

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่อกลิ้นไทย

Tissue Culture of Tuberose (*Polianthes tuberosa*, Linn.)

ปราณวีย์ ประสารพันธ์ (Pranawee Prasarnphan)*

ดร.ภาณุพล หงษ์ภักดี (Dr.Panupon Hongpukdee)** ดร.สุมนา นีระ (Dr.Sumana Neera)**

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่อกลิ้นไทยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคนิควิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสม ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นและชักนำให้เกิดราก ผลการทดลองพบว่าหัวพันธุ์ช่อกลิ้นไทยที่ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1.5% เป็นเวลา 10 นาทีเป็นวิธีการที่ดีที่สุด หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ดังนี้ TDZ, BA และ kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มก./ล. เพาะเลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า kinetin ความเข้มข้นที่ 10 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำต้นได้ดีที่สุด (2.59 ± 0.35 ต้นต่อชิ้นส่วน) ในส่วนของการชักนำรากระหว่างสูตรอาหาร full MS และ half MS พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ABSTRACT

The objective of tuberose tissue culture was to study the appropriate method of surface sterilized technique, suitable medium for increasing plantlet and root induction. The results of the experiment showed that the tuber of tuberose sterilized with sodium hypochlorite 1.5% for 10 minute was the best method. After that, the explant was cultured on MS medium with cytokinin group added as follows: TDZ, BA and kinetin at concentrations 0, 2, 4, 6, 8 and 10 mg / l, cultured periodically 4 weeks. The concentration of kinetin at 10 mg / l was found to be the best shoot induction (2.59 ± 0.35 plant per explant). As for root induction between the full MS and half MS medium, there was no difference statistical difference.

คำสำคัญ: ไซโตไคนิน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ช่อกลิ้น

Keywords: Cytokinin, Tissue culture, Tuberose

*นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

ช่อนกลิ่นไทย (*Polianthes tuberosa* Linn.) เป็นพืชหลายฤดู จัดอยู่ในวงศ์ Amaryllidaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่แถบอเมริกาใต้ เป็นไม้ดอกเขตร้อน และกึ่งเขตร้อน (Ranchana and Kannan, 2016) ดอกของช่อนกลิ่นไทยจะมีความหอมเป็นอย่างมากในเวลากลางคืน และยังถูกจัดให้เป็นพืช day-neutral plant คือ การออกดอกไม่ได้ถูกควบคุมด้วยแสง ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างยิ่ง เนื่องจากในบางประเทศมีการเพาะปลูกเชิงพาณิชย์เพื่อใช้เป็นไม้ตัดดอก และเพื่อใช้สกัดน้ำมันหอมที่มีมูลค่าสูง (Pohare et al., 2013) เช่น ในประเทศอียิปต์ จีน ฝรั่งเศส และโมร็อกโก (Datta, 2017) สำนักงานส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, (มปป.) ได้รายงานไว้ว่า ในประเทศไทยนั้นมีการเพาะปลูกเพื่อผลิตเป็นไม้ตัดดอก โดยส่งออกประเทศญี่ปุ่น ฮองกง และสิงคโปร์ ส่วนใหญ่ได้มีการนำเข้าช่อนกลิ่นไทยจากประเทศไทย เพื่อใช้ในการประดับตกแต่งสถานที่ และในพิธีกรรมทางศาสนา พื้นที่ปลูกจะอยู่บริเวณรอบนอกเขตกรุงเทพฯ และทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เกษตรที่ปลูกช่อนกลิ่นไทยยังประสบปัญหาหัวพันธุ์ไม่เพียงพอต่อความต้องการในการทำ การเพาะปลูก ในปัจจุบันได้มีการนำวิธีขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตหัวพันธุ์ช่อนกลิ่นไทยซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้มาก และรวดเร็ว เพื่อให้ได้หัวพันธุ์ที่มีคุณภาพปราศจากโรคและแมลง จันทรวีภา และคณะ (มปป.) ได้มีการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ในการเพาะเลี้ยงใบสืทองพบว่า TDZ สามารถชักนำยอดได้ และ Prakash et al. (1999) ได้มีการศึกษาบทบาทหน้าที่ของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน พบว่าการศึกษา BA มีความสำคัญมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์ในการหาแนวทางการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน โดยใช้พันธุ์พื้นถิ่นที่มีการเพาะปลูกในจังหวัดขอนแก่นมา ทำการศึกษาผลของชนิดสารในกลุ่มไซโตไคนิน และระดับความเข้มข้นต่อการเจริญเติบโต เพื่อให้ได้สูตรอาหารเพาะเลี้ยง ที่ใช้ในการขยายพันธุ์ช่อนกลิ่นไทยภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่อนกลิ่นไทย
2. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นและรากเพื่อการขยายพันธุ์แก่เกษตรกรต่อไปใน

อนาคต

วิธีการศึกษา

การเตรียมเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่อนกลิ่นไทย

การฟอกฆ่าเชื้อ หัวพันธุ์ช่อนกลิ่นไทยจากเกษตรกรบ้านศิลา ตำบลศิลา อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น โดยเลือก หัวพันธุ์ที่สะอาดปราศจากโรคและแมลง หลังเกษตรกรปลูก 4-6 เดือน มีขนาดความยาว 5-6 เซนติเมตร มาล้างด้วยน้ำ สะอาด หลังจากนั้นนำมาจุ่มแอลกอฮอล์เป็นระยะเวลา 1 นาที แล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว (Surface sterilization) ด้วย sodium hypochlorite ความเข้มข้นตามแผนการทดลองดังนี้ 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ เติมน้ำ tween 20 ในอัตรา 0.1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 50 มิลลิลิตร และระยะเวลาฟอกฆ่าเชื้อ 3 ระยะเวลา คือ 5, 10 และ 15 นาที ล้างด้วยน้ำ กลิ่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว เป็นเวลา 1 นาทีจำนวน 3 ครั้ง แล้วนำมาตัดแต่งให้มีขนาด 1 ตารางเซนติเมตร นำไปเพาะเลี้ยงบน อาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance) วางแผนการ ทดลองแบบ 4x3 Factorial in CRD (Factorial in Completely Randomized Design) และทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี Least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จำนวน 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น โดยเก็บข้อมูล เปอร์เซ็นต์การเกิดต้น เปอร์เซ็นต์การตาย เปอร์เซ็นต์การรอดจากการปนเปื้อน และเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน

การเพิ่มปริมาณต้น โดยทำวิธีการเช่นเดียวกับการพอกฆ่าเชื้อซึ่งใช้ผลที่ดีที่สุดจากการพอกฆ่าเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสารกลุ่มไซโตไคนิน โดยแบ่งเป็น 3 งานทดลอง ได้แก่ TDZ, BA และ kinetin ตามลำดับ ในแต่ละระดับความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัม/ลิตร วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely randomized design) และทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี Least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% มี 6 กรรมวิธี แต่ละวิธีมี 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 1 ชิ้นส่วน 3 โดยเก็บข้อมูลดังนี้ น้ำหนักต้น (กรัม/ต้น), ความสูง (เซนติเมตร), จำนวนต้น (ต้น/ชิ้นส่วน) และจำนวนใบ (ใบ/ต้น)

การชักนำราก นำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาตัดแต่งให้ได้ขนาด 1 ตารางเซนติเมตร นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร full MS และ half MS วางแผนการทดลองแบบ CRD 2 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ๆ ละ 3 ชิ้นส่วน โดยเก็บข้อมูล จำนวนใบ (ใบ/ต้น), ความสูงต้น (เซนติเมตร), จำนวนต้น (ต้น/ชิ้นส่วน), น้ำหนัก (กรัม), จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน), ความยาวราก (เซนติเมตร) และ เปอร์เซ็นต์การเกิดราก วิเคราะห์ผลแบบ T-test

ผลการทดลอง

การพอกฆ่าเชื้อ โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นในระดับความเข้มข้นไซโตไคนินไฮโปคลอไรต์ 1.5% ที่ระยะเวลาการพอกฆ่าเชื้อ 15 นาที, ระดับความเข้มข้นไซโตไคนินไฮโปคลอไรต์ 2 และ 2.5% ที่ระยะเวลาการพอกฆ่าเชื้อ 5, 10 และ 15 นาที และระดับความเข้มข้นไซโตไคนินไฮโปคลอไรต์ 3% ที่ระยะเวลาการพอกฆ่าเชื้อ 10 นาที พบเปอร์เซ็นต์การเกิดมากที่สุด คือ 100% ในส่วนเปอร์เซ็นต์การรอดจากการปนเปื้อน พบว่า ระดับความเข้มข้นไซโตไคนินไฮโปคลอไรต์ 1.5% ที่ระยะเวลาการพอกฆ่าเชื้อ 10 นาที พบเปอร์เซ็นต์การรอดจากการปนเปื้อน 40% รองลงมา คือ ระดับความเข้มข้นไซโตไคนินไฮโปคลอไรต์ 1.5% ที่ระยะเวลาการพอกฆ่าเชื้อ 5 นาที, ระดับความเข้มข้นไซโตไคนินไฮโปคลอไรต์ 2.5% ที่ระยะเวลาการพอกฆ่าเชื้อ 5 และ 15 นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดจากการปนเปื้อนมากที่สุด 30% รองลงมาคือ ระดับความเข้มข้นไซโตไคนินไฮโปคลอไรต์ 1.5% ที่ระยะเวลาการพอกฆ่าเชื้อ 15 นาที, ระดับความเข้มข้นไซโตไคนินไฮโปคลอไรต์ 2% ที่ระยะเวลาการพอกฆ่าเชื้อ 5 นาที พบเปอร์เซ็นต์การรอดจากการปนเปื้อน 20% และ ระดับความเข้มข้นไซโตไคนินไฮโปคลอไรต์ 2% ที่ระยะเวลาการพอกฆ่าเชื้อ 10 และ 15 นาที, ระดับความเข้มข้นไซโตไคนินไฮโปคลอไรต์ 2.5% ที่ระยะเวลาการพอกฆ่าเชื้อ 5 นาที พบเปอร์เซ็นต์การรอดจากการปนเปื้อน 10% (ตารางที่1)

การเพิ่มจำนวนต้น จากการศึกษาผลของไซโตไคนิน 3 ชนิด คือ TDZ, BA และ kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าในอาหารที่เติม TDZ น้ำหนักต้น ความสูงต้น และจำนวนใบไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่พบว่าจำนวนต้นที่เกิดใหม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยอาหารที่มีการเติม TDZ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร มีจำนวนต้นสูงที่สุด (2.27 ต้นต่อชิ้นส่วน) (ตารางที่2) ในส่วนผลของอาหารที่มีการเติม BA พบว่า น้ำหนักต้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่พบว่าความสูงต้น และจำนวนต้นต่อชิ้นส่วนมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งอาหารที่ไม่มีการเติม BA มีความสูงต้นสูงที่สุด (11.06 เซนติเมตร) และในส่วนของจำนวนต้นอาหารที่มีการเติม BA ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนต้นมากที่สุด (2.40 ต้นต่อชิ้นส่วน) ให้จำนวนต้นใหม่สูงที่สุด และในจำนวนใบมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยอาหารที่ไม่มีการเติม BA มีจำนวนใบมากที่สุด (2.31 ใบต่อชิ้นส่วน) (ตารางที่3) ในส่วนของ kinetin พบว่าน้ำหนักต้น และจำนวนใบต่อต้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่กลับพบว่าความสูงต้น และจำนวนต้นต่อชิ้นส่วนมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งอาหารที่ไม่มีการเติม kinetin มีความสูงต้นสูงที่สุด (13.89 เซนติเมตร) และอาหารที่เติม kinetin ความเข้มข้นที่ 10 กรัม/ลิตร มีจำนวนต้นต่อชิ้นส่วนมากที่สุด (2.59 ต้นต่อชิ้นส่วน) (ตารางที่4)

การชักนำราก จากการศึกษาสูตรอาหาร MS ที่ความเข้มข้น 2 ระดับ full MS และ half MS ในการชักนำให้เกิดราก พบว่า ความสูงต้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยต้นที่เพาะเลี้ยงโดยสูตร full MS สูงที่สุด (10.04 เซนติเมตร) แต่พบว่า จำนวนใบ จำนวนต้น น้ำหนักต้น จำนวนราก ความยาวราก และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 5)

วิจารณ์ผลการทดลอง

ระดับความเข้มข้นโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 2 และ 2.5% พบเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น 100% แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นโซเดียมไฮโปคลอไรต์เป็น 3% จะพบเปอร์เซ็นต์การเกิดเพียงต้น 90% ซึ่งปกติแล้วประสิทธิภาพจะมากขึ้นถ้าใช้เวลาและความเข้มข้นของสารมากขึ้น แต่ถ้าใช้มากเกินไปจะเกิดอันตรายต่อน้ำเลี้ยงพืชได้ (รังสฤษฎ์, 2540) ส่วนระดับความเข้มข้นโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1.5% เป็นระยะเวลา 10 นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดจากการปนเปื้อนมากที่สุด 40% และระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่ 5 นาที พบเปอร์เซ็นต์การรอดจากการปนเปื้อนมากที่สุด 30% สอดคล้องกับรายงานของ มณฑล และคณะ (2554) พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อใบอ่อนบอนสีโดยนำเนื้อเยื่อส่วนของใบอ่อนมาทำการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้วยการแช่ในสารละลายคลอโรกซ์เข้มข้น 10 (v/v)% นาน 10 นาที ตามด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 5 (v/v)% นาน 5 นาที พบว่า ชิ้นส่วนใบอ่อนบอนสีปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยมีอัตราการรอดชีวิตถึง 88.88% แต่อัตราการรอดชีวิตจะลดลงเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายคลอโรกซ์สูงขึ้น ในส่วนของการเพิ่มจำนวนต้นการเติม TDZ ในอาหารที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนต้นสูงสุด 2.27 ต้น ซึ่งสอดคล้องกับ ธนิตา และปิยะมาศ (2558) พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด 4.00 ยอด ในการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดของขมิ้นอ้อย และอาหารที่มีการเติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนต้นสูงกว่าทุกความเข้มข้น ซึ่งสอดคล้องกับ พันทิพา และขวัญเดือน (2560) รายงานว่า อาหารที่เติม BA ที่ 4 มิลลิกรัม/ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอกใหม่ของต้นสูงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ และชักนำให้เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 5.50 ยอด ในการเพาะเลี้ยงข้าวเจ้าหอมนิล ในส่วนของ kinetin พบว่า ความเข้มข้นที่ 10 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงกว่าทุกความเข้มข้น เช่นเดียวกับ พิสุทธิ (2560) ได้มีการศึกษาผลของไคเนตินที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดสลัดน้ำที่ พบว่า kinetin สามารถชักนำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 2.71 ยอด สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของไซโตไคนินสามารถส่งผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อเจริญทั้งทางยอดและราก และกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเจริญที่ปลายยอดเพิ่มจำนวนมากขึ้น (วรารณ และคณะ, 2557) ในส่วนการชักนำให้เกิดรากสามารถใช้สูตรอาหาร MS ซึ่งสอดคล้องกับ เยาวพา และขวัญจิตต์ (2552) ซึ่งได้มีการเพาะเลี้ยงต้นสร้อยสายเพชรภายใต้สภาพปลอดเชื้อพบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด

สรุป

จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อนี้พบว่า ความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 1.5% ฟอกฆ่าเชื้อที่ระยะเวลา 10 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นที่สูง และเปอร์เซ็นต์การรอดจากการปนเปื้อนสูงที่สุด เหมาะสมต่อการใช้ฟอกฆ่าเชื้อช่อนกลั่น ในการเพิ่มจำนวนต้นให้ได้ต้นใหม่ในการเพาะเลี้ยงโดยอาหารที่มีการเติม kinetin ที่ความเข้มข้นที่ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมและดีที่สุดในการใช้เพื่อขยายพันธุ์ช่อนกลั่นไทย และการชักนำให้เกิดรากสามารถใช้ได้ทั้ง 2 ความเข้มข้น ได้แก่ full MS และ half MS

ตารางที่ 1 การพอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรต์ในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน 4 ระดับ และระยะในการพอกที่แตกต่างกัน 3 ระดับ หลังเพาะเลี้ยงไว้ 4 สัปดาห์

Sodium hypochlorite Concentration (%) (A)	Timing (B)	plantlet induction (%)	deceased (%)	survive (%)	Contaminate (%)
1.5	5	90.0	10.0	30.0	70.0
	10	90.0	10.0	40.0	60.0
	15	100.0	0.0	20.0	80.0
2	5	100.0	0.0	20.0	80.0
	10	100.0	0.0	10.0	90.0
	15	100.0	0.0	10.0	90.0
2.5	5	100.0	0.0	30.0	70.0
	10	100.0	0.0	0.0	100.0
	15	100.0	0.0	30.0	70.0
3	5	90.0	10.0	10.0	90.0
	10	100.0	0.0	0.0	100.0
	15	80.0	20.0	0.0	100.0
F-test		ns	ns	ns	ns
factor A (Concentration)	1.5	93.3	6.6	30.0 ^a	70.0 ^b
	2	100.0	0.0	13.3 ^{ab}	86.6 ^{ab}
	2.5	100.0	0.0	20.0 ^{ab}	80.0 ^{ab}
	3	90.0	10.0	3.3 ^b	96.6 ^a
F-test		ns	ns	*	*
Factor B (Timing)	5	95.0	5.0	22.5	77.5
	10	97.5	2.5	12.5	87.5
	15	95.0	5.0	15.0	85.0
F-test		ns	ns	ns	ns
CV%		5.20	7.12	10.03	7.99

หมายเหตุ : ^{a b c} Mean with in the column with different superscript letters differ significant (P<0.05)

NS =Nonsignificant(P>0.05)

ตารางที่ 2 น้ำหนักต้น (กรัม/ต้น), ความสูงต้น (เซนติเมตร), จำนวนต้น (ต้น/ชิ้นส่วน) และ จำนวนใบ (ใบ/ต้น) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน แล้วนำไปเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

TDZ Conc. (mg/l)	weight (g/explant)	height (cm)	Plantlet No. (plantlet/explant)	Leaf No. (No./explant)
0	1.22±0.16	7.28±2.39	1.41±0.00 ^b	1.99±0.18
2	1.53±0.35	5.29±1.09	1.94±0.21 ^a	1.84±0.03
4	1.45±0.19	6.36±1.01	2.19±0.19 ^a	1.82±0.05
6	1.45±0.32	4.92±2.29	2.07±0.63 ^a	1.78±0.08
8	1.60±0.36	5.37±2.49	2.12±0.65 ^a	1.64±0.37
10	1.79±0.35	6.74±0.54	2.27±0.25 ^a	1.86±0.09
F-test	ns	ns	*	ns
CV%	19.93	30.43	19.98	9.73

หมายเหตุ : Means + standard error followed by the same letter are not significant at P<0.05 by LSD.

^{a b c} Mean with in the column with different superscript letters differ significant (P<0.05)

NS =Nonsignificant(P>0.05)

ตารางที่ 3 น้ำหนักต้น (กรัม/ต้น), ความสูงต้น (เซนติเมตร), จำนวนต้น (ต้น/ชิ้นส่วน) และ จำนวนใบ (ใบ/ต้น) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน แล้วนำไปเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.

BA Conc. (mg/l)	weight (g/explant)	height (cm)	Plantlet No. (plantlet/explant)	Leaf No. (No./explant)
0	1.35±0.27	11.06±2.69 ^a	1.47±0.14 ^b	2.31±0.29 ^a
2	1.29±0.08	7.82±1.59 ^b	2.11±0.45 ^a	2.04±0.23 ^b
4	1.45±0.33	6.49±0.54 ^b	2.40±0.28 ^a	1.98±0.13 ^b
6	1.61±0.39	7.11±1.07 ^b	2.39±0.31 ^a	1.95±0.15 ^b
8	1.80±0.42	7.16±1.18 ^b	2.26±0.37 ^a	1.90±0.18 ^b
10	1.74±0.51	7.03±1.60 ^b	2.23±0.16 ^a	1.93±0.15 ^b
F-test	ns	**	**	*
CV%	23.56	20.51	14.32	9.90

หมายเหตุ : Means + standard error followed by the same letter are not significant at P<0.05 by LSD.

^{a b c} Mean with in the column with different superscript letters differ significant (P<0.05)

NS =Nonsignificant(P>0.05)

ตารางที่ 4 น้ำหนักต้น (กรัม/ต้น), ความสูงต้น (เซนติเมตร), จำนวนต้น (ต้น/ชิ้นส่วน) และ จำนวนใบ (ใบ/ต้น) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติม kinetin ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน แล้วนำไปเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.

kinetin Conc. (mg/l)	weight (g/explant)	height (cm)	Plantlet No. (plantlet/explant)	Leaf No. (No./explant)
0	1.58±0.27	13.89±1.20 ^a	1.47±0.14 ^c	2.12±0.34
2	1.48±0.38	8.49±4.78 ^b	1.73±0.51 ^{bc}	1.74±0.46
4	1.61±0.23	8.90±1.03 ^b	2.15±0.48 ^b	2.19±0.26
6	1.63±0.42	8.73±1.59 ^b	1.95±0.12 ^b	1.89±0.24
8	1.53±0.16	7.39±0.79 ^b	2.10±0.13 ^b	2.10±0.24
10	1.78±0.24	7.80±0.70 ^b	2.59±0.35 ^a	2.14±0.09
F-test	ns	**	**	ns
CV%	18.64	23.89	16.61	14.53

หมายเหตุ : Means + standard error followed by the same letter are not significant at P<0.05 by LSD.

^{a b c} Mean with in the column with different superscript letters differ significant (P<0.05)

NS =Nonsignificant(P>0.05)

ตารางที่ 5 จำนวนใบ (ใบ/ต้น), ความสูง (เซนติเมตร), จำนวนต้น (ต้น/ชิ้นส่วน), น้ำหนักต้น (กรัม/ต้น), จำนวนราก (ราก/ต้น), ความยาวราก (เซนติเมตร) และเปอร์เซ็นต์การเกิดราก เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS และ ½ MS เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

Medium	Leaf No. (No./explant)	height (cm)	Plantlet No. (plantlet/explant)	weight (g/explant)	root No. (No./explant).	Root length (cm)	Root induction percentage
MS	6.33	10.04	1.60	2.28	2.00	3.15	66.64
½ MS	4.62	8.41	2.27	1.59	1.60	3.29	59.98
T-test	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
CV %	1.62	0.54	0.42	0.10	0.68	0.40	22.22

หมายเหตุ : NS =Nonsignificant(P>0.05)

** = significant (P< 0.01)

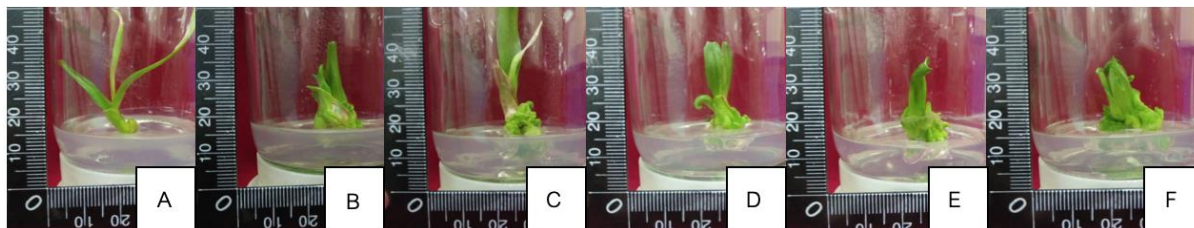


Figure 1 Plantlet of *Polianthes tuberosa* Linn. on the medium A: MS+TDZ 0 mg/L, B: MS+TDZ 2 mg/L, C: MS+TDZ 4 mg/L, D: MS+TDZ 6 mg/L, E: MS+TDZ 8 mg/L. and F: MS+TDZ 10 mg/L,

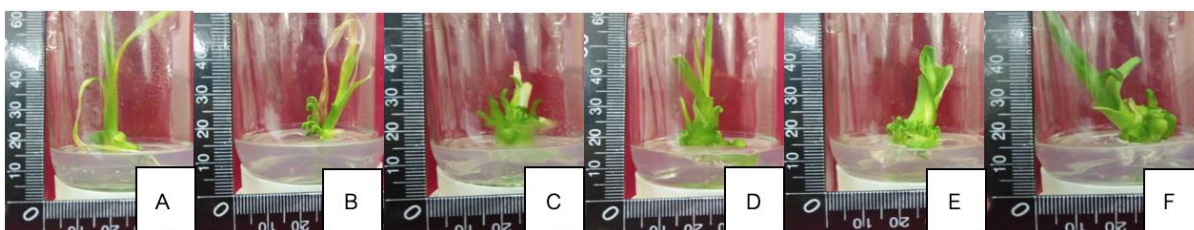


Figure 2 Plantlet of *Polianthes tuberosa* Linn. on the medium A: MS+BA 0 mg/L, B: MS+BA 2 mg/L, C: MS+BA 4 mg/L, D: MS+BA 6 mg/L, E: MS+BA 8 mg/L. and F: MS+BA 10 mg/L,

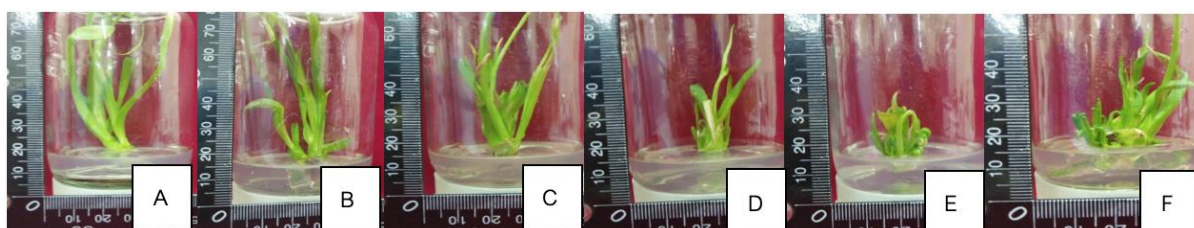


Figure 3 Plantlet of *Polianthes tuberosa* Linn. on the medium A: MS+kinetin 0 mg/L, B: MS+kinetin 2 mg/L, C: MS+kinetin 4 mg/L, D: MS+kinetin 6 mg/L, E: MS+kinetin 8 mg/L. and F: MS+kinetin 10 mg/L,

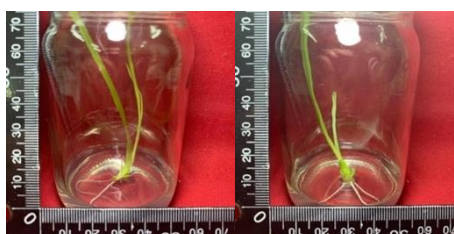


Figure 4 Plantlet of *Polianthes tuberosa* Linn. on the medium A: full MS and B: half MS

เอกสารอ้างอิง

- จันทร์วิภา บุญอินทร์, ศาสลักษณ์ พรณศิริ และมณฑล จำเริญพุกภัย. ผลของ BAP, kinetin และ TDZ ต่อการเจริญเติบโตของใบสีทองในสภาพปลอดเชื้อ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ภาควิชาวนวัฒนวิทยา. คณะวนศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ; มปป. 2558; หน้า 553-558
- ธนิดา แซ่ลิ้ม และปิยะมาศ ศรีรัตน์. ผลของซูโครสและไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณยอดของขมิ้นอ้อย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 2558; 46(3)พิเศษ:721-724.
- พิสุทธิ พวงนาค. ผลของไคเนตินที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดสลัดน้ำ. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์. 2560; 17(1):99-108.
- พันทิพา ทิราม และขวัญเดือน รัตน. การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นใหม่ของข้าวเจ้าหอมนิล. วารสารแก่นเกษตร. 2560; 45(1)พิเศษ:1052-1059.
- มณฑล สงวนเสริมศรี, วารุต อยู่คง, และภพแก้ว พุทธิรักษ์. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนของบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารนเรศวรพะเยา. 2556; 4(2):17-21.
- เยาวพา จิระเกียรติกุล และ ขวัญจิตต์ บุญหา. การเพิ่มจำนวนต้นและชักนำรากในสภาพปลอดเชื้อของต้นสร้อยสายเพชร (*Clerodendrum wallichii*). วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2552; 17(3):61-67.
- รังสฤษฎ์ กาวีตะ. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ: หลักการและเทคนิค. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ; 2540; 219 หน้า.
- วราภรณ์ ฉุยฉาย, พรณิชาดิษฐ์ และชนิษฐา สมตระกูล. ผลของกรดแนฟทาลีนอะซีติกและเบนซิลอะดีนีนต่อความเป็นพิษของฟลูออรีนและฟลูออแรนทีนในข้าวเจ้าพันธุ์ กข 47. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 2557; 31(1):1-12.
- สำนักงานส่งเสริมและการฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ซ่อนกลิ่นไทย [ออนไลน์] มปป. [อ้างเมื่อ 7 ธันวาคม 2563] จาก <http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/flower/tuberosa.pdf>.
- Datta S. K. Breeding of Ornamentals: Tuberose (*Polianthes tuberosa*). CSIR-National Botanical Research Institute. India. Current Science. 2017; 113(7):1255-1263.
- Pohare M. B., B. S. Batule, S. A. Bhor, S. B. Shahakar, S. K. Kelatkar and S. P. Varandani. Effect of Gamma Radiations on the Morphological Characters in in Vitro Regenerated *Polianthes tuberosa*. Indian Horticulture Journal. 2013; 3(3/4):95-97.
- Prakash, E., P.S. Sha Valli Khan and P. Sairam Reddy. Regeneration of plants from seed-derived callus of *Hybanthus enneaspermus* L. Muell., a rare ethnobotanical herb. J Plant Cell Reports. 1999; 18(10):873-878.
- Ranchana P. and M. Kannan. Studies on hybridization in Tuberose (*Polianthes tuberosa*). International Quarterly Journal of Life Sciences. 2016; 11(4):3007-3010.