้นให้มีการเจริญของแคลลัสสูงกว่า zeatin (Mok et al., 1982 อ้างโดย Murthy et al., 1998) ซึ่ง TDZ มีประสิทธิภาพสูงกว่าไซโตไคนินชนิด amino purine แต่ใช้ความเข้มข้นต่ำกว่ามาก ด้วยเหตุผลดังกล่าวทำให้มีการใช้ TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพิ่มมากขึ้น โดยความเข้มข้นของ TDZ ที่สูงกว่า 0.22 มก./ล. สามารถกระตุ้นให้เกิด แคลลัส ยอด หรือเอ็มบริโอจากเซลล์ร่างกายได้ และความเข้มข้นต่ำกว่า 2.2 มก./ล. เป็นช่วงความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพที่สุดในการชักนำให้เกิดต้น ดังนั้นในการเริ่มต้นการชักนำยอดจาก TDZ ควรใช้ความเข้มข้นอยู่ในช่วงไม่เกิน 2.2 มก./ล. แม้ว่าการใช้ TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีประสิทธิภาพสูง แต่ยอดที่ได้สั้น แคระแกร็น และมีปัญหาในการเกิดราก (Huetteman and Preece, 1993; Murthy et al., 1998)

การแสดงออกของ TDZ ได้แก่ การกระตุ้นให้เกิดแคลลัส การชักนำให้เกิดเอ็มบริโอ การเพิ่มการเจริญของแคลลัส การชักนำให้เกิดยอด การชักนำให้เกิดราก เป็นต้น (Huetteman and Preece, 1993; Murthy et al., 1998; Lu, 1993) การแสดงออกเหล่านี้เกิดได้ทั้งจากการใช้ TDZ เพียงอย่างเดียวหรือมีการใช้ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น เช่น NAA, BA, kinetin หรือ 2,4-D

การชักนำให้เกิดแคลลัส โดยทั่วไปการสร้างแคลลัสเกิดจากผลของออกซิน เช่น NAA หรือ 2,4-D แต่ TDZ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เช่นเดียวกัน และในบางกรณีมีประสิทธิภาพดีกว่าสารควบคุมชนิดอื่น (Huetteman and Preece, 1993; Murthy et al., 1998)

การชักนำให้เกิดเอ็มบริโอ การเกิดเอ็มบริโอจากเซลล์ร่างกายมักเกิดจากการใช้ออกซินอย่างเหมาะสม หรือใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนินในอัตราส่วนที่เหมาะสม อย่างไรก็ตาม TDZ เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดเอ็มบริโอจากชิ้นส่วนพืชได้ในพืชบางชนิด โดยผ่านกระบวนการเกิดเอ็มบริโอจากเซลล์ร่างกาย และยังมีผลโดยตรงในการชักนำให้เกิดเอ็มบริโอจากแคลลัส หรือมีการสร้างเอ็มบริโอจากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ รวมทั้งการสร้างเอ็มบริโอจากโปรโตพลาสต์ได้อีกด้วย

การชักนำให้เกิดยอด TDZ มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้เกิดยอดจากเนื้อเยื่อเจริญได้แก่ ส่วนปลายยอด ตาข้าง หรือกระตุ้นให้เกิดตาพิเศษได้

ในการศึกษาการทำงานของ TDZ นั้นมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาแต่ยังไม่พบวิธีการทำงาน (mode of action) ของ TDZ อย่างแน่ชัด โดย Murthy et al. (1998) ได้รายงานกลไกการทำงานของ TDZ ว่ามีการแสดงผลโดยตรงต่อการควบคุมการเจริญของเนื้อเยื่อ และการแสดงผลทางอ้อมโดยการสร้างสภาพเครียดให้กับเนื้อเยื่อพืช เพื่อให้เนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงต่อไป กลไกอื่นที่น่าจะเป็นไปได้ ได้แก่ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane)

หรือทำให้เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงาน ไปจนถึงเปลี่ยนแปลงการดูดซึมธาตุอาหาร (nutrient uptake) ในการเกิดเอ็มบริโอ TDZ อาจเกี่ยวข้องกับการทำให้เมแทบอลิซึม (metabolism) ของออกซินลดลง หรือยับยั้งการสร้างและการเคลื่อนย้ายออกซิน เป็นต้น

แม้ว่า TDZ จะมีข้อดีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แต่อาจก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืช ได้แก่ ทำให้เกิดการฉ่ำน้ำของเนื้อเยื่อเรียกอาการนี้ว่า อาการ hyperhydricity ซึ่งจะทำให้เนื้อเยื่อไม่เจริญและตายในที่สุด (Ziv, 1991) การเกิดใบที่มีลักษณะรูปร่างผิดปกติ บิดเบี้ยว โค้งงอ (van Nieuwkerk et al., 1986) หรือยอดที่เกิดสั้นและแคระแกร็น (Fasolo et al., 1989; Meyer and van Staden, 1988) ยอดที่ได้มีการยืดตัวและชักนำให้เกิดรากได้ช้า (Meyer and Kerns, 1986; Meyer and van Staden, 1988) และเกิดยอดที่มีรูปร่างผิดปกติ มีลักษณะที่มีลำต้นหลาย ๆ ต้นแบนติดกันเป็นต้นเดียว (fascinated) (Huettman and Preece, 1993)

2.5 การชักนำให้เกิดยอดด้วยสาร TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.5.1 การเปรียบเทียบผลของสาร TDZ กับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช TDZ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ โดยมีทั้งการชักนำได้โดยตรงจากเนื้อเยื่อเจริญส่วนต่าง ๆ เช่น ตายอด ตาข้าง หรือมีการชักนำยอดโดยตรงจากเนื้อเยื่อที่ไม่ใช่เนื้อเยื่อเจริญ โดยกระตุ้นให้เกิดตาพิเศษ นอกจากนี้ยังสามารถชักนำยอดจากเอ็มบริโอ โดยมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารในกลุ่มไซโตไคนินชนิดอื่น ได้แก่ BA, zeatin, kinetin เป็นต้น ตัวอย่างเช่น

การชักนำยอดจากเนื้อเยื่อเจริญส่วนตายอดและตาข้าง ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบจากส่วนปลายยอด เปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่าง TDZ กับ BA ที่ความเข้มข้น 1, 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ พบว่า TDZ ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงกว่า คือให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.2 ยอด ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ (1.1 และ 2.2 มก./ล. ตามลำดับ) ขณะที่ BA ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 3.0 และ 4.0 ยอด ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ (1.13 และ 2.25 มก./ล. ตามลำดับ) (Barna and Wakhlu, 1995) ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนตาข้างพบว่า TDZ มีประสิทธิภาพสูงในการชักนำยอดเช่นกัน โดยการชักนำยอดจากเนื้อเยื่อส่วนตาข้างที่เฉือนบาง ๆ ของแอปเปิ้ลและสาลี่ (pear) พบว่า ในแอปเปิ้ลพันธุ์ Gale Gala การเติม TDZ มีประสิทธิภาพสูงกว่าการเติม BA โดยในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 9.08 ไมโครโมลาร์ (2.0 มก./ล.) มีการเกิดยอด 36.8% ขณะที่การเติม BA ที่ความเข้มข้น 6.6 ไมโครโมลาร์ (1.49 มก./ล.) มีการเกิดยอด 26.5% และในการชักนำยอดของสาลี่พันธุ์ Bartlett การใช้ TDZ เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ BA ร่วมกับ kinetin โดย TDZ ความเข้มข้น 2.7 ไมโครโมลาร์ (0.5 มก./ล.) ให้จำนวนยอดสูงสุด 97.4% ขณะที่การใช้ BA 13.2 ไมโครโมลาร์ (2.98 มก./ล.) ร่วมกับ kinetin 23.2 ไมโครโมลาร์ (4.99 มก./ล.) ให้จำนวนยอด 95.0% (Bomminei et al., 2001) และการเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้าง

ของ gentian (*Gentiana triflora* × *G. scabra*) ในอาหารเหลวสูตร MS จากเนื้อเยื่อจำนวน 5 ชิ้น/ขวด เปรียบเทียบสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิด คือ TDZ, 4PU-30 [N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea] และ BA ความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.01 และ 0.1 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในอาหารที่เติม TDZ เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 0.01 มก./ล. ให้จำนวนยอดสูงสุด 125 ยอด รองลงมาได้แก่อาหารที่เติม TDZ 0.01 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.01 มก./ล. ให้จำนวนยอด 114 ยอด ส่วนการใช้สาร 4PU-30 พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.01 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 91 ยอด และการใช้ BA ที่ความเข้มข้น 0.01 มก./ล. ร่วมกับการใช้ NAA 0.01 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 52 ยอด (Hosokawa et al., 1998)

นอกจากนี้ TDZ สามารถชักนำยอดจากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ที่ไม่ใช่เนื้อเยื่อเจริญได้โดยตรง เช่น การชักนำยอดจากเนื้อเยื่อใบของกล้วยไม้ [Epiphytic orchid; *Acampe praemorsa* (Roxb.) Blatter and Mc Canna] โดยเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม my-o inositol 100 มก./ล. เปรียบเทียบสารควบคุมการเจริญเติบโต 4 ชนิด คือ BA ความเข้มข้น 1.0-10.0 มก./ล. kinetin ความเข้มข้น 1.0-10.0 มก./ล. TDZ ความเข้มข้น 0.01-2.0 มก./ล. และ NAA 0.5-5.0 มก./ล. เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าการใช้ TDZ มีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่เติม TDZ 1.0 มก./ล. มีการเกิดยอดสูงสุด 92.50% โดยไม่มีการเกิดแคลลัสหรือโปรโตคอร์ม (protocorm) จำนวนยอดเฉลี่ย 25 ยอด/ชิ้น แต่ยอดที่ได้สั้น ส่วนการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่เติม BA 10.0 มก./ล. มีการเกิดยอด 71.0% จำนวนยอดเฉลี่ย 14.5 ยอด/ชิ้น และในอาหารที่เติม Kinetin 10.0 มก./ล. มีการเกิดยอดเพียง 35.8% ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 4.6 ยอด/ชิ้น ส่วนในอาหารที่เติม NAA 1.0 มก./ล. มีการเกิดยอด 9.8% จำนวนยอดเฉลี่ย 1.5 ยอด/ชิ้น (Nayak et al., 1997)

เช่นเดียวกับการชักนำยอดจากเนื้อเยื่อใบของกล้วยไม้ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของอ้อย (*Saccharum spp.*) ลูกผสมพันธุ์ CP 84-1198 พบว่า TDZ มีประสิทธิภาพในการชักนำยอดได้ดีกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นเช่นกัน โดยทำการชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส (embryogenic callus) ด้วยการเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 13.6 ไมโครโมลาร์ (3.01 มก./ล.) เป็นเวลา 3 เดือน จากนั้นนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ได้มาทำการชักนำยอดในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเปรียบเทียบระหว่างอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์ เทียบกับอาหารที่เติม kinetin 9.3 ไมโครโมลาร์ (2.34 มก./ล.) ร่วมกับ NAA 22.3 ไมโครโมลาร์ (4.15 มก./ล.) และอาหารที่เติม 2,4-D 2.3 ไมโครโมลาร์ (0.5 มก./ล.) ระยะเวลา 4, 8, 12 และ 18 วัน พบว่า ในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด (shoot meristem) จากแคลลัสได้มากกว่าและเร็วกว่าในอาหารที่เติม kinetin ร่วมกับ NAA และในอาหารที่เติม TDZ 2.5-10.0 ไมโครโมลาร์ (0.55-2.2 มก./ล.) มีการเกิดเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด 100% ที่ระยะเวลา 8 วันเป็นต้นไป

ขณะที่อาหารที่เติม kinetin ร่วมกับ NAA มีการเกิดเพียง 30% นอกจากนี้ยังชักนำยอดได้จำนวนมากกว่าอาหารที่เติม 2,4-D หรือ kinetin ร่วมกับ NAA โดยในอาหารที่เติม TDZ 1.0 ไมโครโมลาร์ (0.22 มก./ล.) เกิดยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 25.6 ยอด/ชิ้น ขณะที่อาหารที่เติม 2,4-D เกิดยอดเฉลี่ย 0.83 ยอด/ชิ้น ส่วนอาหารที่เติม kinetin ร่วมกับ NAA เกิดยอดเฉลี่ย 7.4 ยอด/ชิ้น (Gallo-Meagher et al., 2000) และเมื่อเปรียบเทียบการเกิดยอดของอ้อยลูกผสมพันธุ์ CP 84-1198 จากเนื้อเยื่อเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ได้จากส่วนใบอ่อน โดยเปรียบเทียบผลของสารไซโตไคนินชนิดต่าง ๆ คือ BA, kinetin, 2iP, zeatin และ TDZ ที่ 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ให้อัตราการเกิดเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอดเฉลี่ยจากทุกความเข้มข้นสูงสุด 88.6% โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ (0.22 มก./ล.) เกิดเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด 100% ขณะที่ในอาหารที่เติมไซโตไคนินชนิดอื่นเกิดเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอดต่ำกว่า คือ BA เกิดยอด 76.2%, kinetin 72.5%, zeatin 63.7% และ 2iP 37.0% และเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ในอาหารที่เติม TDZ มีการเกิดยอดเฉลี่ยสูงกว่าสารไซโตไคนินชนิดอื่นเช่นกัน โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยจากทุกความเข้มข้น 608.2 ยอด รองลงมาคือ zeatin 232.2 ยอด BA 185.5 ยอด kinetin 180.4 ยอด และ 2iP 79.1 ยอด ตามลำดับ โดย TDZ 2.5 ไมโครโมลาร์ (0.55 มก./ล.) เกิดยอดสูงที่สุดคือ 925.5 ยอด แต่ยอดที่ได้จากการชักนำด้วย TDZ ทุกระดับความเข้มข้นมีความยาวยอดต่ำสุด (Chengalrayan and Gallo-Meagher, 2001)

2.5.2 การเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของ TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชชนิดต่าง ๆ

การศึกษาผลของความเข้มข้นของ TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชชนิดต่าง ๆ พบว่าระดับความเข้มข้นของ TDZ ที่ต่างกันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อพืชต่างกัน (Huetteman and Preece, 1993) ยกตัวอย่างเช่น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลำต้นใต้ใบเลี้ยงของต้นยี่หร่า (cumin; *Cuminum cyminum*) สายพันธุ์ RZ-19 ในอาหารสูตร MS เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของ TDZ 3 ระดับคือ ระดับต่ำ 0.001 และ 0.005 มก./ล. ระดับกลาง 0.01, 0.05 และ 0.1 มก./ล. และระดับสูง 0.1, 1.0 มก./ล. เทียบกับการเติม kinetin 0.5 มก./ล. พบว่าระดับความเข้มข้นของ TDZ มีผลต่อการชักนำยอด โดยสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การชักนำยอดได้ถึง 30% ในอาหารที่เติม TDZ 0.5 และ 0.1 มก./ล. ขณะที่อาหารที่เติม kinetin 0.5 มก./ล. เกิดยอดจำนวน 8 ยอด/ชิ้น จากนั้นชักนำรากได้ด้วยอาหารที่เติม IAA 1.0 มก./ล. (Gupta and Bhargava, 2001) ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถั่วลิสง (peanut; *Arachis hypogaea* L.) ชนิด Valencia พันธุ์ New Mexico โดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0-40 มก./ล. จากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ลำต้นใต้ใบเลี้ยง ใบเลี้ยง ใบที่มีก้านติด ใบแผ่นใบไม่มีเส้นกลางใบ เส้นกลางใบ ลำต้น และราก พบว่า TDZ สามารถชักนำยอดจากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ (ยกเว้นราก) ในอาหารที่เติม TDZ 0.5-3.0 มก./ล. โดยมีการสร้างเนื้อเยื่อส่วนที่น่าจะ

พัฒนาไปเป็นยอด (multiple shoot primordial) และให้ยอดเป็นจำนวนมาก แต่เมื่อเลี้ยงบนอาหาร TDZ 40.0 มก./ล. เนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและมีการตายของเนื้อเยื่อเกิดขึ้น โดยเนื้อเยื่อส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงให้จำนวนยอดสูงสุด 20 ยอด/ชิ้น ในทุกความเข้มข้นของ TDZ เนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยงเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ 30.0 มก./ล. เกิดยอดจำนวน 15 ยอด/ชิ้น (Kanyand et al., 1994) ในการชักนำยอด Siberian elm (*Ulmus pumila* L.) จากเนื้อเยื่อใบด้วยสาร TDZ ความเข้มข้น 0-0.22 มก./ล. พบว่า เนื้อเยื่อเริ่มเกิดยอดเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.1 หรือ 0.2 มก./ล. ภายใน 3 สัปดาห์ โดยมีอัตราการเกิดยอด 18% และ 41% ตามลำดับ แต่ยอดที่ได้สั้นและแคระแกร็น (Kapaun and Cheng, 1997) ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ตง (*Bambusa edulis*) ในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.01, 0.1, 1.0 และ 6.0 มก./ล. พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ที่อัตรา 0.1 มก./ล. ระยะเวลา 21 วัน เหมาะสมในการชักนำยอดจากข้อที่สุด โดยเกิดยอดจำนวน 3.56 ยอด/ชิ้น ยอดที่ได้มีความสมบูรณ์แข็งแรง ส่วนในอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูง 6.0 มก./ล. พบว่ามีการเกิดยอดสูงสุด 3.67 ยอด/ชิ้น แต่ยอดที่ได้สั้นแคระแกร็น (Lin and Chang, 1998)

ในการชักนำยอดจากเนื้อเยื่อแคลลัสของข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare* L.) และข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ด้วยสาร TDZ พบว่า มีการเกิดยอดจากแคลลัสได้ดีในพืชทั้งสองชนิด การเลี้ยงแคลลัสข้าวบาร์เลย์พันธุ์ Golden Promise ในอาหารสูตร MS ที่มี TDZ 0.01-10.0 มก./ล. มีการเกิดยอดในทุกความเข้มข้นของ TDZ โดยเกิดยอดสูงสุด 38.30% เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ 1.0 มก./ล. และเมื่อเปรียบเทียบการเกิดยอดในอาหารนี้ กับอาหารที่เติม 2,4-D 1.0 มก./ล. ร่วมกับ BAP 1.0 มก./ล. และในอาหารที่เติม IAA 1.0 มก./ล. ร่วมกับ kinetin 0.2 มก./ล. พบว่าอาหารที่เติม TDZ 1.0 มก./ล. มีการเกิดยอดสูงสุด 40.0% ส่วนในการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวสาลีพันธุ์ Bob White ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการเกิดยอดได้ดีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และพันธุ์ Hi-Line ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ยังไม่เคยทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาก่อน พบว่า ระดับ TDZ ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดในทั้งสองพันธุ์คือ 0.2 มก./ล. โดยเกิดยอด 87.0% ในพันธุ์ Bob White และ 49.4% ในพันธุ์ Hi-Line นอกจากนี้ในการเปรียบเทียบการชักนำยอดจากสาร TDZ กับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น คือ 2,4-D 0.01 มก./ล., Dicamba 0.5 มก./ล. และ kinetin 1.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1.0 มก./ล. พบว่าในอาหารที่เติม TDZ 0.2 มก./ล. มีการเกิดยอดสูงสุดในทั้งสองพันธุ์คือ เกิดยอด 87.0% ในพันธุ์ Bob White และ 49.4% ในพันธุ์ Hi-Line (Shan et al., 2000) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจำพวก Vaccinium จากส่วนใบบนอาหารที่มี TDZ ร่วมกับ NAA พบว่าการเติม TDZ ร่วมกับ NAA มีผลบวกต่อการเกิดและการเพิ่มอัตราการเกิดโปรโตแคลลัส (protocalluses) โดยพบว่าเมื่อเลี้ยง ohelo (*Vaccinium pahalae* Skottsb.) และ bilberry *(V. myrtillus* L.) ในอาหารที่มี TDZ 0.2-0.6 มก./ล. ในที่มืด 1-2 สัปดาห์ จะเกิดการชักนำยอดคิดเป็นอัตรา 75% และสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดต่อชิ้นได้สูงสุด (Shibli and Smith, 1996)

2.5.3 การใช้ TDZ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นอกจากมีการใช้ TDZ เพียงอย่างเดียวแล้ว พบว่าในพืชบางชนิดการใช้สาร TDZ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นสามารถเพิ่มการเกิดยอดได้ดีขึ้น โดย Qu et al. (2000) ทำการเพาะเลี้ยง cranberry (*V. macrocarpon* Ait.) ในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2.20 มก./ล. ร่วมกับ 2iP สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ใน 5 พันธุ์ คือ Early Black, Pilgrim, Stevens, Ben Lear และ No. 35 โดยให้ผลดีที่สุดในพันธุ์ Early Black และ Pilgrim คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดต่อเนื้อเยื่อเจริญ 95% และมีจำนวนเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด (shoot meristems) 100 ยอด/ชิ้น ส่วน Bell et al. (1998) ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนของสาลี่ พันธุ์ Beurre Bosc ในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2.22 มก./ล. ร่วมกับ IBA เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในที่มืด จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอด Hassaballa et al. (1996) ศึกษาการใช้ TDZ ร่วมกับ BAP ในการชักนำยอดของ apricot (*Prunus armeniaca* L.) พันธุ์แฮมเวย์ (Hamway) และเอล-อมาร์ (El-Amar) โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดและข้อที่มีตาข้างติดอยู่ 1 ตา ในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม adenine sulfate พบว่า การชักนำยอดเกิดได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม TDZ 1.00 มก./ล. ร่วมกับ BA 2.00 มก./ล. นอกจากนี้ TDZ ที่ความเข้มข้นระดับสูงขึ้นจะช่วยเพิ่มจำนวนยอดของถั่วอาหารสัตว์ alfafa แต่ทำให้ยอดแคระแกร็น (Yang and Kamp-Glass, 1998)

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์

3.1.1 ต้นหน้าวัว พันธุ์ลินเนต (Linnet) และพันธุ์ทรอปพิคอล (Tropical) ในสภาพปลอดเชื้อ

3.1.2 สารเคมี

- สารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) หรือ MS (ตารางภาคผนวกที่ 1)
- สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ thidiazuron (TDZ, *N*–phenyl-*N'*-1, 2, 3-thidiazol-5-yl urea), BA (6-benzylamino purine), kinetin [N-(2-furanylmethyl)-1H-purine-6-amine], 2, 4-D (2, 4-dichlorophenoxyacetic acid)
- เอทธิลแอลกอฮอล์ 70 และ 95%
- น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
- ผงวุ้น
- น้ำตาลซูโครส

3.1.3 เครื่องมือ อุปกรณ์

- เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่ หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้าแบบหยาบ (ทศนิยม 2 ตำแหน่ง) และแบบละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) เครื่องไมโครเวฟ
- เครื่องแก้วที่ใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง ได้แก่ กระบอกตวง บีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร ปิเปต แท่งแก้วคนสาร
- เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อ ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ มีดผ่าตัด ปากคีบ จานแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์ ขวดแช่เครื่องมือ
- อุปกรณ์ใช้วัดความยาวยอด ได้แก่ เวอร์เนียคาลิปเปอร์

3.1.4 ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปรับอุณหภูมิ 25 °ซ อุปกรณ์ภายในห้องประกอบด้วย

- ชั้นวางที่ติดตั้งหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent) และเครื่องควบคุมเวลา (timer) ตั้งเวลาให้มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมงและมืด 8 ชั่วโมง ความเข้มแสงประมาณ 3,000 ลักซ์
- เครื่องปรับอากาศ ปรับอุณหภูมิภายในห้องประมาณ 25 $\pm$ 2 °ซ

3.2 วิธีทดลอง

3.2.1 การเตรียมการทดลอง

3.2.1.1 การเพิ่มปริมาณต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ

เป็นการเตรียมต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อเพื่อให้ได้ต้นจำนวนมากและมีขนาดใกล้เคียงกัน ซึ่งเหมาะสมสำหรับการทดสอบสูตรอาหาร

3.2.1.1.1 การเตรียมอาหารเพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ

(1) อาหารแข็งสูตรชักนำแคลลัส

อาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง โดยใช้ธาตุอาหารหลักเพียงครึ่งเดียว (1/2 MS) เตรียมธาตุอาหารตามความเข้มข้นในตารางภาคผนวกที่ 1 แต่ใช้ธาตุอาหารหลักที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 2 เท่า เติมน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล. thiamine HCl 50 มก./ล. 2, 4-D 100 มก./ล. kinetin 20 มก./ล. ปรับ pH ให้ได้ 5.7 $\pm$ 0.2 ด้วย HCl 1 นอร์มอล หรือ KOH 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) เติมวุ้น 7 ก./ล. และหลอมวุ้นด้วยเตาไมโครเวฟ เป็นเวลา 8 นาที เมื่อวุ้นละลายหมดจึงบรรจุอาหารในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ปิดฝาขวดให้สนิท นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว^{2} นาน 15 นาที

(2) อาหารเหลวสูตรเพิ่มปริมาณแคลลัส

อาหารเหลวสูตร MS ดัดแปลง โดยใช้ธาตุอาหารหลักเพียงครึ่งเดียว (1/2 MS) เตรียมธาตุอาหารตามความเข้มข้นในตารางภาคผนวกที่ 1 แต่ใช้ธาตุอาหารหลักที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 2 เท่า เติมน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล. thiamine HCl 50 มก./ล. 2, 4-D 100 มก./ล. kinetin 20 มก./ล. ปรับ pH ให้ได้ 5.7 $\pm$ 0.2 ด้วย HCl 1 นอร์มอล หรือ KOH 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร บรรจุอาหารในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ปิดฝาขวดให้สนิท นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว^{2} นาน 15 นาที

(3) อาหารแข็งชักนำต้น สูตร Murashige and Skoog (1962) หรือ MS

อาหารแข็งสูตร MS โดยเตรียมธาตุอาหารตามความเข้มข้นในตารางภาคผนวกที่ 1 เติมน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล. ปรับ pH ให้ได้ 5.7 $\pm$ 0.2 ด้วย HCl 1 นอร์มอล หรือ KOH 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร เติมวุ้น 7 ก./ล. และหลอมวุ้นด้วยเตาไมโครเวฟ เป็นเวลา 8 นาที เมื่อวุ้นละลายหมดจึงบรรจุอาหารในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ปิดฝาขวดให้สนิท นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว^{2} นาน 15 นาที

3.2.1.1.2 การเพิ่มปริมาณหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ

(1) ใช้ต้นหน้าวัวพันธุ์ลินเนตและพันธุ์ทรอปิคอลในสภาพปลอดเชื้อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ตัดส่วนยอด ใบ และรากทิ้ง ตัดลำต้นให้ได้เนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติด 1 ตา

ขนาดประมาณ 1 × 1 × 0.5 ซม. นำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรชักนำแคลลัส ตามข้อ 3.2.1.1.1 (1) เป็นเวลา 3-4 เดือน จนเกิดเป็นแคลลัส เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์

(2) เพิ่มปริมาณแคลลัสที่ได้จากข้อ (1) โดยนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรเพิ่มปริมาณแคลลัส ตามข้อ 3.2.1.1.1 (2) วางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนเครื่องเขย่า เมื่อแคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้น ทำการแบ่งแคลลัสให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตรเดิมต่อไป เพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัส เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์

(3) ชักนำต้น โดยนำแคลลัสที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ตามข้อ 3.2.1.1.1 (3) เพื่อชักนำให้เกิดยอด ทำการแยกแคลลัสออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ เพื่อให้มีการพัฒนาเป็นยอดเร็วขึ้น เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ เพื่อเพิ่มปริมาณการเกิดยอดหน้าวัว

(4) ตัดแยกส่วนยอดออกจากแคลลัสเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เพื่อให้ยอดมีการเจริญอย่างสม่ำเสมอ และเพื่อเพิ่มจำนวนยอดให้เพียงพอที่จะนำไปศึกษาผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอด

3.2.1.2 การเตรียมอาหารที่ใช้ในการทดสอบสูตรอาหาร

3.2.1.2.1 การทดลองที่ 1

การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยใช้ความเข้มข้นช่วงกว้าง (broad range test)

(1) อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

เตรียมธาตุอาหารตามความเข้มข้นในตารางภาคผนวกที่ 1 เติมน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล. เติม TDZ 0.01, 0.05, 0.10, 0.50 และ 1.00 มก./ล. ปรับ pH ให้ได้ 5.7 $\pm$ 0.2 ด้วย HCl 1 นอร์มอล หรือ KOH 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร เติมวุ้น 7 ก./ล. หลอมวุ้นด้วยเตาไมโครเวฟ เป็นเวลา 8 นาที เมื่อวุ้นละลายหมดจึงบรรจุอาหารในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ปิดฝาขวดให้สนิท นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว^{2} นาน 15 นาที

(2) อาหารแข็งสูตร MS

เตรียมอาหารสูตร MS เพื่อใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดสูตรต่าง ๆ ตามระยะเวลาที่กำหนด [เตรียมเช่นเดียวกับการเตรียมอาหารสูตร MS ในข้อ 3.2.1.1.1 (3)]

3.2.1.2.2 การทดลองที่ 2

การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยใช้ความเข้มข้นช่วงแคบ (narrow range test) เปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบ

(1) อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

เตรียมธาตุอาหารตามความเข้มข้นในตารางภาคผนวกที่ 1 เติมน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล. เติม TDZ 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 และ 0.50 มก./ล. ปรับ pH ให้ได้ 5.7 $\pm$ 0.2 ด้วย HCl 1 นอร์มอล หรือ KOH 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร เติมวุ้น 7 ก./ล. หลอมวุ้นด้วยเตาไมโครเวฟเป็นเวลา 8 นาที เมื่อวุ้นละลายหมดจึงบรรจุอาหารในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ปิดฝาขวดให้สนิท นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว^{2} นาน 15 นาที

(2) อาหารสูตรเปรียบเทียบ

ได้แก่ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0.2 มก./ล. เตรียมธาตุอาหารตามความเข้มข้นในตารางภาคผนวกที่ 1 เติมน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล. BA 0.2 มก./ล. ปรับ pH ให้ได้ 5.7 $\pm$ 0.2 ด้วย HCl 1 นอร์มอล หรือ KOH 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร เติมวุ้น 7 ก./ล. หลอมวุ้นด้วยเตาไมโครเวฟเป็นเวลา 8 นาที เมื่อวุ้นละลายหมดจึงบรรจุอาหารในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ปิดฝาขวดให้สนิท นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว^{2} นาน 15 นาที

(3) อาหารแข็งสูตร MS

เตรียมอาหารสูตร MS เพื่อใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดสูตรต่าง ๆ ตามระยะเวลาที่กำหนด [เตรียมเช่นเดียวกับการเตรียมอาหารสูตร MS ในข้อ 3.2.1.1.1 (3)]

3.2.1.2.3 การทดลองที่ 3

การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ทรอปิคอลเปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบ

(1) อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

เตรียมธาตุอาหารตามความเข้มข้นในตารางภาคผนวกที่ 1 เติมน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล. เติม TDZ 0.10, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 มก./ล. ปรับ pH ให้ได้ 5.7 $\pm$ 0.2 ด้วย HCl 1 นอร์มอล หรือ KOH 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร เติมวุ้น 7 ก./ล. หลอมวุ้นด้วยเตาไมโครเวฟเป็นเวลา 8 นาที จนวุ้นละลายหมดจึงบรรจุอาหารในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ปิดฝาขวดให้สนิท นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว^{2} นาน 15 นาที

(2) อาหารสูตรเปรียบเทียบ

ได้แก่ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0.2 มก./ล. เตรียมอาหารสูตรเปรียบเทียบเช่นเดียวกับการเตรียมอาหารในข้อ 3.2.1.2.2 (2)

(3) อาหารแข็งสูตร MS

เตรียมอาหารสูตร MS เพื่อใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดสูตรต่าง ๆ ตามระยะเวลาที่กำหนด [เตรียมเช่นเดียวกับการเตรียมอาหารสูตร MS ในข้อ 3.2.1.1.1 (3)]

3.2.2 การทดลอง

3.2.2.1 การทดลองที่ 1

การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยใช้ความเข้มข้นช่วงกว้าง (broad range test)

ทำการศึกษาผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นระดับต่าง ๆ กัน และระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ต่างกัน จัดทรีตเมนต์ (treatment) แบบแฟกตอเรียล (factorial) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD)

แฟกเตอร์ A = สูตรอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนต่างกัน

แฟกเตอร์ B = ระยะเวลาการเลี้ยงที่ต่างกัน

โดยมีวิธีการทดลองดังนี้

(1) เตรียมเนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยนำต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ มาตัดยอด ใบ และราก ออก ตัดลำต้นให้ได้เนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติด 1 ตา ขนาดประมาณ 1 × 1 × 0.5 ซม.

(2) นำชิ้นเนื้อเยื่อที่ได้จากข้อ (1) ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ดังนี้

สูตรที่ 1 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.01 มก./ล.

สูตรที่ 2 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.05 มก./ล.

สูตรที่ 3 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.10 มก./ล.

สูตรที่ 4 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.50 มก./ล.

สูตรที่ 5 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 1.00 มก./ล.

คีบเนื้อเยื่อแบบสุ่มวางปักบนอาหารแต่ละสูตร โดยเลี้ยงชิ้นส่วนหน้าวัวบนอาหารจำนวน 4 ชิ้นต่ออาหาร 1 ขวด ต่อ 1 ซ้ำ ทำการทดลองสูตรละ 4 ซ้ำ

(3) ทำการเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวบนอาหารแต่ละสูตรในระยะเวลาต่างกัน คือ 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

(4) บันทึกผลหลังจากย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหน้าวัว โดยบันทึกผลดังต่อไปนี้

- จำนวนยอดต่อชิ้น นับจำนวนยอดที่เกิดในหนึ่งชิ้นเนื้อเยื่อ คำนวณหาค่าเฉลี่ยต่อซ้ำ
- ความยาวยอด วัดความยาวของยอดโดยวัดจากบริเวณข้อที่ 1 ของยอดลงมาชิดชิ้นเนื้อเยื่อด้วยเครื่องเวอร์เนียคาลิปเปอร์ คำนวณหาค่าเฉลี่ยต่อซ้ำ

- น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ ชั่งน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง คำนวณหาค่าเฉลี่ยต่อซ้ำ

- จำนวนชิ้นที่มีการเกิดยอด นับจำนวนชิ้นเนื้อเยื่อที่เกิดยอด คำนวณและรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด คำนวณตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนชิ้นที่เกิดยอด} \times 100}{\text{จำนวนชิ้นเนื้อเยื่อทั้งหมด}}$$

- จำนวนชิ้นที่มีการเกิดแคลลัส นับจำนวนชิ้นเนื้อเยื่อที่เกิดแคลลัส คำนวณและรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คำนวณตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส} \times 100}{\text{จำนวนชิ้นเนื้อเยื่อทั้งหมด}}$$

- จำนวนยอดรวม คำนวณตามสูตร

$$\text{จำนวนยอดรวม} = \text{จำนวนยอด/ชิ้น} \times \text{เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด}$$

ค่าที่ใช้ในการวิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติใช้การแปลงข้อมูล โดยใช้สูตร

$$\text{ข้อมูลแปลงเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด} = \sqrt{\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด} + 0.5}$$

การคำนวณข้อมูลแปลงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสและจำนวนยอดรวม ใช้สูตรเดียวกับเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดแต่แทนค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดด้วยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสและจำนวนยอดรวม ตามลำดับ

(5) วิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

3.2.2.2 การทดลองที่ 2

การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยใช้ความเข้มข้นช่วงแคบ (narrow range test) เปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบ

ทำการศึกษาเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาร TDZ ต่อการชักนำยอดหน้าวัวพันธุ์ลินเนต จากผลที่ได้จากการทดลองที่ 1 ทำการเลือกช่วงความเข้มข้นของสาร TDZ ที่สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด (0.10-0.50 มก./ล.) และเนื้อเยื่อไม่เกิดการพัฒนาเป็นแคลลัส เปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA 0.20 มก./ล. เป็นสูตรเปรียบเทียบ จัดทรีตเมนต์แบบแฟกตอเรียล ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

แฟกเตอร์ A = สูตรอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนต่างกัน

แฟกเตอร์ B = ระยะเวลาการเลี้ยงที่ต่างกัน

โดยมีวิธีการทดลองดังนี้

(1) เตรียมเนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยนำต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ มาตัดยอด ใบ และราก ออก ตัดลำต้นให้ได้เนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติด 1 ตา ขนาดประมาณ 1 × 1 × 0.5 ซม.

(2) นำชิ้นเนื้อเยื่อที่ได้จากข้อ (1) ไปเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดสูตรต่าง ๆ ดังนี้

สูตรที่ 1 อาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.20 มก./ล.

สูตรที่ 2 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.10 มก./ล.

สูตรที่ 3 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.20 มก./ล.

สูตรที่ 4 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.30 มก./ล.

สูตรที่ 5 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.40 มก./ล.

สูตรที่ 6 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.50 มก./ล.

คีบเนื้อเยื่อแบบสุ่มวางปักบนอาหารแต่ละสูตรโดยเลี้ยงชิ้นส่วนหน้าวัวบนอาหารจำนวน 4 ชิ้นต่ออาหาร 1 ขวด ต่อ 1 ซ้ำ ทำการทดลองสูตรละ 4 ซ้ำ

(3) ทำการเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวบนอาหารแต่ละสูตรในระยะเวลาต่างกัน คือ 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

(4) บันทึกผลหลังจากย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหน้าวัวและบันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ในข้อ 3.2.2.1 (4)

(5) วิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ DMRT

3.2.2.3 การทดลองที่ 3

การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอลเปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบ

ทำการศึกษาเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาร TDZ ต่อการชักนำยอดหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอลจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA 0.20 มก./ล. เป็นสูตรเปรียบเทียบ จัดทรีตเมนต์แบบแฟกตอเรียล ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

แฟกเตอร์ A = สูตรอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนต่างกัน

แฟกเตอร์ B = ระยะเวลาการเลี้ยงที่ต่างกัน

โดยมีวิธีการทดลองดังนี้

(1) เตรียมเนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล โดยนำต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อมาตัดยอด ใบ และราก ออก ตัดลำต้นให้ได้เนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติด 1 ตา ขนาดประมาณ 1 × 1 × 0.5 ซม.

(2) นำชิ้นเนื้อเยื่อที่ได้จากข้อ (1) ไปเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดสูตรต่าง ๆ ดังนี้

สูตรที่ 1 อาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.20 มก./ล.

สูตรที่ 2 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.10 มก./ล.

สูตรที่ 3 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.25 มก./ล.

สูตรที่ 4 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.50 มก./ล.

สูตรที่ 5 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.75 มก./ล.

สูตรที่ 6 อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 1.00 มก./ล.

(3) ทำการเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวบนอาหารแต่ละสูตรในระยะเวลาต่างกัน คือ 4, 6 และ 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

(4) บันทึกผลหลังจากย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหน้าวัวและบันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ในข้อ 3.2.2.1 (4)

(5) วิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ DMRT

ในการทดลองที่ 1, 2 และ 3 ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มีการจัดทรีตเมนต์แบบแฟกตอเรียล ซึ่งมีแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2540) ดังนี้

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์มี 2 แฟกเตอร์ คือ A มี a ระดับ และ B มี b ระดับ และใช้แผนการทดลองแบบ CRD แสดงแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ได้ดังนี้

$$X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

เมื่อให้ i = 1, 2, 3,….., a (a = จำนวนระดับของแฟกเตอร์ A)

j = 1, 2, 3,….., b (b = จำนวนระดับของแฟกเตอร์ B)

k = 1, 2, 3,….., n (n = จำนวนค่าสังเกตแต่ละทรีตเมนต์)

X_{ijk} = ค่าสังเกตที่ได้จากสิ่งทดลอง

μ = ค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง

α, β = เป็นอิทธิพลหลักของแฟกเตอร์ A และ B ตามลำดับ

$\alpha\beta$ = เป็นปฏิกิริยาระหว่างอิทธิพลหลัก

ε = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

3.2.3 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์พืช ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2.4 ระยะเวลาการทดลอง

กรกฎาคม 2546 - พฤษภาคม 2548

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยใช้ความเข้มข้นช่วงกว้าง (broad range test)

การทดลองนี้สามารถแบ่งช่วงความเข้มข้นของ TDZ ออกเป็น ช่วงกว้าง ๆ ได้ 3 ช่วง คือ

ความเข้มข้นระดับต่ำ ได้แก่ อาหารสูตรที่ 1 และ 2 ที่เติม TDZ 0.01 และ 0.05 มก./ล.

ความเข้มข้นระดับกลาง ได้แก่ อาหารสูตรที่ 3 และ 4 ที่เติม TDZ 0.10 และ 0.50 มก./ล.

ความเข้มข้นระดับสูง ได้แก่ อาหารสูตรที่ 5 ที่เติม TDZ 1.00 มก./ล.

จากผลการวิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของ จำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์) ตามตารางที่ 3 พบว่า ความแตกต่างของสูตรอาหาร และระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อมีผลต่อ จำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) แต่ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด ส่วนปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีผลต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด และเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร จากตารางที่ 4 พบว่า ในอาหารสูตรที่ 4 ซึ่งเป็นอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.50 มก./ล. (ความเข้มข้นระดับกลาง) สามารถชักนำยอดจากเนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติด 1 ตาให้เกิดจำนวนยอด/ชิ้นโดยเฉลี่ยในทุกระยะเวลาการเลี้ยงสูงสุด 2.82 ยอด/ชิ้น สูงกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดในระดับสูง คิดเป็น 96.68% นอกจากนี้ยังพบว่า มีจำนวนยอดรวมสูงสุด 258.03 ยอด โดยสูงกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง 1.5-1.6 เท่า และมีน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อเฉลี่ยสูงเป็นอันดับสอง คือ 0.4259 กรัม รองจากเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 5 แม้ว่าในอาหารสูตรที่ 4 จะสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอด/ชิ้นเฉลี่ยสูง แต่พบว่ายอดที่ได้สั้น โดยมีความยาวยอดเฉลี่ย 8.33 มม. เนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัสในระดับสูง คิดเป็น 62.99% ส่วนในอาหารสูตรที่ 3 ที่เติม TDZ 0.10 มก./ล. ซึ่งความเข้มข้นอยู่ในระดับกลางเช่นเดียวกับอาหารสูตรที่ 4 พบว่าเนื้อเยื่อมีการสร้างยอดน้อยกว่าในอาหารสูตรที่ 4 คือมีจำนวนยอด/ชิ้น

เฉลี่ย 1.74 ยอด และมีจำนวนยอดรวมเฉลี่ย 169.30 ยอด แต่ยอดที่ได้มีความสมบูรณ์กว่าในอาหารสูตรอื่น ๆ โดยสังเกตได้จากมีความยาวยอดสูงสุด 12.96 มม. นอกจากนี้ยังมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุดคือ 98.34% และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่ำคือ 26.44%

ส่วนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นในระดับต่ำ คือในอาหารสูตรที่ 1 และ 2 (เติม TDZ เข้มข้น 0.01 และ 0.05 มก./ล. ตามลำดับ) พบว่าสามารถชักนำยอดได้โดยตรง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่ำ จำนวนยอด/ชิ้นและจำนวนยอดรวมต่ำ โดยในอาหารสูตรที่ 1 จำนวนยอด/ชิ้นเฉลี่ยมีแนวโน้มต่ำสุด 1.64 ยอด/ชิ้น และมีจำนวนยอดรวมเฉลี่ยต่ำสุด 157.08 ยอด ยอดที่ได้มีขนาดเล็กและมีความยาวยอดเฉลี่ยต่ำสุด 6.19 มม. น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อเฉลี่ยต่ำสุด 0.1115 กรัม เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่ำสุด 15.50% ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดพบว่าอยู่ในระดับสูง คือ 96.68% ส่วนเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 2 มีจำนวนยอด/ชิ้น และน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อสูงกว่าเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 1 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีจำนวนยอด/ชิ้นเฉลี่ย 1.72 ยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อเฉลี่ย 0.1994 กรัม ส่วนจำนวนยอดรวมมีค่าใกล้เคียงกันคือ 158.06 ยอด อย่างไรก็ตามยอดที่ได้มีความสมบูรณ์มากกว่าสูตรที่ 1 โดยมีความยาวยอดเฉลี่ย 9.81 มม. เป็นอันดับสองรองจากยอดที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตรที่ 3 แต่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงกว่าเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) 2.40 เท่า

ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นระดับสูง คืออาหารสูตรที่ 5 ซึ่งเติม TDZ 1.00 มก./ล. พบว่า เนื้อเยื่อมีการเกิดยอด/ชิ้นเฉลี่ย 1.81 ยอด เป็นอันดับ 2 รองจากเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 4 และมีจำนวนยอดรวม 161.60 ยอด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตรที่ 1, 2 และ 3 แต่ยอดที่ได้มีขนาดสั้นแคระแกร็น มีความยาวยอดเพียง 6.79 มม. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดต่ำสุด 90.24% แต่พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด 98.34% และชิ้นเนื้อเยื่อมีน้ำหนักสูงสุด 0.5452 กรัม ซึ่งสูงกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ

จากการพิจารณาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อในระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา ดังตารางที่ 5 พบว่า ระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลในการเพิ่มค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม โดยที่ระยะ 8 สัปดาห์ เนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยในทุกสูตรอาหารสูงสุด เกิดจำนวนยอด/ชิ้นสูงสุด 2.39 ยอด ความยาวยอดสูงสุด 11.17 มม. น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อสูงสุด 0.4292 กรัม เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด 64.77% และจำนวนยอดรวมสูงสุด 220.17 ยอด ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดไม่ขึ้นกับระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่ระยะเวลาน้อยที่สุดในการเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตรต่าง ๆ คือ 2 สัปดาห์ พบว่า เนื้อเยื่อมีการให้ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด และจำนวนยอดรวมต่ำกว่าระยะเวลาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) คือ ให้จำนวนยอด/ชิ้น 1.49 ยอด ความยาวยอด 6.65 มม. และจำนวนยอดรวม

135.30 ยอด ส่วนน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมีแนวโน้มต่ำกว่าระยะเวลาอื่น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

การศึกษาปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีผลต่อการเกิดจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ดังภาพที่ 1 พบว่า การเกิดยอดของหน้าวัวที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 4 ซึ่งเติม TDZ 0.50 มก./ล. ตอบสนองดีที่สุดต่อระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ โดยที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ให้จำนวนยอด/ชิ้นเฉลี่ยสูงสุด 3.94 ยอด และจำนวนยอดรวมสูงสุด 349.94 ยอด รองลงมาคือที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์เกิดจำนวนยอด/ชิ้นเฉลี่ย 3.38 ยอด จำนวนยอดรวม 311.55 ยอด แต่ค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่าง 6 และ 8 สัปดาห์ และทั้งระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดในระดับสูงคือ 93.35% แต่ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงกว่าคือ 93.36% ขณะที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์เกิดเพียง 79.78% (ตารางภาคผนวกที่ 2)

นอกจากนี้เมื่อสังเกตค่าเฉลี่ยในทุกระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า อาหารสูตรที่ 4 ให้จำนวนยอด/ชิ้น และจำนวนยอดรวมสูงสุดในทุกระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อ โดยเฉพาะที่ 6 และ 8 สัปดาห์ ให้ค่าเฉลี่ยสูงกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 3) สำหรับเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่เลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ระยะเวลานานมีแนวโน้มในการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส (ตารางภาคผนวกที่ 2) ซึ่งการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของเนื้อเยื่อ อาจมีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์สูงกว่าการชักนำยอดจากตาโดยตรง และเป็นปัจจัยที่ไม่ต้องการในการทดลองนี้ ส่วนในอาหารสูตรที่ 5 ที่เติม TDZ 1.00 มก./ล. พบว่าเนื้อเยื่อมีแนวโน้มให้ค่าน้ำหนักเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุดในทุกระยะเวลาการเลี้ยง และสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากกว่า 90% ตั้งแต่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ (ภาพภาคผนวกที่ 3) ซึ่งค่าเฉลี่ยของน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมีความสัมพันธ์กันโดยตรง คือ เมื่อเนื้อเยื่อมีการเพิ่มปริมาณและสร้างแคลลัส จะมีผลให้เนื้อเยื่อมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 5 บางชิ้น ยอดที่ได้มีลักษณะผิดปกติ คือ พบใบที่บิดงอและใบด่าง แต่ลักษณะผิดปกติเหล่านี้ได้หายไปกลายเป็นยอดปกติเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ภาพภาคผนวกที่ 5)

เห็นได้ว่าการเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่ำ (ความเข้มข้น 0.01 และ 0.05 มก./ล.) สามารถชักนำยอดได้โดยตรงจากเนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติด 1 ตา ยอดที่ได้มีความสมบูรณ์แต่มีจำนวนน้อย การเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูง (1.00 มก./ล.) เนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัสสูง มีการสร้างยอดจำนวนน้อย และยังพบว่ายอดที่ได้สั้นและแกร็น ใบมีรูปร่างผิดปกติ บิดงอผิดรูปร่าง และมีลักษณะใบด่างในบางชิ้นเนื้อเยื่อ ส่วนการเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารที่เติม TDZ 0.10 และ 0.50 มก./ล. เป็นช่วงความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอด โดยเนื้อเยื่อ

เกิดจำนวนยอดมากขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และตอบสนองต่ออาหารได้ดีที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ ที่ความเข้มข้น 0.10 มก./ล. ให้ยอดที่มีความสมบูรณ์และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูง ส่วนที่ความเข้มข้น 0.50 มก./ล. เนื้อเยื่อมีการเกิดจำนวนยอด/ชิ้นสูงสุด และมีจำนวนยอดรวมสูงสุด แต่การเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ระยะเวลานาน (6 และ 8 สัปดาห์) ทำให้เนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัสสูง (ภาพภาคผนวกที่ 5) ดังนั้น จึงได้ทำการศึกษาต่อในการทดลองที่ 2 เพื่อหาระดับความเข้มข้นของ TDZ ในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.5 มก./ล. และระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรชักนำยอดที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์)

Source of variation	df	Mean squares					
		จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
Media	4	3.83 **	117.63 **	0.49 **	0.45 ns	95.09 **	36.52 **
Time	3	2.75 **	69.90 **	0.16 **	0.22 ns	37.36 **	34.83 **
Media × Time	12	0.78 *	20.40 *	0.02 ns	0.64 *	2.74 ns	7.66 ns
Error	60	0.36	9.06	0.02	0.27	5.47	4.43
CV(%)		30.84	34.15	44.92	5.32	36.10	15.71

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร

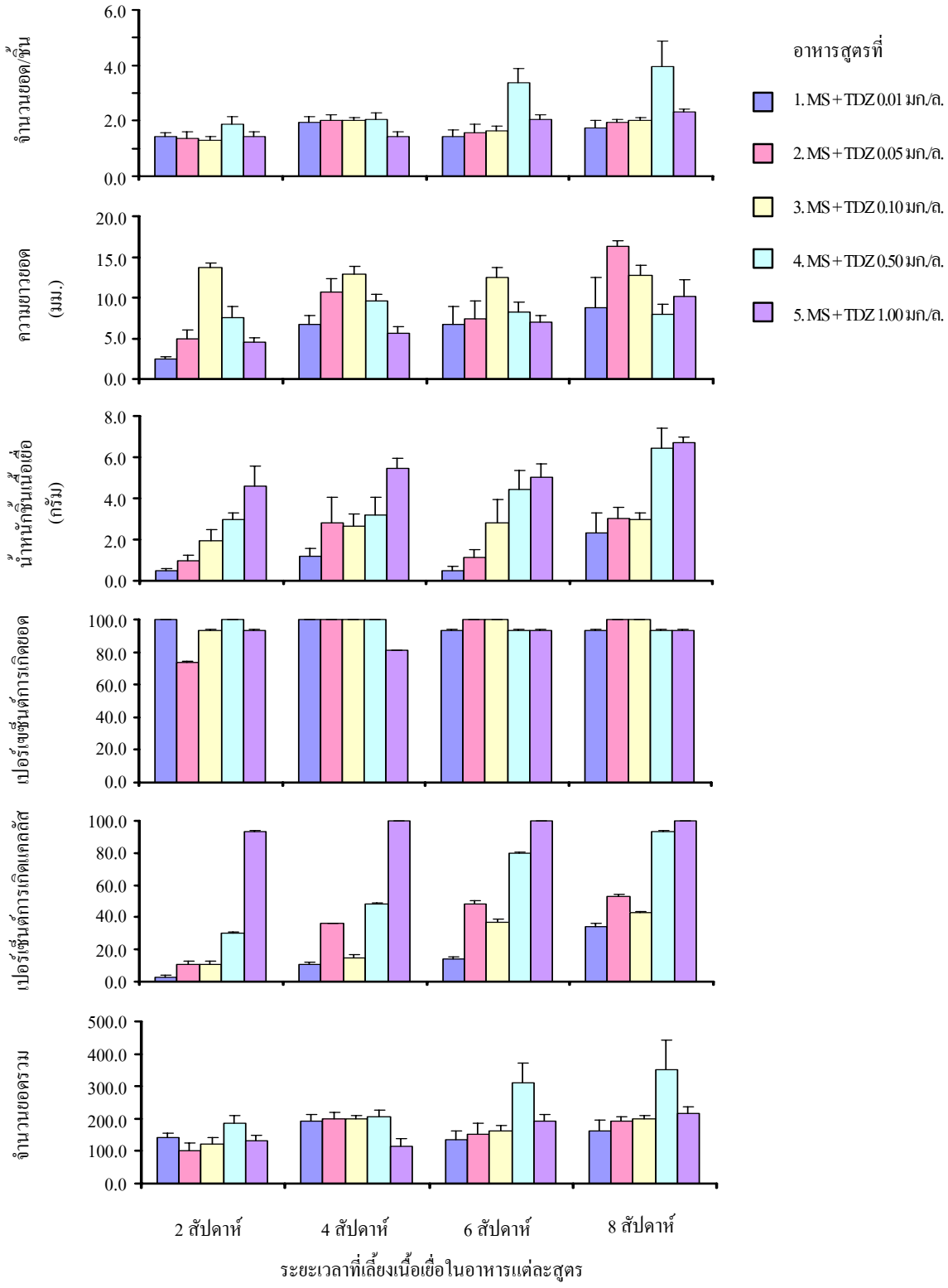
สูตรอาหารที่	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
1. MS + TDZ 0.01 มก./ล.	1.64 b[(1)]	6.19 c	0.1115 d	96.68 ab	15.50 d	157.08 b
2. MS + TDZ 0.05 มก./ล.	1.72 b	9.81 b	0.1994 cd	93.48 ab	37.16 c	158.06 b
3. MS + TDZ 0.10 มก./ล.	1.74 b	12.96 a	0.2586 c	98.34 a	26.44 cd	169.30 b
4. MS + TDZ 0.50 มก./ล.	2.82 a	8.33 bc	0.4259 b	96.68 ab	62.99 b	258.03 a
5. MS + TDZ 1.00 มก./ล.	1.81 b	6.79 c	0.5452 a	90.24 b	98.34 a	161.60 b

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์)

ระยะเวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
2	1.49 c[(1)]	6.65 c	0.2193 b	92.13	29.72 c	135.30 c
4	1.89 b	9.09 b	0.3056 b	96.18	42.13 bc	180.34 b
6	2.01 ab	8.36 bc	0.2783 b	96.01	55.72 ab	185.37 ab
8	2.39 a	11.17 a	0.4292 a	96.01	64.77 a	220.17 a

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลา 4 ระยะเวลา

4.2 การทดลองที่ 2 การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยใช้ความเข้มข้นช่วงแคบ (narrow range test) เปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบ

จากการทดลองที่ 1 ช่วงความเข้มข้นของ TDZ ที่ 0.10-0.50 มก./ล. เป็นช่วงความเข้มข้นที่สามารถชักนำให้เกิดยอดในระดับสูง จึงได้มีการศึกษาหาความเข้มข้นและระยะเวลาการเลี้ยงที่เหมาะสม โดยใช้ความเข้มข้นช่วงแคบตั้งแต่ 0.10-0.50 มก./ล. เปรียบเทียบกับอาหารสูตรเปรียบเทียบตามการทดลองของ Kunisaki (1980) คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 0.20 มก./ล.

จากตารางที่ 6 แสดงการวิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา พบว่า สูตรอาหารที่ต่างกันมีผลต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) และมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ส่วนระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรชักนำยอดมีผลต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) แต่ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และพบว่าปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีผลต่อจำนวนยอด/ชิ้นและความยาวยอดอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหาร 6 สูตร ดังตารางที่ 7 พบว่าในอาหารที่เติม TDZ ทุกระดับความเข้มข้น เนื้อเยื่อมีการเกิดจำนวนยอดรวมสูงกว่าอาหารสูตรเปรียบเทียบที่เติม BA 0.20 มก./ล. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาหารที่เติม TDZ ตั้งแต่ 0.2 มก./ล. ขึ้นไปให้จำนวนยอด/ชิ้น และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงกว่าอาหารสูตรเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ และอาหารที่เติม TDZ ตั้งแต่ 0.3 มก./ล. ขึ้นไปให้น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อสูงกว่าอาหารสูตรเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.05$) โดยอาหารสูตรที่ 5 ซึ่งเติม TDZ 0.40 มก./ล. ให้จำนวนยอด/ชิ้นสูงสุด 4.07 ยอด/ชิ้น นอกจากนี้ยังให้ จำนวนยอดรวมสูงสุด 362.33 ยอด ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ และสูงกว่าอาหารสูตรเปรียบเทียบ 2.9 เท่า น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อสูงสุด 0.4364 กรัม เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดอยู่ในระดับสูง 94.59% และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 77.13% ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตรเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ 2.6 เท่า แต่ยอดที่ได้มีขนาดสั้นกว่าอาหารสูตรที่ 2 ซึ่งเติม TDZ 0.10 มก./ล. 1.3 เท่า ในขณะที่อาหารสูตรเปรียบเทียบ (สูตรที่ 1) มี

การเกิดจำนวนยอด/ชิ้นต่ำสุด 1.38 ยอด/ชิ้น ซึ่งต่ำกว่าอาหารสูตร 3, 4, 5 และ 6 อย่างมีนัยสำคัญ น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อต่ำสุด 0.0666 กรัม ซึ่งต่ำกว่าอาหารสูตร 4, 5 และ 6 อย่างมีนัยสำคัญ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดต่ำสุด 91.70% ซึ่งต่ำกว่าอาหารสูตร 2, 3, และ 4 อย่างมีนัยสำคัญ เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 30.17% ซึ่งต่ำกว่าอาหารสูตร 3, 4, 5 และ 6 อย่างมีนัยสำคัญ และจำนวนยอดรวมต่ำกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (125.56 ยอด)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลาดังตารางที่ 8 พบว่า ระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เพิ่มขึ้นมีผลในการเพิ่มจำนวนยอด/ชิ้น น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม โดยที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ให้จำนวนยอด/ชิ้นสูงสุด 3.35 ยอด จำนวนยอดรวมสูงสุด 307.79 ยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อสูงสุด 0.4099 กรัม ซึ่งสูงกว่าระยะเวลาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ และให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุดคิดเป็น 81.77% แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับที่ระยะ 6 สัปดาห์ ส่วนการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่ำสุดคิดเป็น 35.08% และจำนวนยอดรวมต่ำสุด 165.54 ยอด ซึ่งต่ำกว่าระยะเวลาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังให้จำนวนยอด/ชิ้นต่ำที่สุด 1.77 ยอด และน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อต่ำสุด 0.1581 กรัม แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับที่ระยะ 4 สัปดาห์ แต่ระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมีแนวโน้มสูงสุด 98.89% เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ และมีแนวโน้มต่ำสุด 95.67% เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ ส่วนความยาวยอดพบว่าที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีแนวโน้มสูงสุด คือ มีค่าเฉลี่ย 12.22 มม. และที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ ความยาวยอดมีแนวโน้มต่ำสุดเฉลี่ย 9.31 มม. เนื้อเยื่อมีการเกิดยอดได้ดีในทุกระยะเวลาการเลี้ยง

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดังภาพที่ 2 พบว่า การชักนำให้เกิดยอด/ชิ้น มีการตอบสนองต่ออาหารและระยะเวลาการเลี้ยงได้ดีที่สุดในอาหารสูตรที่ 5 ที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ โดยที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีการชักนำให้เกิดจำนวนยอด/ชิ้นเฉลี่ยสูงสุด 5.92 ยอด รองลงมาได้แก่การเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ มีจำนวนยอด/ชิ้นเฉลี่ย 5.56 ยอด แต่เมื่อพิจารณาที่ค่าจำนวนยอดรวม พบว่า ที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ มีการเกิดจำนวนยอดรวมสูงสุด 547.90 ยอด ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีจำนวนยอดรวม 527.03 ยอด โดยค่าของจำนวนยอด/ชิ้นและจำนวนยอดรวมที่ 6 และ 8 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ นอกจากนี้ยอดที่เกิดจากการเลี้ยงที่ทั้ง 2 ระยะเวลายังมีความแตกต่างกัน โดยที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ ยอดที่ได้มีความสมบูรณ์กว่า โดยมีความยาวยอดสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ คือมีค่า 12.60 มม. ขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ยอดที่ได้มีขนาดสั้น มีค่าเฉลี่ยเพียง 7.97 มม. อย่างไรก็ตาม ทั้ง 2 ระยะเวลาให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 4

และ 5, ภาพภาคผนวกที่ 6) และเมื่อเปรียบเทียบที่แต่ละระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าในอาหารสูตรที่ 5 ให้จำนวนยอด/ชิ้นเฉลี่ยสูงสุดตั้งแต่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ขึ้นไป โดยให้จำนวนยอดสูงกว่าเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นอาหารสูตรเปรียบเทียบที่เติม BA 0.20 มก./ล. 3.5-5.6 เท่า (ตารางภาคผนวกที่ 5) แม้ว่าในอาหารสูตรที่ 1 จะเกิดจำนวนยอดต่ำแต่ยอดที่ได้ค่อนข้างสมบูรณ์และไม่พบอาการผิดปกติ นอกจากนี้ยังพบว่า ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด โดยเนื้อเยื่อมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงในทุกสูตรอาหาร

จากผลการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่เติม TDZ โดยใช้ความเข้มข้นช่วงแคบ 5 ระดับ คือ 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 และ 0.50 มก./ล. เปรียบเทียบกับอาหารสูตรที่เติม BA เข้มข้น 0.20 มก./ล. พบว่าสูตรอาหารให้ผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่างกัน โดยอาหารสูตรที่เติม TDZ ทุกระดับความเข้มข้น สามารถชักนำยอดได้จำนวนยอดรวมมากกว่าอาหารที่เติม BA อาหารสูตรที่มีความเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดคืออาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.40 มก./ล. ที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ ให้จำนวนยอดรวมและจำนวนยอด/ชิ้นสูงกว่าอาหารสูตรอื่นที่ระยะเวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ และเนื่องจากเนื้อเยื่อมีการเกิดจำนวนยอดรวมและจำนวนยอด/ชิ้นไม่แตกต่างจากการเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ แต่ใช้ระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อน้อยกว่า และยอดที่ได้มีความสมบูรณ์กว่า จึงมีความเหมาะสมในการใช้เพื่อขยายพันธุ์หน้าวัวต่อไป

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์)

Source of variation	df	Mean squares					
		จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
Media	5	14.12 **	22.51 **	0.36 **	0.52 *	84.77 **	115.50 **
Time	3	11.48 **	45.17 **	0.30 **	0.12 ns	62.93 **	94.50 **
Media × Time	15	2.08 **	32.74 **	0.03 ns	0.31 ns	5.14 ns	15.72 ns
Error	72	0.76	6.04	0.02	0.18	4.03	6.07
CV(%)		34.98	22.15	55.15	4.32	26.93	16.31

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร

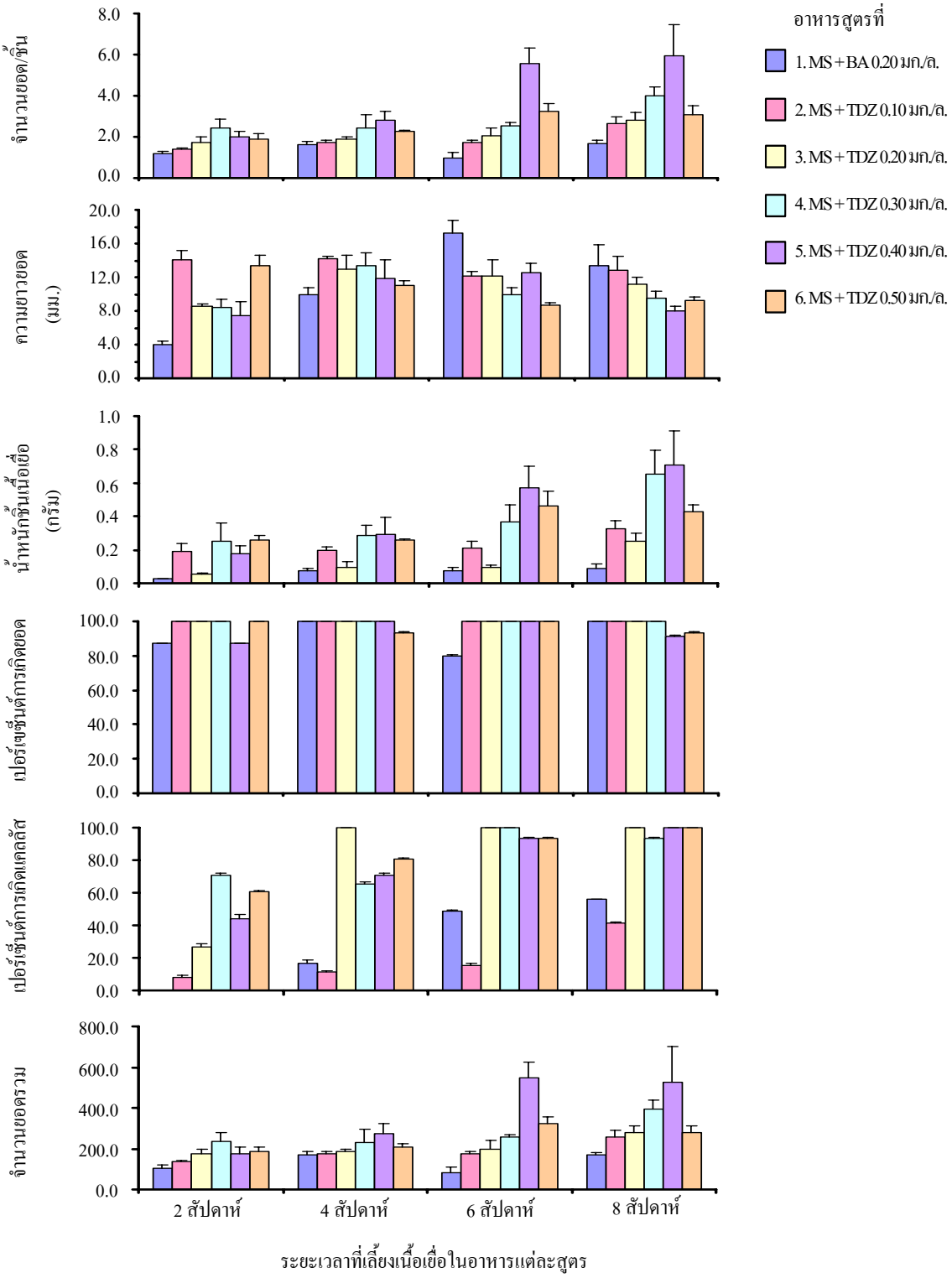
สูตรอาหารที่	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
1. MS + BA 0.20 มก./ล.	1.38 e[(1)]	11.15 b	0.0666 c	91.70 b	30.17 b	125.56 e
2. MS + TDZ 0.10 มก./ล.	1.88 de	13.31 a	0.2299 b	100.00 a	18.88 b	182.51 d
3. MS + TDZ 0.20 มก./ล.	2.13 cd	11.20 b	0.1240 c	100.00 a	81.66 a	207.53 cd
4. MS + TDZ 0.30 มก./ล.	2.86 b	10.33 b	0.3894 a	100.00 a	82.38 a	276.52 b
5. MS + TDZ 0.40 มก./ล.	4.07 a	9.97 b	0.4364 a	94.59 ab	77.13 a	362.33 a
6. MS + TDZ 0.50 มก./ล.	2.61 bc	10.59 b	0.3529 a	96.68 ab	83.80 a	245.77 bc

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์)

ระยะเวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
2	1.77 c[(1)]	9.31 b	0.1581 c	95.67	35.08 c	165.54 c
4	2.13 c	12.22 a	0.2018 c	98.89	57.43 b	204.98 b
6	2.70 b	12.13 a	0.2963 b	96.63	75.05 a	243.81 b
8	3.35 a	10.71 b	0.4099 a	97.45	81.77 a	307.79 a

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



ภาพที่ 2 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา

4.3 การทดลองที่ 3 การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ทรอปิคอลเปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบ

จากผลการทดลองการวิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา ดังในตารางที่ 9 พบว่า สูตรอาหารที่ต่างกันมีผลต่อน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) และมีผลต่อจำนวนยอดรวมอย่างมีนัยสำคัญ($P<0.05$) แต่ไม่มีผลต่อจำนวนยอด/ชิ้นและความยาวยอด ระยะเวลาในการเลี้ยงเนื้อเยื่อมีผลต่อน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่ออย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) และมีผลต่อความยาวยอดและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่ไม่มีผลต่อจำนวนยอด/ชิ้น เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และจำนวนยอดรวม ส่วนปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีผลต่อน้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) แต่ไม่มีผลต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและจำนวนยอดรวม

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสและจำนวนยอดรวม เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหาร 6 สูตร ดังตารางที่ 10 พบว่า จำนวนยอด/ชิ้นโดยเฉลี่ยในทุกระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งในอาหารสูตรที่ 4 ที่เติม TDZ 0.50 มก./ล. มีแนวโน้มให้จำนวนยอด/ชิ้นสูงสุดจำนวน 2.05 ยอด แต่ยอดที่ได้มีความยาวยอดเฉลี่ยต่ำสุด 7.22 มม. โดยต่ำกว่าอาหารสูตรที่ 3 ที่เติม TDZ 0.25 มก./ล. อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากอาหารสูตรอื่น นอกจากนี้เนื้อเยื่อยังมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุด 100% ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตรที่ 1 คืออาหารสูตรเปรียบเทียบที่เติม BA 0.20 มก./ล. อย่างมีนัยสำคัญ 1.9 เท่า และสูงกว่าอาหารสูตรที่ 2 ที่เติม TDZ 0.10 มก./ล. อย่างมีนัยสำคัญ 1.6 เท่า และมีจำนวนยอดรวมสูงสุด 182.10 ยอด ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตรที่ 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญ 2.1 และ 2.0 เท่า ตามลำดับ ส่วนในอาหารสูตรที่ 3 ที่เติม TDZ 0.25 มก./ล. มีจำนวนยอด/ชิ้นเป็นอันดับสอง คือ 1.89 ยอด มีจำนวนยอดรวมไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตรที่ 4 (171.69 ยอด) แต่เมื่อพิจารณาที่ความยาวยอดที่ได้ พบว่า มีความยาวยอดสูงสุด 9.57 มม. ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตรที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญ แม้จะไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตรอื่น น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่ออยู่ในระดับสูงคือ 0.4663 กรัม ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตร 1, 2, 4 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญ และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสในระดับสูง 96.81% ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตรเปรียบเทียบ 1.8 และ 2.9 เท่า ตามลำดับ นอกจากนี้ในอาหารสูตรที่ 6 ที่เติม TDZ ความเข้มข้นระดับสูง คือ 1.00 มก./ล. พบว่าเนื้อเยื่อมีน้ำหนักสูงสุด 0.4796 กรัม แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร 3 มีเปอร์เซ็นต์การเกิด

ยอด 84.55% ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 93.61% และจำนวนยอดรวม 140.87 ยอด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร 3, 4 และ 5 ยอดที่ได้มีลักษณะใบด่างและลักษณะใบผิดปกติในบางชิ้นเนื้อเยื่อ ส่วนอาหารสูตรที่ 2 ที่เติม TDZ 0.10 มก./ล. มีแนวโน้มให้จำนวนยอดต่ำสุด 1.36 ยอด/ชิ้น และให้ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมใกล้เคียงกับอาหารสูตรที่ 1

ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา ดังตารางที่ 11 พบว่า ระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่มีผลต่อจำนวนยอด/ชิ้น โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ 6 สัปดาห์ จำนวนยอด/ชิ้นมีแนวโน้มสูงสุดคือ 1.90 ยอด มีความยาวยอดสูงสุด 9.43 มม. ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงที่ 4 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญ น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ 0.3430 กรัม สูงกว่าการเลี้ยงที่ 4 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญ แต่ใกล้เคียงกับระยะเวลา 8 สัปดาห์ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมีแนวโน้มสูงสุด 82.85% และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสอยู่ในระดับสูง 82.85% ซึ่งสูงกว่าระยะเวลา 4 สัปดาห์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ 8 สัปดาห์ จำนวนยอดรวมมีแนวโน้มสูงสุด 141.97 ยอด และการเลี้ยงที่เวลานานขึ้นที่ 8 สัปดาห์ เนื้อเยื่อมีการเกิดจำนวนยอด/ชิ้นและจำนวนยอดรวมเป็นอันดับสองคือ 1.76 ยอด และ 134.87 ยอด ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับระยะเวลา 6 สัปดาห์ นอกจากนี้ ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสไม่แตกต่างทางสถิติกับระยะเวลา 6 สัปดาห์ ด้วย สำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ ให้น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ 0.1616 กรัม และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 69.13% ต่ำกว่าระยะเวลาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนจำนวนยอด/ชิ้น เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและจำนวนยอดรวมมีแนวโน้มต่ำสุด คือ จำนวนยอด/ชิ้น 1.61 ยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 80.82% และจำนวนยอดรวม 124.47 ยอด

ส่วนการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีผลต่อการเกิดจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลา 3 ระยะเวลา ดังภาพที่ 3 (ตารางภาคผนวกที่ 6 และ 7, ภาพภาคผนวกที่ 7) พบว่ามีการเกิดจำนวนยอด/ชิ้นใกล้เคียงกัน ค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตรที่ 4 (เติม TDZ 0.50 มก./ล.) ที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ มีแนวโน้มให้ จำนวนยอด/ชิ้นและจำนวนยอดรวมสูงสุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ คือ มีจำนวนยอด/ชิ้น 2.50 ยอด สูงกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตรเปรียบเทียบที่ระยะเวลาเดียวกัน 1.4 เท่า และมีจำนวนยอดรวม 239.75 ยอด สูงกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตรเปรียบเทียบที่ระยะเวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ 4.1 เท่า รองลงมาได้แก่การเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกันที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยมีจำนวนยอด/ชิ้น 2.25 ยอด สูงกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตรเปรียบเทียบที่ระยะเวลาเดียวกัน 1.3 เท่า แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ จำนวนยอดรวม 221.00 ยอด สูงกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตรเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ 3.4

เท่า และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูง 100% ที่ทั้ง 2 ระยะเวลา ซึ่งสูงกว่าสูตรเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญประมาณ 3 เท่า ส่วนอาหารสูตรที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 ให้จำนวนยอดต่อชิ้นและจำนวนยอดรวม ไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตรเปรียบเทียบที่ระยะเวลาเดียวกัน

และเมื่อพิจารณาที่แต่ละระยะเวลาการเลี้ยง (ตารางภาคผนวกที่ 7) ที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ พบว่า เนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ ทุกระดับความเข้มข้น มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส สูงกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตรเปรียบเทียบ โดยการเติม TDZ ตั้งแต่ 0.25 มก./ล. ขึ้นไป ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงกว่า 90% ที่ทุกระยะเวลาการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ในอาหารที่เติม TDZ 1.00 มก./ล. ซึ่งเป็นความเข้มข้นระดับสูง พบว่า ยอดที่ได้มีลักษณะยอดสั้นแคระแกร็นและใบด่างเช่นเดียวกับพันธุ์ลินเนต

จากผลการทดลอง พบว่า จำนวนยอด/ชิ้นที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่อาหารสูตรที่ 4 ที่เติม TDZ 0.50 มก./ล. เป็นอาหารสูตรที่ชักนำให้เกิดยอดดีที่สุด ทั้งที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ โดยให้จำนวนยอดรวมและจำนวนยอด/ชิ้นสูงกว่าอาหารสูตรเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะการเลี้ยงที่ 6 สัปดาห์มีการเกิดยอดดีกว่าและใช้เวลาสั้นกว่าที่ 8 สัปดาห์ โดยมีแนวโน้มในการชักนำให้เกิดจำนวนยอด/ชิ้นเฉลี่ยสูงสุด 2.50 ยอด ซึ่งมากกว่าในอาหารสูตรเปรียบเทียบที่เติม BA 0.20 มก./ล. ที่ระยะเวลาเดียวกัน 1.4 เท่า และมีจำนวนยอดรวมสูงสุด 239.75 ยอด สูงกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตรเปรียบเทียบที่ระยะเวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ 4.1 เท่า จึงเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา (4, 6 และ 8 สัปดาห์)

Source of variation	df	Mean squares					
		จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
Media	3	0.99 ns	11.41 ns	0.47 **	25.63 **	60.21 **	57.45 *
Time	4	0.78 ns	37.49 *	0.46 **	0.11 ns	20.04 *	5.22 ns
Media × Time	12	0.61 ns	11.37 ns	0.49 **	8.75 ns	15.95 **	24.26 ns
Error	90	0.97	8.93	0.04	5.26	4.23	21.51
CV(%)		55.99	35.52	65.83	25.61	23.76	40.03

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัว พันธุ์ทรอปิคอล เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร

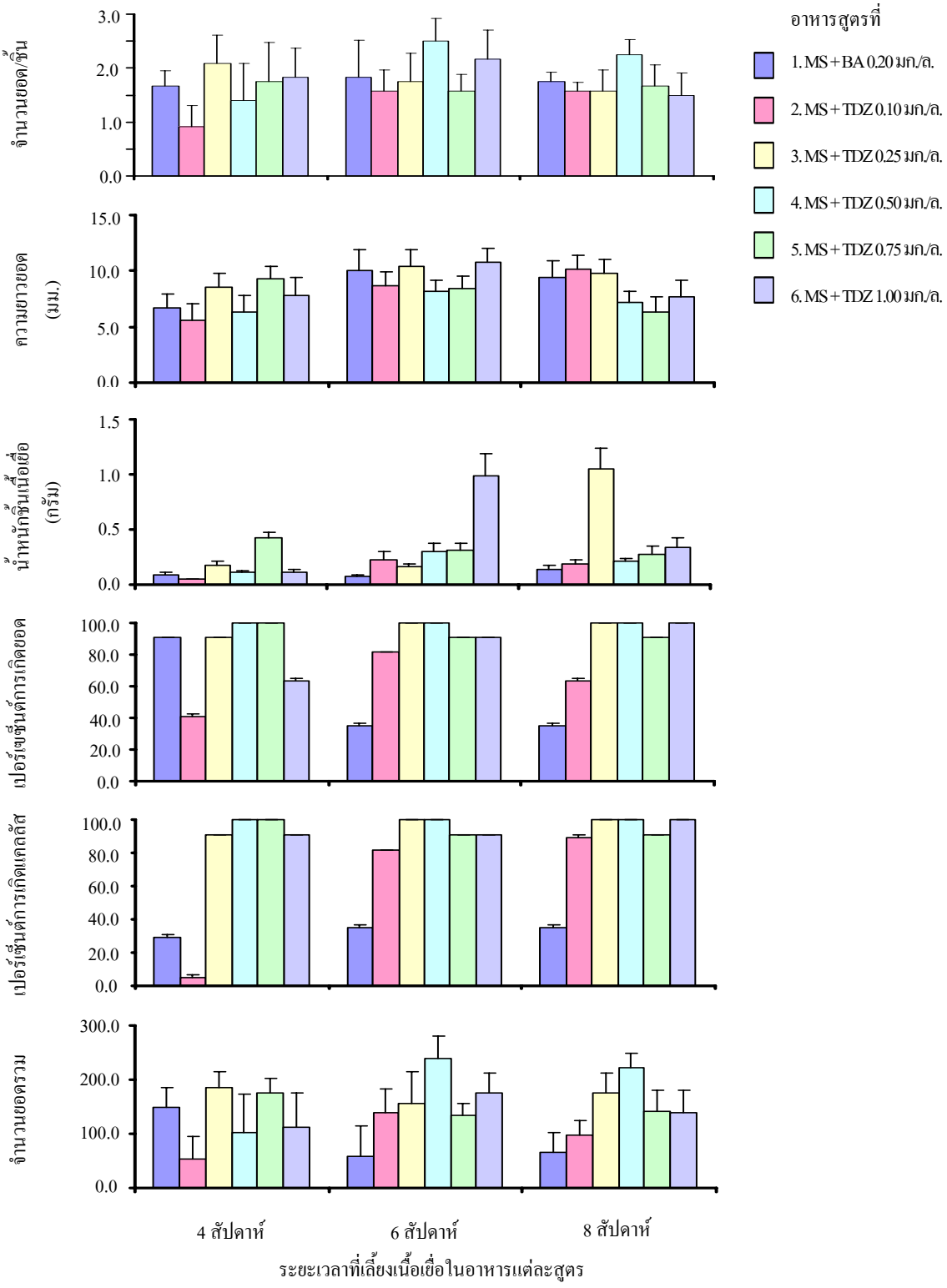
สูตรอาหารที่	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
1. MS + BA 0.20 มก./ล.	1.75	8.71 ab[(1)]	0.1041 c	53.39 c	33.02 b	86.36 b
2. MS + TDZ 0.10 มก./ล.	1.36	8.16 ab	0.1494 c	61.83 bc	58.27 b	89.81 b
3. MS + TDZ 0.25 มก./ล.	1.89	9.57 a	0.4663 a	96.81 a	96.81 a	171.69 a
4. MS + TDZ 0.50 มก./ล.	2.05	7.22 b	0.2074 c	100.00 a	100.00 a	182.10 a
5. MS + TDZ 0.75 มก./ล.	1.67	8.04 ab	0.3375 b	93.61 a	93.61 a	147.17 ab
6. MS + TDZ 1.00 มก./ล.	1.83	8.77 ab	0.4796 a	84.55 ab	93.61 a	140.87 ab

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา (4, 6 และ 8 สัปดาห์)

ระยะเวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
4	1.61	7.39 b[(1)]	0.1616 b	80.82	69.13 b	124.47
6	1.90	9.43 a	0.3430 a	82.85	82.85 a	141.97
8	1.76	8.42 ab	0.3675 a	81.42	85.68 a	134.87

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



ภาพที่ 3 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวมของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล เมื่อเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา

4.4 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองที่ 1 การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยใช้ความเข้มข้นช่วงกว้าง (broad range test) ได้ทำการแบ่งช่วงความเข้มข้นของ TDZ ออกเป็น 3 ช่วงกว้าง ๆ คือ ความเข้มข้นระดับต่ำ (0.01 และ 0.05 มก./ล.) ความเข้มข้นระดับกลาง (0.10 และ 0.50 มก./ล.) และความเข้มข้นระดับสูง (1.00 มก./ล.) เห็นได้ว่าการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มี TDZ ระดับความเข้มข้นต่ำ และระดับกลาง สามารถชักนำยอดได้โดยตรงจากเนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติด 1 ตา โดยที่ช่วงความเข้มข้นระดับกลางเป็นช่วงความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด โดยเนื้อเยื่อมีการเพิ่มจำนวนยอดเมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้น ให้ยอดที่มีความสมบูรณ์และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูง สอดคล้องกับรายงานของ Murthy et al. (1998) ที่รายงานว่า TDZ ระดับความเข้มข้นต่ำมีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดโดยตรง แต่ต้องระมัดระวังในการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ระยะเวลานาน เนื่องจากมีผลในการชักนำให้เกิดแคลลัส ส่วนการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มี TDZ ความเข้มข้นระดับสูงเนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัสสูง โดยมีการเกิดแคลลัสในทุกระยะเวลาการเลี้ยง เนื้อเยื่อมีการสร้างยอดจำนวนน้อย สอดคล้องกับการรายงานของ Huetteman and Preece (1993) ซึ่งรายงานว่าเนื้อเยื่อมีการสร้างแคลลัสเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ ความเข้มข้นสูง และการสร้างแคลลัสมีผลในการยับยั้งการสร้างยอด ยอดที่ได้สั้นและแกร็น เช่นเดียวกับการรายงานของ Fasolo et al. (1989) และ Meyer and van Staden (1988) นอกจากนี้ยังเกิดลักษณะผิดปกติใบผิดรูปร่าง เช่นเดียวกับรายงานของ van Niewkerk et al. (1986) แต่เมื่อนำยอดที่มีลักษณะผิดปกติไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าสามารถยืดความยาวของยอดได้ ซึ่งตรงกับการรายงานของ Huetteman and Preece (1993) ที่ทำการยืดยอดที่มีลักษณะสั้นและแกร็นของไม้เนื้อแข็งจากการชักนำยอดด้วย TDZ โดยการย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ระดับต่ำหรือปราศจากฮอร์โมน พบว่ายอดมีความปกติดี

จากการทดลองที่ 2 การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยใช้ความเข้มข้นช่วงแคบ (narrow range test) เปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบ โดยความเข้มข้นของ TDZ มี 5 ระดับคือ 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 และ 0.50 มก./ล. เปรียบเทียบกับอาหารสูตรเปรียบเทียบ คืออาหารที่เติม BA เข้มข้น 0.20 มก./ล. พบว่า ในอาหารสูตรที่เติม TDZ ทุกระดับความเข้มข้นสามารถชักนำยอดได้มากกว่าในอาหารที่เติม BA ซึ่งสนับสนุนรายงานของ Chengalrayan and Gallo-Meagher (2001) ที่พบว่า TDZ มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดดีกว่าสารในกลุ่มไซโตไคนินชนิดอื่น ได้แก่ BA kinetin 2iP และ zeatin และสอดคล้องกับรายงานของ Martin et al. (2003) ที่รายงานว่าชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต มีผลต่อการชักนำยอดของหน้าวัว แต่เนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ตั้งแต่ระดับ 0.20-0.50 มก./ล. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสที่สูงกว่าใน

อาหารสูตรที่เติม BA 0.20 มก./ล. สอดคล้องกับรายงานของ Joseph et al. (2003) ที่รายงานว่าชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการเกิดแคลลัสของหน้าวัว อย่างไรก็ตามยอดที่เกิดขึ้นไม่ได้พัฒนามาจากแคลลัส จึงไม่น่าจะก่อให้เกิดปัญหาการกลายพันธุ์จาก somaclonal variation

ในการทดลองที่ 3 การชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล ได้ทำการเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล ในอาหารที่มี TDZ 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 มก./ล. เปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบที่เติม BA 0.20 มก./ล. พบว่า สูตรอาหารและระยะเวลาในการเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล ไม่มีผลต่อการเกิดจำนวนยอด ซึ่งแตกต่างกับการเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ลินเนต (ผลการทดลองที่ 1 และ 2) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Martin et al. (2003) ที่ว่าความแตกต่างของพันธุ์ มีผลต่อการชักนำยอดของหน้าวัว

จากผลการทดลองที่ 2 และ 3 เห็นได้ว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัว ในอาหารที่เติม TDZ สามารถชักนำยอดได้ดีและมีประสิทธิภาพมากกว่าในอาหารที่เติม BA สอดคล้องกับรายงานการชักนำยอดในพืชชนิดอื่น ๆ เช่น กุหลาบ (Barna and Wakhlu, 1995) กล้วยไม้ (Nayak et al., 1997) และ ละหุ่ง (Sujatha and Reddy, 1998) และความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวทั้ง 2 พันธุ์มีความใกล้เคียงกัน คือในพันธุ์ลินเนต เกิดยอดได้ดีเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม TDZ 0.4 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ส่วนในพันธุ์ทรอปพิคอลเกิดยอดได้ดีที่ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ อยางไรก็ตามการใช้ TDZ ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์อื่นควรมีการตรวจสอบความเข้มข้นที่เหมาะสม เพราะอาจมีความแตกต่างจาก 2 พันธุ์นี้ ที่ความเข้มข้นของ TDZ และระยะเวลาที่เหมาะสมในพันธุ์ลินเนตให้จำนวนยอด/ชิ้น 5.656 ยอด และจำนวนยอดรวม 547.90 ยอด มากกว่าพันธุ์ทรอปพิคอลที่ให้จำนวนยอด/ชิ้น 2.5 ยอด และจำนวนยอดรวม 239.75 ยอด ประมาณ 2.2 เท่า แสดงถึงความแตกต่างของพันธุ์ที่มีต่อการตอบสนองต่อ TDZ

นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อเยื่อส่วนข้อสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงในอาหารที่เติม TDZ 1 มก./ล. ทั้งในพันธุ์ลินเนตและทรอปพิคอล โดยในพันธุ์ลินเนตเกิดแคลลัส 98.34% และในพันธุ์ทรอปพิคอลเกิดแคลลัส 93.61% สูงกว่าการใช้ TDZ 1.00 มก./ล. ร่วมกับ BA 1.00 มก./ล. ในรายงานของเยาวพรรณ สนธิกุล และสมปอง เตชะโต (2548) ซึ่งพบว่าเนื้อเยื่อส่วนข้อสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

1. ปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากเนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต ได้แก่ ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต และระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรชักนำ ซึ่งมีผลต่อการชักนำให้เกิดจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม

2. ในการทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยใช้ความเข้มข้นช่วงกว้าง (broad range test) พบว่า การเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.01-0.05 มก./ล. เนื้อเยื่อมีการเกิดยอดโดยตรงโดยไม่ผ่านแคลลัส แต่มีจำนวนยอด/ชิ้นต่ำ ส่วนการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่เติม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นสูง 1.00 มก./ล. เนื้อเยื่อมีการเกิดจำนวนยอด/ชิ้นต่ำ แต่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูง ยอดที่เกิดมีลักษณะสั้น แคระแกร็น ใบมีรูปร่างผิดปกติ ยอดที่เกิดบางยอดมีลักษณะใบด่าง แต่ยอดที่ผิดปกติจะมีลักษณะปกติเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน 8 สัปดาห์ขึ้นไป ส่วนในอาหารที่เติม TDZ เข้มข้น 0.10 และ 0.50 มก./ล. เนื้อเยื่อมีการตอบสนองต่ออาหารได้ดีที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต ที่ความเข้มข้น 0.10 มก./ล. ยอดหน้าวัวมีความยาวสูงสุด และที่ความเข้มข้น 0.50 มก./ล. มีจำนวนยอด/ชิ้น สูงสุด

3. การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนต โดยใช้ความเข้มข้นช่วงแคบ (narrow range test) เปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบ คือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.20 มก./ล. พบว่า ในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ระดับความเข้มข้น 0.10-0.50 มก./ล. มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดดีกว่าอาหารสูตรที่เติม BA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยให้จำนวนยอดรวมสูงกว่าในทุกระดับความเข้มข้น และสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.40 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ จากนั้นย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงในอาหารสูตรปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เนื่องจากสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอด/ชิ้นสูง 5.56 ยอดสูงกว่าสูตรเปรียบเทียบ 5.6 เท่า และเกิดจำนวนยอดรวมสูงสุด 547.90 ยอด สูงกว่าสูตรเปรียบเทียบ 6.8 เท่า

4. ระยะเวลาในการเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ลินเนตมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ คือ เมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ จำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม เพิ่มขึ้น

5. การทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล เปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบ พบว่า การเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.50 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน 8 สัปดาห์ มีแนวโน้มการเกิดจำนวนยอด/ชิ้นมีสูงสุด 2.50 ยอด ซึ่งสูงกว่าสูตรเปรียบเทียบ 1.4 เท่า และจำนวนยอดรวมมีแนวโน้มสูงสุด 239.75 ยอด สูงกว่าสูตรเปรียบเทียบ 4.1 เท่า

ข้อเสนอแนะ

การทดลองนี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ที่ทำการทดลองเฉพาะในส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ไม่ได้มีการนำต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในสภาพปกติ เพื่อให้การทดลองมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้นจึงควรมีการนำต้นหน้าวัวพันธุ์ลินเนตและพันธุ์ทรอปพิคอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากทั้ง 3 การทดลองมาทำการศึกษาเพิ่มเติมในหัวข้อดังต่อไปนี้

1. การเจริญเติบโต
2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
3. ลักษณะการกลายพันธุ์

เพื่อศึกษาถึงผลของสาร TDZ ที่มีต่อการเจริญเติบโต และการกลายพันธุ์ของต้นหน้าวัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

จรูญ อิ่มเอิบสิน. (2523). การเปรียบเทียบอาหารสูตรต่าง ๆ ในการเลี้ยงแคลลัสหน้าวัวพันธุ์ขาวนายหวาน. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี, ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จารุวรรณ โตวิวัฒน์. (2523). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัว. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชะอ้อน หิรัญรัตน์. (2531). การขยายพันธุ์หน้าวัวโดยใช้เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทรงพล สมศรี. (2549). การปรับปรุงพันธุ์พืชสวนอดีต ปัจจุบัน อนาคต (น.ส.พ. กสิกร) [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.doa.go.th/th/ShowArticles.aspx?id=1759/บทความทั่วไป

ปิฏฐะ บุนนาค. (2529). ไม้ดอกไม้ประดับ (ฉบับปรับปรุงแก้ไข). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บรรณกิจ. 383 หน้า.

ไพศาล โตสวัสดิ์. (2510). การสำรวจการปลูกหน้าวัวในจังหวัดพระนคร ธนบุรีและบริเวณใกล้เคียง. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. (2540). สถิติเพื่อการวิจัยและวางแผนการทดลอง. พิมพ์ครั้งที่ 8. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

มัณฑนา นวลเจริญ. (2541). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากใบอ่อนของหน้าวัว. รายงานการวิจัย, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏภูเก็ต.

เยาวพรรณ สนธิกุล และสมปอง เตชะโต. (2548). การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสของหน้าวัว. ในรายงานการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ศูนย์รังสิต.

วันดี ใจนิ่ม. (2543). เทคโนโลยีการผลิตหน้าวัว [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.thaigreenagro.com/main-flower2/anthurium/anthurium1.htm/บทความทั่วไป

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. (2541). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 219 หน้า.

วิชชุดา รุ่งเรือง. (2535). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ดวงสมรในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาโท, ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตลำปาง. (2532). หน้าวัวไม้ตัดดอกอนาคตไกล [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.doa.go.th/public/plibai/plibai46/april%2046/anthurium.html /บทความทั่วไป

สรรลาภ สงวนดีกุล. (2526). การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัว. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. (2534). เทคโนโลยีการผลิตไม้ตัดดอกสกุลหน้าวัว. ในเทคนิคการผลิตไม้ดอก ไม้ประดับ. หน้า 59-63. สมาคมไม้ประดับแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. (2541). การปลูกไม้ดอกสกุลหน้าวัว [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.doae.go. th/library/html/flowall.html/บทความทั่วไป

สำนักบริการคอมพิวเตอร์. (2547). ดอกหน้าวัว [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.ku.ac.th/e-magazine/ september47/agri/flower.html/บทความทั่วไป

อรพิน เสละคร และกิตติภัฏ เฟื่องเพียร. (2543). ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อและการเกิดหน่อของหน้าวัวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อารีย์ วรัญญวัฒก์. (2541). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ. 133 หน้า.

โอฬาร พิทักษ์ และเศรษฐพงศ์ เลขะวัฒนะ. (2544). เอกสารเผยแพร่: หน้าวัวตัดดอก. กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร กรุงเทพฯ. 18 หน้า.

Arndt, F. R., Rusch, R., Stillfried, H. V., Hanisch, B., and Martin, W. C. (1976). A new defoliant. **Plant Physiol.** 57: 99-99. (Abstr.)

Barna, K. S., and Wakhlu, A. K. (1995). Effects of thidiazuron on micropropagation of rose. **In Vitro Cell Dev. Biol.** 31: 44-46.

Bell, R. L., Scorza, R., and Srinivasan, C. (1998). Development of Agrobacterium-mediated transformation system for 'Beurre Bosc' pear. **Hort. Sci.** 33: 461.

Bomminei, V. R., Mathews, H., Samuel, S. B., Kramer, M., and Wagner, D. R. (2001). A new method for rapid in vitro propagation of apple and pear. **Hort. Sci.** 36: 1102-1106.

Cen, Y. Q., Jiang, R. M., Deng, Z. L., and Ni, D. X. (1993). In Vitro propagation of *Anthurium andreanum*. **Acta Hort. Sinica.** 20: 187-192.

Chengalrayan, K., and Gallo-Meagher, M. (2001). Effect of various growth regulators on shoot regeneration of sugarcane. **In Vitro Cell Dev. Biol. Plant** 37: 434-439.

Fasolo, F., Zimmerman, R. H., and Fordham, I. (1989). Adventitious shoot formation on excised leaves of *in vitro* grown shoots of apple cultivars. **Plant Cell Tiss. Org.** 19: 75-87.

Finnie, J. F., and van Staden, J. (1986). In Vitro culture of *Anthurium andreanum.* **South African J. of Botany.** 52: 343-346.

Gallo-Meagher, M., English, R. G., and Abouzid, A. (2000). Thidiazuron stimulates shoot regeneration of sugarcane embryogenic callus. **In Vitro Cell Dev. Biol. Plant** 36: 37-40.

Geier, T. (1982). Morphogenesis and plant regeneration from spadix fragments of *Anthurium scherzerianum* cultivated in vitro. **In A. Fujiwra [ed.], Proc. of the Fifth International Congr. Plant Tiss. & Cell Cult.** p.p. 137-138.

Gupta, D., and Bhargava, S. (2001). Thidiazuron induced regeneration in *Cuminum cyminum* L. **J Plant Biochem. Biotechnol.** 10: 61-62.

Hamidah, M., Karim, A. G. A., and Debergh, P. (1997). Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium scherzerianum*. **Plant Cell Tiss. Org.** 48: 189-193.

Hassaballa, I. A., Moughieth, M. G., Hagagy, N. A., and Zayed, N. S. (1996). Micropropagation of two apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars. **Hort. Sci.** 31: 587.

Higaki, T., Lichty, J. S., and Moniz, D. (1994). Anthurium culture in Hawaii. **Univ. Hawaii. Res. Ext.** Series 152, 22 p.

Hosokawa, K. Oikawa, Y., and Yamamura, S. (1998). Mass propagation of ornamental gentian in liquid medium. **Plant Cell Rep.** 17: 747-751.

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

Joseph, D., Martin, K. P., Madassery, J., and Philip, V. J. (2003). In vitro propagation of three commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. **Indian J. Exp. Biol.** 41: 154-159.

Kanyand, M., Dessai, A. P., and Prakash, C. S. (1994). Thidiazuron promotes high frequency regeneration of peanut (*Arachis hypogaea*) plants in vitro. **Plant Cell Rep.** 14: 1-5.

Kapaun, J. A., and Cheng, Z.-M. (1997). Plant regeneration from leaf tissues of Siberian elm. **Hort. Sci.** 32: 301-303.

Keller, E. R. J., Brehmer, M., and Hofer, E. (1986). Micropropagation of *Anthurium andraeanum* Lind. and the use of a novel stabilizing substrate. **Arch. Gartenbau, Berlin** 34: 149-156.

Kao, K. N., and Michayluk, M. R. (1975). Nutritional requirements for growth of *Vicia hajastana* cells and protoplasts at a very low density in liquid media. **Planta** 126: 105-110.

Kuehnle, A. R., and Sugii, N. (1991). Callus induction and plantlet regeneration in tissue culture of Hawaiian anthuriums. **Hort. Sci.** 26: 919-921.

Kuehnle, A. R., Chen, F., and Sugii, N. (1992). Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium andraeanum* hybrids. **Plant Cell Rep.** 11: 438-442.

Kunisaki, J. T. (1980). In vitro propagation of *Anthurium andraeanum* Lind. **Hort. Sci.** 15: 508-509.

Leffering, L., Hoogstrate, J., and Braster, M. (1976). Tissue culture of anthurium: research into improved. **Vakblad voor de Bloemisterij** 31: 17.

Lightbourn, G. T., and Prasad, P. V. D. (1990). In vitro techniques for rapid multiplication of four varieties of *Anthurium andraeanum* in Jamaica. **Proc. of the Inter American Society for Tropical Hort.**

Lin, C.-S., and Chang, W.-C. (1998). Micropropagation of *Bambusa edulis* through nodal explants of field-grown culms and flowering of regenerated plantlets. **Plant Cell Rep.** 17: 617-620.

Lu, C.-Y. (1993). The use of thidiazuron in tissue culture. **In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant** 29: 92-96.

Madison, M. (1980). Aroid Profile No. 6: *Anthurium andraeanum*. **Aroideana** 3: 58-60.

Martin, K. P., Joseph, D., Madassery, J., and Philip, V. J. (2003). Direct shoot regeneration from lamina explants of two commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. **In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant** 39: 500-504.

Meyer, M. M., and Kerns, H. R. (1986). Thidiazuron and *in vitro* shoot proliferation of *Celtis occidentalis* L. **In Proc. VI Intl. Congr. Plant Tiss. & Cell Cult. Minneapolis**. p.p. 149. (Abstr.)

Meyer, H. J., and van Staden, J. (1988). In vitro multiplication of *Ixia flexuosa*. **Hotr. Sci.** 23: 1070-1071.

Mok, M. C., Mok, D. W. S., Armstrong, D. J. , Shudo, K., Isogai, Y., and Okamoto, T. (1982). Cytokinin activity of *N*-phenyl-*N'*-1,2,3-thidiazol-5-ylurea (TDZ). **Phytochemistry** 21: 1509-1511.

Murashige, T. (1974). Propagation through tissue culture. **Hort. Sci.** 9: 170.

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

Murthy, B. N. S., Murch, S. J., and Saxena, P. K. (1998). Review thidiazuron: a potent regulator of in vitro plant morphogenesis. **In Vitro Cell Dev. Biol. Plant** 34: 267-275.

Nayak, N. R., Patnaik, S., and Rath, S. P. (1997). Direct shoot regeneration from foliar explants of an epiphytic orchid, *Acampe praemorsa* (Roxb.) Blatter and McCann. **Plant Cell Rep.** 16: 583-586.

Nitayadatpat, R., and Te-chato, S. (2005). Enhanced efficiency for propagation of anthurium by tissue culture technique. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 27: 1003-1008.

Nitsch, J. P. (1969). Experimental androgenesis in Nicotiana. **Phytomorphology** 19: 389-404.

Nitsch, J. P., and Nitsch, C. (1969). Haploid plants from pollen grains. **Sci.** 163: 85-87.

Pierik, R. L. M. (1975). Callus multiplication of *Anthurium andreanum* Lind in liquid media. **Neth. J. of Agri. Sci.** 23: 299-302.

Pierik, R. L. M. (1976). *Anthurium andreanum* plantlets produced from callus tissues cultivated in vitro. **Physiol. Plant.** 37: 80-82.

Pierik, R. L. M., and Steegman, H. H. M. (1975). Vegetative propagation of *Anthurium scherzerianum* Schott. through callus culture. **Sci. Hort.** 4: 291-292.

Pierik, R. L. M., Steegmans, H. H. M., and van der Meys, J. A. J. (1974). Plantlet formation in callus tissues of *Anthurium andraeanum* Lind. **Sci. Hort.** 2: 193-198.

Pierik, R. L. M., van Leeuwen, P., and Rigter, G. C. C. M. (1979). Regeneration of *Anthurium andraeanum* Lind. In vitro. **Neth. J. Agri. Sci.** 27: 221-226.

Puchooa, D. (2005). In vitro Mutation breeding of Anthurium by gamma radiation. **Int. J. Agri. Biol.** 7: 11-20.

Puchooa, D., and Sookun, D. (2003). Induced mutation and in vitro culture of *Anthurium andreanum.* **Food & Agri. Research Council.** 17-27

Qu, L., Polashock, J., and Vorsa, N. (2000). A highly efficient in vitro cranberry regeneration system using leaf explants. **Hort. Sci.** 35: 948-952.

RAP. (1996). World market for Anthurium. **Asia Regional Agribusiness Project (RAP) Market Information Bulletin**, No.11 [On-Line serial]. Available: http:www.milcon.com/rap/mps/ anthur.htm.6p.

Shan, X., Li, D., and Qu, R. (2000). Thidiazuron promotes in vitro regeneration of wheat and barley. **In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant** 36: 207-210.

Shibli, R. A., and Smith, M. A. L. (1996). Direct shoot regeneration from *Vaccinium pahalae* (ohelo) and *V. myrtillus* (bilberry) leaf explants. **Hort. Sci.** 31: 1225-1228.

Soczek, U., and Hempel, M. (1989). Effect of cytokinin on growth and development of *Anthurium* × c*utrorum* Briddsey shoot explants in vitro. **Acta Hort.** 251: 249-254.

Sreenivasu, K., Malik, S. K., and Kumar, P. A. (1998). Plant regeneration via somatic embryogenesis in pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millsp). **Plant Cell Rep.** 17: 294-297.

Sujatha, M., and Reddy, T. P. (1998). Differential cytokinin effects on the stimulation of *in vitro* shoot proliferation from meristematic explants of castor (*Ricinus communis* L.). **Plant Cell Rep.** 17: 561-566.

Te-chato, S., Naksombut, S., and Boonsiri, J. (2002). Effect of variety and explant on callus formation and micropropagation of anthurium. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 24: 569-578.

Te-chato, S., Susanon, T., and Sontikun, Y. (2006). Cultivar, explant type and culture medium influencing embryogenesis and organogenesis in *Anthurium spp*. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 28: 717-722.

Tegeder, M., Gebhardt, D., Schieder, O., and Pickardt, T. (1995). Thidiazuron-induced plant regeneration from protoplasts of *Vicia faba* cv. Mythos. **Plant Cell Rep.** 15: 164-169.

van Nieukerk, J. P., Zimmerman, R. H, and Fordham, I. (1986). Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. **Hort. Sci.** 21: 56-518.

Vargas, T. E., Mejías, A., Oropeza, M., and de García, E. (2004). Plant regeneration of *Anthurium andraeanum* cv Rubrun. **Electron. J. Biotech.** 7: 285-289.

Wang, J., Seliskar, D. M., and Gallagher, J. L. (2003). Tissue culture and plant regeneration of *Spartina alterniflora*: implications for wetland restoration. **Wetlands** 23: 386-393.

Yang, G., and Kamp-Glass, M. (1998). Influences of growth regulators and cultivars on callus and shoot production of alfafa. **Hort. Sci.** 33:461.

Ziv, M. (1991). Quality of micropropagated plants-vitrification. **In Vitro Cell Dev. Biol.** 27:64-69.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 สูตรอาหารของ Murashige and Skoog (1962)

ชื่อสารเคมี	สูตรสารเคมี	ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ (มก./ล.)
ธาตุอาหารหลัก		
แอมโมเนียมไนเตรท	NH_4NO_3	1,650.000
โปตัสเซียมไนเตรท	KNO_3	1,900.000
แคลเซียมคลอไรด์	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440.000
แมกนีเซียมซัลเฟต	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370.000
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	KH_2PO_4	170.000
ธาตุอาหารรอง		
บอริค แอซิด	H_3BO_3	6.200
มังกานีสซัลเฟต	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.300
ซิงค์ซัลเฟต	$ZnSO_4$	8.600
โปตัสเซียมไอโอไดด์	KI	0.830
โซเดียมโมลิบเดต	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.250
โคบอลท์คลอไรด์	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025
คอปเปอร์ซัลเฟต	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025
ไดโซเดียมเอทธีลีน ไดอามีน เตตราอาซิติค แอซิด	Na_2EDTA	37.300
เฟอรัสซัลเฟต	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.800
วิตามิน		
ไกลซีน	Glycine	2.000
มายโออินโนซิทอล	Myo-inositol	100.000
ไพริดอกซีน ไฮโดรคลอไรด์	Pyridoxine ·HCl	0.500
นิโคตินิค แอซิด	Nicotinic acid	0.500
ไทอามีน ไฮโดรเจนคลอไรด์	Thiamine ·HCl	0.100

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) สูตรอาหารของ Murashige and Skoog (1962)

ชื่อสารเคมี	สูตรสารเคมี	ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ (มก./ล.)
สารควบคุมการเจริญเติบโต		
ออกซิน		0.10-5.0
ไซโตไคนิน		0.01-2.0
น้ำตาลซูโครส		30.00 กรัม
ค่าความเป็นกรด ด่าง (pH)		5.8

ตารางภาคผนวกที่ 2 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามสูตรอาหาร)

สูตรอาหารที่	ระยะ เวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
1	2	1.44 b[(1)]	2.45 g	0.0478 f	100.00 a	2.72 e	143.02 cde
(TDZ 0.01 มก./ล.)	4	1.94 b	6.77 efg	0.1177 ef	100.00 a	11.03 de	192.10 cd
	6	1.44 b	6.77 efg	0.0502 f	93.35 ab	13.86 de	133.48 cde
	8	1.75 b	8.78 cdef	0.2303 def	93.35 ab	34.37 bcd	162.83 cde
2	2	1.38 b	4.97 fg	0.0973 ef	73.93 c	11.03 de	100.00 e
(TDZ 0.05 มก./ล.)	4	2.00 b	10.64 bcde	0.2821 cde	100.00 a	36.47 abcd	198.11 cd
	6	1.56 b	7.38 efg	0.1136 ef	100.00 a	48.01 abcd	151.53 cde
	8	1.94 b	16.26 a	0.3046 cde	100.00 a	53.13 abcd	193.27 cd
3	2	1.31 b	13.75 ab	0.1933 ef	93.35 ab	11.03 de	122.89 cde
(TDZ 0.10 มก./ล.)	4	2.00 b	12.89 abc	0.2637 def	100.00 a	14.79 de	199.67 cd
	6	1.63 b	12.50 abcd	0.2804 cde	100.00 a	36.95 abcd	161.30 cde
	8	2.00 b	12.71 abc	0.2969 cde	100.00 a	42.99 abcd	199.67 cd

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 2 (ต่อ)ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามสูตรอาหาร)

สูตรอาหารที่	ระยะ เวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
4	2	1.88 b[(1)]	7.58 def	0.2982 cde	100.00 a	30.47 cde	184.73 cd
(TDZ 0.50 มก./ล.)	4	2.06 b	9.55 b-f	0.3173 cde	100.00 a	48.36 abcd	204.56 cd
	6	3.38 a	8.17 cdef	0.4438 bcd	93.35 ab	79.78 abc	311.55 ab
	8	3.94 a	8.00 cdef	0.6442 ab	93.35 ab	93.36 ab	349.94 a
5	2	1.44 b	4.50 fg	0.4601 abcd	93.35 ab	93.36 ab	132.74 cde
(TDZ 1.00 มก./ล.)	4	1.44 b	5.58 efg	0.5474 ab	80.91 bc	100.00 a	116.14 de
	6	2.06 b	7.00 efg	0.5035 abc	93.35 ab	100.00 a	192.10 cd
	8	2.31 b	10.08 bcde	0.6698 a	93.35 ab	100.00 a	215.83 bc

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 3 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามระยะเวลา)

ระยะ เวลา (สัปดาห์)	สูตรอาหารที่	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
2	1 (TDZ 0.01 มก./ล.)	1.44 b[(1)]	2.45 g	0.0478 f	100.00 a	2.72 e	143.02 cde
	2 (TDZ 0.05 มก./ล.)	1.38 b	4.97 fg	0.0973 ef	73.93 c	11.03 de	100.00 e
	3 (TDZ 0.10 มก./ล.)	1.31 b	13.75 ab	0.1933 ef	93.35 ab	11.03 de	122.89 cde
	4 (TDZ 0.50 มก./ล.)	1.88 b	7.58 def	0.2982 cde	100.00 a	30.47 cde	184.73 cd
	5 (TDZ 1.00 มก./ล.)	1.44 b	4.50 fg	0.4601 abcd	93.35 ab	93.36 ab	132.74 cde
4	1 (TDZ 0.01 มก./ล.)	1.94 b	6.77 efg	0.1177 ef	100.00 a	11.03 de	192.10 cd
	2 (TDZ 0.05 มก./ล.)	2.00 b	10.64 bcde	0.2821 cde	100.00 a	36.47 abcd	198.11 cd
	3 (TDZ 0.10 มก./ล.)	2.00 b	12.89 abc	0.2637 def	100.00 a	14.79 de	199.67 cd
	4 (TDZ 0.50 มก./ล.)	2.06 b	9.55 b-f	0.3173 cde	100.00 a	48.36 abcd	204.56 cd
	5 (TDZ 1.00 มก./ล.)	1.44 b	5.58 efg	0.5474 ab	80.91 bc	100.00 a	116.14 de

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 3 (ต่อ)ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามระยะเวลา)

สูตรอาหารที่	ระยะ เวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
6	1 (TDZ 0.01 มก./ล.)	1.44 b[(1)]	6.77 efg	0.0502 f	93.35 ab	13.86 de	133.48 cde
	2 (TDZ 0.05 มก./ล.)	1.56 b	7.38 efg	0.1136 ef	100.00 a	48.01 abcd	151.53 cde
	3 (TDZ 0.10 มก./ล.)	1.63 b	12.50 abcd	0.2804 cde	100.00 a	36.95 abcd	161.30 cde
	4 (TDZ 0.50 มก./ล.)	3.38 a	8.17 cdef	0.4438 bcd	93.35 ab	79.78 abc	311.55 ab
	5 (TDZ 1.00 มก./ล.)	2.06 b	7.00 efg	0.5035 abc	93.35 ab	100.00 a	192.10 cd
8	1 (TDZ 0.01 มก./ล.)	1.75 b	8.78 cdef	0.2303 def	93.35 ab	34.37 bcd	162.83 cde
	2 (TDZ 0.05 มก./ล.)	1.94 b	16.26 a	0.3046 cde	100.00 a	53.13 abcd	193.27 cd
	3 (TDZ 0.10 มก./ล.)	2.00 b	12.71 abcd	0.2969 cde	100.00 a	42.99 abcd	199.67 cd
	4 (TDZ 0.50 มก./ล.)	3.94 a	8.00 cdef	0.6442 ab	93.35 ab	93.36 ab	349.94 a
	5 (TDZ 1.00 มก./ล.)	2.31 b	10.08 bcde	0.6698 a	93.35 ab	100.00 a	215.83 bc

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 4 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามสูตรอาหาร)

สูตรอาหารที่	ระยะ เวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
1	2	1.19 fg[(1)]	4.02 i	0.0244 i	87.02 ab	0.00 g	103.81 fg
(BA 0.20 มก./ล.)	4	1.63 defg	9.90 c-h	0.0731 ghi	100.00 a	16.50 def	161.30 defg
	6	1.00 g	17.27 a	0.0771 ghi	79.78 b	48.36 abcd	80.73 g
	8	1.69 defg	13.42 bcd	0.0917 ghi	100.00 a	55.83 abc	167.59 def
2	2	1.38 efg	14.02 abc	0.1871 e-i	100.00 a	7.79 fg	137.21 efg
(TDZ 0.10 มก./ล.)	4	1.75 defg	14.26 ab	0.1966 e-i	100.00 a	11.03 efg	174.61 def
	6	1.75 defg	12.07 b-g	0.2119 e-i	100.00 a	15.22 def	174.61 def
	8	2.63 b-f	12.89 bcd	0.3240 defg	100.00 a	41.43 bcde	259.10 bcd
3	2	1.75 defg	8.52 efgh	0.0515 hi	100.00 a	26.62 cdef	172.76 def
(TDZ 0.20 มก./ล.)	4	1.88 c-g	12.91 bcd	0.0983 ghi	100.00 a	100.00 a	187.00 def
	6	2.06 c-g	12.18 b-f	0.0925 ghi	100.00 a	100.00 a	199.81 cdef
	8	2.81 bcde	11.19 b-h	0.2535 d-i	100.00 a	100.00 a	277.89 bcd

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 4 (ต่อ) ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามสูตรอาหาร)

สูตรอาหารที่	ระยะ เวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
4	2	2.44 c-g[(1)]	8.42 fgh	0.2488 d-i	100.00 a	70.82 abd	237.21 cde
(TDZ 0.30 มก./ล.)	4	2.44 c-g	13.35 bcd	0.2870 d-h	100.00 a	65.33 abc	231.39 cde
	6	2.56 cdef	10.00 c-h	0.3657 cdef	100.00 a	100.00 a	255.92 bcd
	8	4.00 b	9.54 d-h	0.6561 ab	100.00 a	93.36 ab	396.27 ab
5	2	2.00 c-g	7.50 h	0.1747 fghi	87.02 ab	44.32 abcd	173.16 def
(TDZ 0.40 มก./ล.)	4	2.81 bcde	11.82 b-g	0.2948 d-h	100.00 a	70.82 abc	276.06 bcd
	6	5.56 a	12.60 bcde	0.5688 abc	100.00 a	93.36 ab	547.90 a
	8	5.92 a	7.97 gh	0.7072 a	91.32 ab	100.00 a	527.03 a
6	2	1.88 c-g	13.40 bcd	0.2619 d-i	100.00 a	60.93 abc	184.73 def
(TDZ 0.50 มก./ล.)	4	2.25 c-g	11.05 b-h	0.2612 d-i	93.35 a	80.91 ab	209.90 cde
	6	3.25 bc	8.67 efgh	0.4617 bcd	100.00 a	93.36 ab	321.88 bc
	8	3.06 bcd	9.25 d-h	0.4267 cde	93.35 a	100.00 a	278.49 bcd

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 5 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามระยะเวลา)

ระยะ เวลา (สัปดาห์)	สูตรอาหารที่	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
2	1 (BA 0.20 มก./ล.)	1.19 fg[(1)]	4.02 i	0.0244 i	87.02 ab	0.00 g	103.81 fg
	2 (TDZ 0.10 มก./ล.)	1.38 efg	14.02 abc	0.1871 e-i	100.00 a	7.79 fg	137.21 efg
	3 (TDZ 0.20 มก./ล.)	1.75 defg	8.52 efgh	0.0515 hi	100.00 a	26.62 cdef	172.76 def
	4 (TDZ 0.30 มก./ล.)	2.44 c-g	8.42 fgh	0.2488 d-i	100.00 a	70.82 abc	237.21 cde
	5 (TDZ 0.40 มก./ล.)	2.00 c-g	7.50 h	0.1747 fghi	87.02 ab	44.32 abcd	173.16 def
	6 (TDZ 0.50 มก./ล.)	1.88 c-g	13.40 bcd	0.2619 d-i	100.00 a	60.93 abc	184.73 def
4	1 (BA 0.20 มก./ล.)	1.63 defg	9.90 c-h	0.0731 ghi	100.00 a	16.50 def	167.59 def
	2 (TDZ 0.10 มก./ล.)	1.75 defg	14.26 ab	0.1966 e-i	100.00 a	11.03 efg	174.61 def
	3 (TDZ 0.20 มก./ล.)	1.88 c-g	12.91 bcd	0.0983 ghi	100.00 a	100.00 a	187.00 def
	4 (TDZ 0.30 มก./ล.)	2.44 c-g	13.35 bcd	0.2870 d-h	100.00 a	65.33 abc	231.39 cde
	5 (TDZ 0.40 มก./ล.)	2.81 bcde	11.82 b-g	0.2948 d-h	100.00 a	70.82 abc	276.06 bcd
	6 (TDZ 0.50 มก./ล.)	2.25 c-g	11.05 b-h	0.2612 d-i	93.35 a	80.91 ab	209.90 cde

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ) ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามระยะเวลา)

ระยะ เวลา (สัปดาห์)	สูตรอาหารที่	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
6	1 (BA 0.20 มก./ล.)	1.00 g[(1)]	17.27 a	0.0771 ghi	79.78 b	48.36 abcd	80.73 g
	2 (TDZ 0.10 มก./ล.)	1.75 defg	12.07 b-g	0.2119 e-i	100.00 a	15.22 def	174.61 def
	3 (TDZ 0.20 มก./ล.)	2.06 c-g	12.18 b-f	0.0925 ghi	100.00 a	100.00 a	199.81 cdef
	4 (TDZ 0.30 มก./ล.)	2.56 cdef	10.00 c-h	0.3657 cdef	100.00 a	100.00 a	255.92 bcd
	5 (TDZ 0.40 มก./ล.)	5.56 a	12.60 bcde	0.5688 abc	100.00 a	93.36 ab	547.90 a
	6 (TDZ 0.50 มก./ล.)	3.25 bc	8.67 efgh	0.4617 bcd	100.00 a	93.36 ab	321.88 bc
8	1 (BA 0.20 มก./ล.)	1.69 defg	13.42 bcd	0.0917 ghi	100.00 a	55.83 abc	167.59 def
	2 (TDZ 0.10 มก./ล.)	2.63 b-f	12.89 bcd	0.3240 defg	100.00 a	41.43 bcde	259.10 bcd
	3 (TDZ 0.20 มก./ล.)	2.81 bcde	11.19 b-h	0.2535 d-i	100.00 a	100.00 a	277.89 bcd
	4 (TDZ 0.30 มก./ล.)	4.00 b	9.54 d-h	0.6561 ab	100.00 a	93.36 ab	396.27 ab
	5 (TDZ 0.40 มก./ล.)	5.92 a	7.97 gh	0.7072 a	91.32 ab	100.00 a	527.03 a
	6 (TDZ 0.50 มก./ล.)	3.06 bcd	9.25 d-h	0.4267 cde	93.35 a	100.00 a	278.49 bcd

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 6 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ทรอปิคอลเมื่อเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามสูตรอาหาร)

สูตรอาหารที่	ระยะ เวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
1	4	1.67 ab[(1)]	6.66 abc	0.0921 cd	90.42 a	29.33 b	148.17 ab
(BA 0.20 มก./ล.)	6	1.83 ab	10.03 ab	0.0806 cd	34.87 c	34.87 b	58.67 b
	8	1.75 ab	9.45 abc	0.1396 cd	34.87 c	34.87 b	64.71 b
2	4	0.92 b	5.64 c	0.0462 d	40.87 bc	4.62 c	54.73 b
(TDZ 0.10 มก./ล.)	6	1.58 ab	8.72 abc	0.2195 bcd	81.40 ab	81.40 a	138.03 ab
	8	1.58 ab	10.11 ab	0.1825 bcd	63.23 abc	88.80 a	97.67 ab
3	4	2.08 ab	8.54 abc	0.1796 bcd	90.42 a	90.42 a	186.51 ab
(TDZ 0.25 มก./ล.)	6	1.75 ab	10.41 ab	0.1677 cd	100.00 a	100.00 a	154.93 ab
	8	1.58 ab	9.76 abc	1.0517 a	100.00 a	100.00 a	174.40 ab

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 6 (ต่อ)ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ทรอปิคอลเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามสูตรอาหาร)

สูตรอาหารที่	ระยะ เวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
4	4	1.40 ab[(1)]	6.35 bc	0.1071 cd	100.00 a	100.00 a	102.52 ab
(TDZ 0.50 มก./ล.)	6	2.50 a	8.16 abc	0.3022 bcd	100.00 a	100.00 a	239.75 a
	8	2.25 ab	7.16 abc	0.2130 bcd	100.00 a	100.00 a	221.00 a
5	4	1.75 ab	9.34 abc	0.4272 b	100.00 a	100.00 a	174.40 ab
(TDZ 0.75 มก./ล.)	6	1.58 ab	8.46 abc	0.3068 bcd	90.42 a	90.42 a	133.13 ab
	8	1.67 ab	6.33 bc	0.2784 bcd	90.42 a	90.42 a	140.52 ab
6	4	1.83 ab	7.81 abc	0.1174 cd	63.23 abc	90.42 a	111.86 ab
(TDZ 1.00 มก./ล.)	6	2.17 ab	10.81 a	0.9814 a	90.42 a	90.42 a	174.40 ab
	8	1.50 ab	7.68 abc	0.3400 bc	100.00 a	100.00 a	138.80 ab

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 7 ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอลเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามระยะเวลา)

ระยะ เวลา (สัปดาห์)	สูตรอาหารที่	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
4	1 (BA 0.20 มก./ล.)	1.67 ab[(1)]	6.66 abc	0.0921 cd	90.42 a	29.33 b	148.17 ab
	2 (TDZ 0.10 มก./ล.)	0.92 b	5.64 c	0.0462 d	40.87 bc	4.62 c	54.73 b
	3 (TDZ 0.25 มก./ล.)	2.08 ab	8.54 abc	0.1796 bcd	90.42 a	90.42 a	186.51 ab
	4 (TDZ 0.50 มก./ล.)	1.40 ab	6.35 bc	0.1071 cd	100.00 a	100.00 a	102.57 ab
	5 (TDZ 0.75 มก./ล.)	1.75 ab	9.34 abc	0.4272 b	100.00 a	100.00 a	174.40 ab
	6 (TDZ 1.00 มก./ล.)	1.83 ab	7.81 abc	0.1174 cd	63.23 abc	90.42 a	111.86 ab
6	1 (BA 0.20 มก./ล.)	1.83 ab	10.03 ab	0.0806 cd	34.87 c	34.87 b	58.67 b
	2 (TDZ 0.10 มก./ล.)	1.58 ab	8.72 abc	0.2195 bcd	81.40 ab	81.40 a	138.03 ab
	3 (TDZ 0.25 มก./ล.)	1.75 ab	10.41 ab	0.1677 cd	100.00 a	100.00 a	154.93 ab
	4 (TDZ 0.50 มก./ล.)	2.50 a	8.16 abc	0.3022 bcd	100.00 a	100.00 a	239.75 a
	5 (TDZ 0.75 มก./ล.)	1.58 ab	8.46 abc	0.3068 bcd	90.42 a	90.42 a	133.13 ab
	6 (TDZ 1.00 มก./ล.)	2.17 ab	10.81 a	0.9814 a	90.42 a	90.42 a	174.40 ab

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 7 (ต่อ) ปฏิกิริยาระหว่างสูตรอาหารและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อจำนวนยอด/ชิ้น ความยาวยอด น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และจำนวนยอดรวม ของหน้าวัวพันธุ์ทรอปิคอลเมื่อเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ระยะเวลา (จัดข้อมูลตามระยะเวลา)

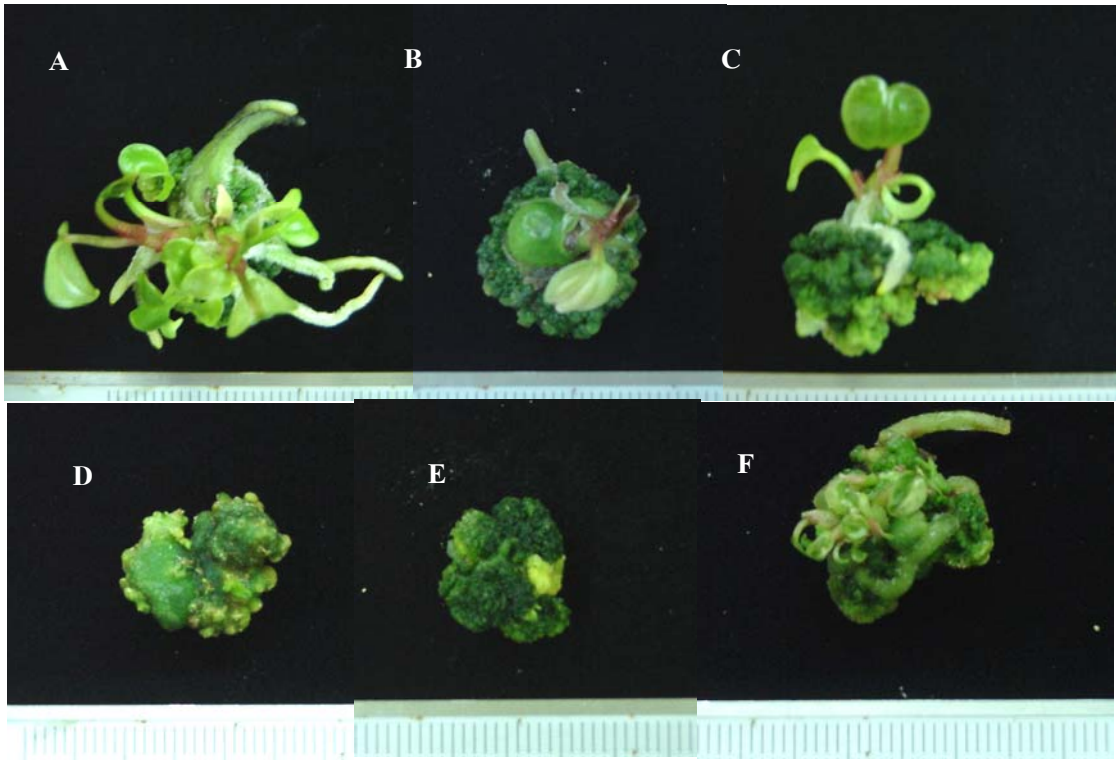
ระยะ เวลา (สัปดาห์)	สูตรอาหารที่	จำนวนยอด/ชิ้น	ความยาวยอด (มม.)	น้ำหนักชิ้นเนื้อเยื่อ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ การเกิดยอด	เปอร์เซ็นต์ การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดรวม
8	1 (BA 0.20 มก./ล.)	1.75 ab[(1)]	9.45 abc	0.1396 cd	34.87 c	34.87 b	64.71 b
	2 (TDZ 0.10 มก./ล.)	1.58 ab	10.11 ab	0.1825 bcd	63.23 abc	88.80 a	97.67 ab
	3 (TDZ 0.25 มก./ล.)	1.58 ab	9.76 abc	1.0517 a	100.00 a	100.00 a	174.40 ab
	4 (TDZ 0.50 มก./ล.)	2.25 ab	7.16 abc	0.2130 bcd	100.00 a	100.00 a	221.00 a
	5 (TDZ 0.75 มก./ล.)	1.67 ab	6.33 bc	0.2784 bcd	90.42 a	90.42 a	140.52 ab
	6 (TDZ 1.00 มก./ล.)	1.50 ab	7.68 abc	0.3400 bc	100.00 a	100.00 a	138.80 ab

[(1)] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ภาพภาคผนวกที่ 1 การเลี้ยงเนื้อเยื่อในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

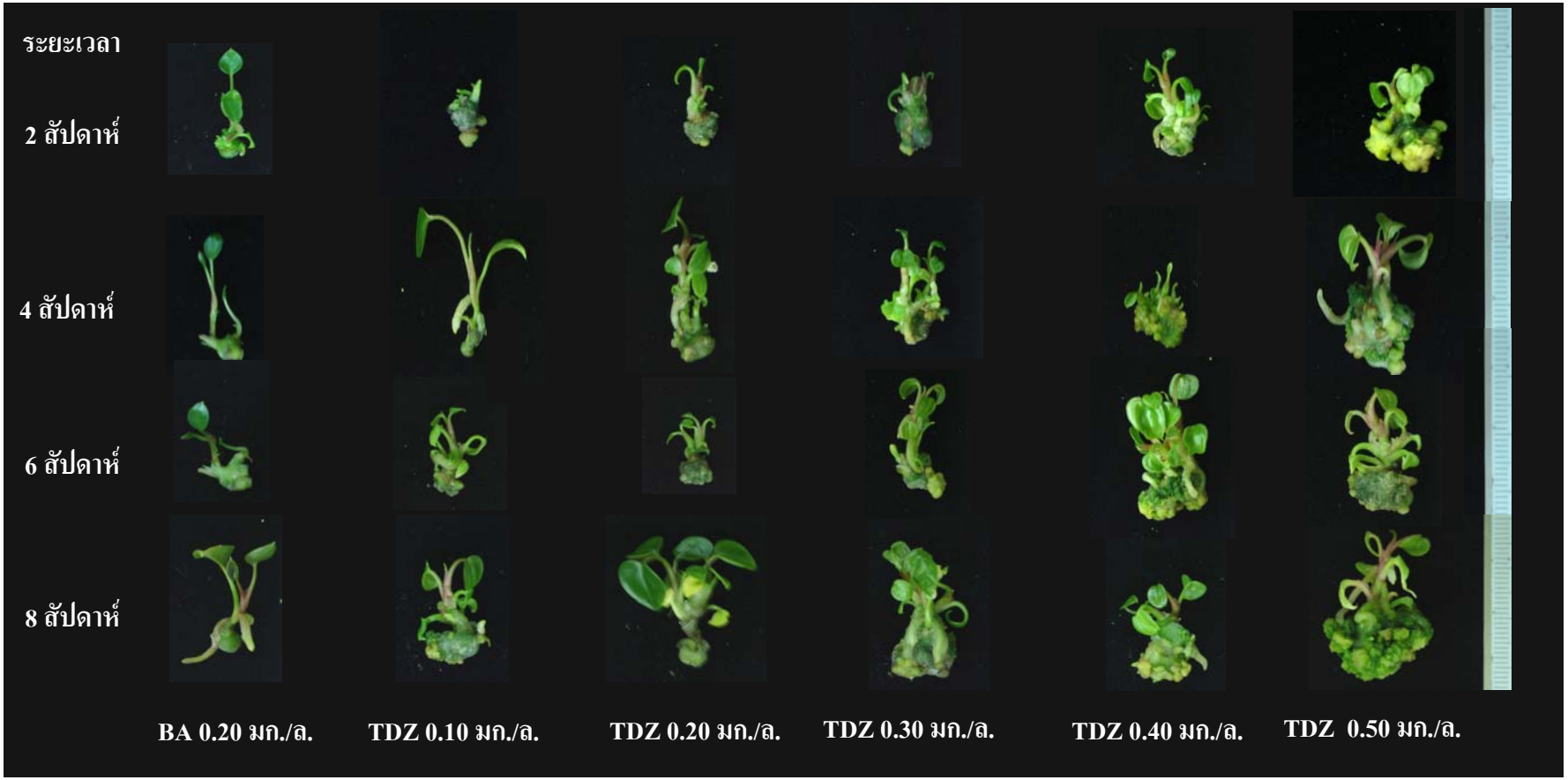
ภาพภาคผนวกที่ 2 ยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.01 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ภาพภาคผนวกที่ 3 เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 1.00 มก./ล. เป็นเวลา 2 สัปดาห์

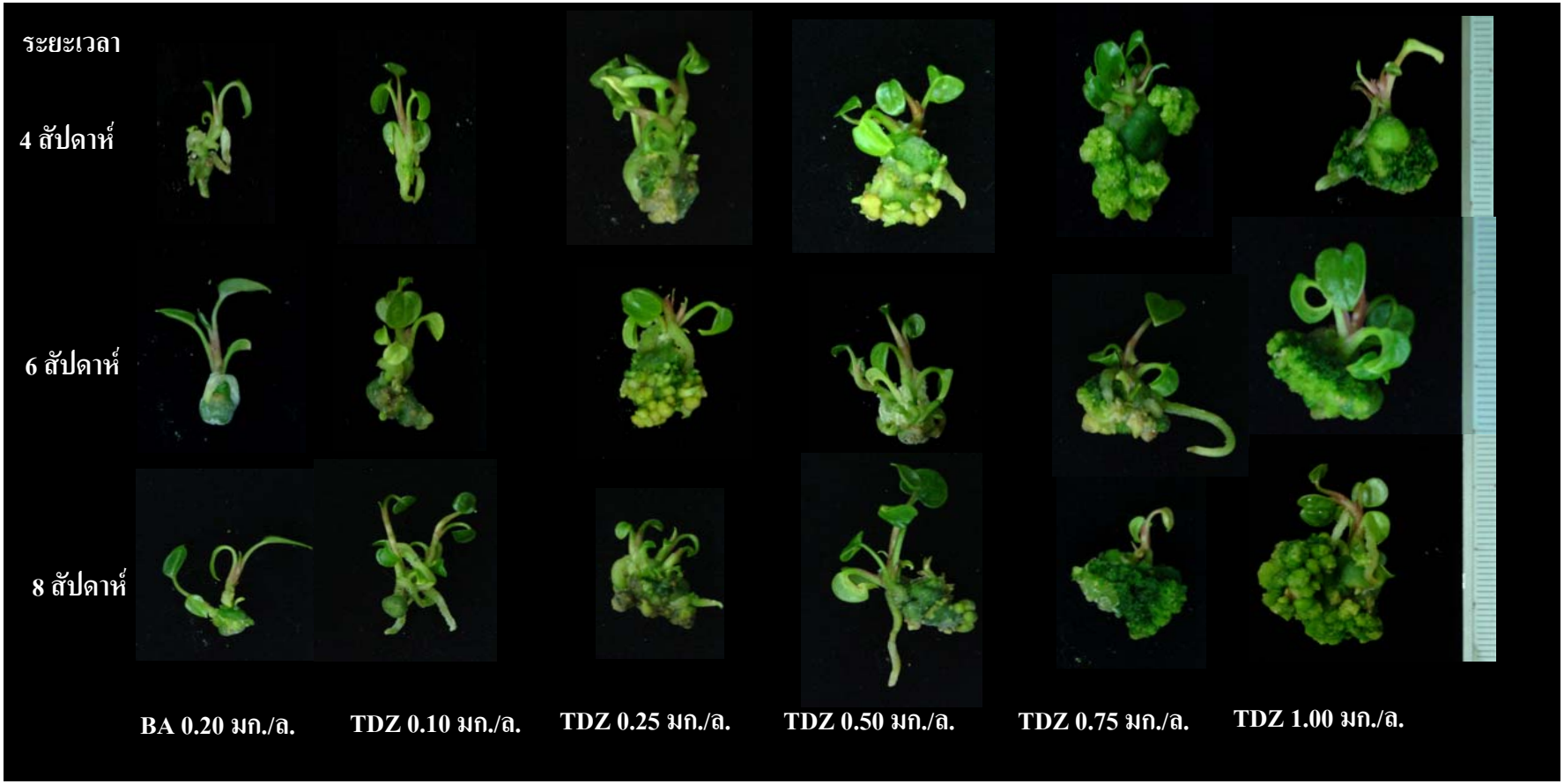


ภาพภาคผนวกที่ 4 เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 1.00 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ [A-C: เนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัส ยอดที่ได้สั้นแคระแกร็น ใบมีลักษณะผิดปกติ, D: เนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัส แบบ compact, E: เนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัส แบบ friable, F: เนื้อเยื่อมีการเกิดยอดที่มีลักษณะใบด่าง]

ภาพภาคผนวกที่ 5 เนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ลินเนตที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ (0.01, 0.05, 0.10, 0.50 และ 1.00 มก./ล.) เลี้ยงที่ระยะเวลาต่างกัน 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์) จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมนเป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพภาคผนวกที่ 6 เนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ลินเนตที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ (0.10, 0.20, 0.30, 0.40 และ 0.50 มก./ล.) เทียบกับอาหารที่เติม BA 0.20 มก./ล. เลี้ยงที่ระยะเวลาต่างกัน 4 ระยะเวลา (2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์) จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพภาคผนวกที่ 7 เนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอลที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ (0.10, 0.25, 0.50, 075 และ 1.00 มก./ล.) เทียบกับอาหารที่เติม BA 0.20 มก./ล. เลี้ยงที่ระยะเวลาต่างกัน 3 ระยะเวลา (4, 6 และ 8 สัปดาห์) จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจากฮอร์โมนเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ประวัติผู้เขียน

นางสาวมิ่งขวัญ ทวีทรัพย์ เกิดเมื่อวันที่ 31 ธันวาคม พ.ศ. 2517 ที่ อ.ไชยวาน จ.อุดรธานี สำเร็จปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในปีการศึกษา 2539 ภายหลังสำเร็จการศึกษาได้ทำงานในตำแหน่งผู้ช่วยวิจัยโครงการพัฒนาพันธุ์ไผ่ตงเพื่อผลิตเป็นการค้า เป็นเวลา 2 ปี และได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในปีการศึกษา 2544 สถานที่ติดต่อได้สะดวก 322/10 ม.2 ต.ในเมือง อ.พิมาย จ.นครราชสีมา 30110