

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ
2. โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาหน้าวัว
- กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์หน้าวัวในเชิงการค้า
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) การพัฒนาการขยายพันธุ์หน้าวัวโดยไม่ผ่านขั้นตอนการเกิดแคลลัส
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Development of anthurium species without going through
The process of callus
4. คณะผู้ดำเนินงาน
- หัวหน้าการทดลอง นายสุเมธ อ่องเภา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง
- ผู้ร่วมงาน นายสากล มีสุข ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง
- นางกัลยา เกษะกลาง ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง
- นายอดุลย์ ชัดสีใส ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง
- นายเดชา ยอดอุทา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง
- นางประภัสสร กาวิลตา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง
- นายสุเทพ กาวิลตา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง
- นางสาวนันท์ อารีรักษ์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง

5. บทคัดย่อ

การพัฒนาการขยายพันธุ์หน้าวัวโดยไม่ผ่านขั้นตอนการเกิดแคลลัส แบ่งเป็น 3 การทดลอง (1.) ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ในหน้าวัว สายพันธุ์ ลำปาง 2 จำนวน 10 ซ้ำ 3 กรรมวิธีประกอบด้วย 1. การเลี้ยงในอาหารเหลว 2. ระบบ TIB 3. การเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง (2.) การพัฒนาสูตรอาหารร่วมกับระบบการขยายพันธุ์หน้าวัวที่เหมาะสมในสภาพปลอดเชื้อ วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ในหน้าวัว สายพันธุ์ HC 028 กรรมวิธีประกอบด้วย จำนวน 10 ซ้ำ 11 กรรมวิธี ดังนี้ 1. ระบบแพลอย+ต้นจากอาหารแข็ง +KI 2. ระบบแพลอย+ไม่ผ่านแคลลัส+KI 3. อาหารแข็ง+ต้น BIO 4. อาหารแข็ง+ต้น BIO +KI 5. อาหารแข็ง+ไม่ผ่านแคลลัส+KI 6. ระบบแพลอย+ต้นBIO+ไคโตซาน 7. ระบบแพลอย+ต้นจากอาหารแข็ง+ ไค

โตซาน 8. ระบบเพลอย+ไม่ผ่านแคลล์ส+KI +ไคโตซาน 9. อาหารแข็ง+ต้นBIO +ไคโตซาน 10. อาหารแข็ง+ต้นจากอาหารแข็ง+KI+ไคโตซาน 11. อาหารแข็ง+ไม่ผ่านแคลล์ส+KI+ไคโตซาน (3.) ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน TDZ และ IBA ที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์หนั้วที่ไม่ผ่านแคลล์ส วางแผนการทดลองแบบ วางแผนการทดลองแบบ 4x2 Factorial in CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัย A ฮอร์โมน TDZ ระดับความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 1.5 ppm. ปัจจัย B ฮอร์โมน IBA ความเข้มข้น 0 และ 2 ppm. ในหนั้ว สายพันธุ์ลำปาง 2 จำนวน 10 ซ้ำ โดยมีรายละเอียดของผลในแต่ละการทดลอง ดังนี้ 1. ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นหนั้วในสภาพปลอดเชื้อเมื่ออายุได้ 8 เดือน ระหว่าง อาหารเหลว : TIB : อาหารแข็ง มีอัตราเพิ่มขยายเพิ่มขึ้นระหว่าง 4 : 1.7 : 2 เท่าจากเดิม โดยการวิเคราะห์น้ำหนักต่อต้นเมื่ออายุ 6 เดือน พบว่า ระบบ Bio จะมีน้ำหนักต้นมากที่สุด เฉลี่ย 0.41 กรัม แตกต่างทางสถิติกับอาหารเหลว มีน้ำหนักต้นหนั้วน้อย เฉลี่ย 0.04 กรัม 2. ระบบอาหารแข็ง ใช้ KI ร่วมกับ ไคโตซาน ระบบอาหารแข็งกับใช้ KI มีน้ำหนักต้นมากที่สุด เฉลี่ย 0.145 และ 0.143 กรัม แตกต่างทางสถิติ การเลี้ยงในระบบเพลอยใช้ต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบBIO ชุมพร ร่วมกับการใช้ไคโตซาน และการเลี้ยงในระบบเพลอย ไม่ผ่านแคลล์ส ใช้KI ร่วมกับ ไคโตซาน ซึ่งมีน้ำหนักต้นเฉลี่ย 0.012 และ 0.033 กรัม ตามลำดับ 3. การขยายพันธุ์หนั้วโดยไม่ผ่านแคลล์ส การใช้ TDZ ระดับความเข้มข้น 0.5 ppm. จะมีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นมากที่สุดโดยมี การแตกกอ 8.84 ต้น แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับไม่ใช้ TDZ ซึ่งมีผลต่อปริมาณต้นน้อยที่สุด มีการแตกกอ 3.47 ต้น เกิดปฏิกิริยาสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างฮอร์โมน TDZ และ IBA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ การใช้ฮอร์โมน TDZ ขนาด 0.5 ppm.อย่างเดียว มีการแตกกอมากที่สุด เฉลี่ย 10.75 ต้น แตกต่างทางสถิติกับ การไม่ใช้ฮอร์โมนทั้งสองชนิด ซึ่งมีจำนวนต้นน้อยที่สุด เฉลี่ย 2.52 ต้น ซึ่งจะนำสูตรอาหารที่ได้ไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร ลำปาง อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง

6. คำนำ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่อดอกกล้วยไม้ เดิมทางศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร ลำปาง ได้ขยายพันธุ์หน่อดอกและปรับปรุงพันธุ์ โดยวิธีการเพาะเมล็ดและแยกหน่อ แต่จำนวนไม่เพียงพอกับความต้องการของเกษตรกร เพื่อให้มีการขยายพันธุ์หน่อดอกได้อย่างรวดเร็ว จึงได้มาใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่ขั้นตอนการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) เติมหอริโมน 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) 0.5 ppm. ร่วมกับ BA (Benzylaminopurine) 2 ppm. (ดิเรก และคณะ, 2547) ประสบปัญหาการเกิดแคลลัสยังมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะนำไปใช้ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณ และการใช้ 2,4-D มาก ซึ่งเป็นสารในกลุ่มออกซิน มีผลทำให้เกิดการผิดปกติในขั้นตอนการแบ่งนิวเคลียส ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ (Pierek, 1976) และจากการทดลองการชักนำให้เกิดแคลลัสในหน่อดอกครั้งแรกเริ่มจาก Pierik *et al.* (1974) ได้ใช้คัพอะและชิ้นส่วนใบอ่อนมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม BA 1 มก./ล. และ NAA (Naphthaleneacetic acid) 1 มก./ล. ต่อมา ดิเรก และคณะ (2547) ได้ศึกษาสูตรอาหาร MS ดัดแปลงโดยเติมหอริโมนควบคุมการเจริญเติบโต กลุ่มออกซิน ได้แก่ (NAA (α -naphthaleneacetic acid), 2,4-D และ IBA (indole-3-butyric acid)) และกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA, และ kinetin พบว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับ การใช้ 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0.5 ppm. ร่วมกับ การใช้ BA ระดับความเข้มข้น 2 ppm. ได้ผลดีที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัส แต่จากรายงานมีการใช้หอริโมนทั้งสองชนิดในสูตรอาหาร MS ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันในหน่อดอก ได้แก่ การใช้ 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0.1 มก/ล (Hamidah *et al.*, 1995) การใช้ 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0.33 - 1 มก/ล (Kuehnle *et al.*, 1992) ร่วมกับการใช้ Ba ระดับความเข้มข้น 0.6 มก/ล สามารถเกิดแคลลัสได้ดี จากเหตุดังกล่าวจึงจำเป็นต้องทำการวิจัย ศึกษาและค้นคว้าหาวิธีให้ได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของหอริโมน BA และ 2,4-D สำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่อดอก ผลการทดลองที่ได้จะมาใช้ในการขยายพันธุ์สำหรับการคัดเลือกพันธุ์ และทดสอบพันธุ์หน่อดอกในโครงการปรับปรุงพันธุ์หน่อดอก และการขยายพันธุ์ในงานผลิตภัณฑ์พืชและปัจจัยการผลิตสำหรับเผยแพร่แก่เกษตรกรที่สนใจต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. ตู้ย่ายเนื้อเยื่อ พร้อมอุปกรณ์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2. สารเคมี ได้แก่ - Ammonium nitrate

- Potassium nitrate

- Calcium Chloride

- Potassium dihydrogen phosphate

- Boric acid

- Manganese sulfate

- Zinc sulfate

- Potassium iodide

- Sodium molybdate

- Copper sulfate

- Cobalt chloride

- Fe.Na.EDTA

- $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

- Adenine So.2Ho

- Inositol

- Ba(Benzylaminopurine), 2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid)

- Glycine

- Mioinosital

- Vitamin B6

- Vitamin B12

3. น้ำตาลทราย
4. วุ้นผง
5. หน้าวัวสายพันธุ์ HC 084
6. สมุดและชุดอุปกรณ์บันทึกข้อมูล
7. ชุดอุปกรณ์ในการบันทึกภาพ

- วิธีการ

แบ่งออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อแบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ในหน้าวัว สายพันธุ์ ลำปาง ประกอบด้วย จำนวน 10 ซ้ำ 3 กรรมวิธี ดังนี้

1. การเลี้ยงในอาหารเหลว
2. ระบบ Bioreactor ระบบ TIB
3. การเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. ได้ปลูกพันธุ์ลูกผสมลงในกระถางขนาด 6 นิ้ว และเตรียมต้นในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเตรียมในขั้นตอนชักนำให้เกิดแคลลัส จำนวน 5 สายพันธุ์ๆ ละ 50 ต้น
2. เตรียมก้อนแคลลัสในสภาพปลอดเชื้อเพื่อใช้ในการขยายแคลลัส
3. การเตรียมต้นสำหรับใช้ทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำโดยไม่ผ่านแคลลัสในระบบ TIB และในอาหารแข็ง
4. ดำเนินการทดลองตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้

การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลการเจริญเติบโตของลำต้นและใบ จำนวนวันที่เกิดต้น การแตกกอ การเกิดราก

การทดลองที่ 2 การพัฒนาสูตรอาหารร่วมกับระบบการขยายพันธุ์หน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อที่เหมาะสม โดยไม่ผ่านขั้นตอนการเกิดแคลลัส
แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ในหน้าวัว สายพันธุ์ HC 028
กรรมวิธีประกอบด้วย จำนวน 10 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ระบบแพลลอย+ต้น+KI
- กรรมวิธีที่ 2 ระบบแพลลอย+ไม่ผ่านแคลลัส+KI
- กรรมวิธีที่ 3 อาหารแข็ง+ต้น BIO
- กรรมวิธีที่ 4 อาหารแข็ง+ต้น BIO +KI
- กรรมวิธีที่ 5 อาหารแข็ง+ไม่ผ่านแคลลัส+KI
- กรรมวิธีที่ 6 ระบบแพลลอย+ต้นBIO+ไคโตซาน
- กรรมวิธีที่ 7 ระบบแพลลอย+ต้น+ ไคโตซาน
- กรรมวิธีที่ 8 ระบบแพลลอย+ไม่ผ่านแคลลัส+KI +ไคโตซาน
- กรรมวิธีที่ 9 อาหารแข็ง+ต้นBIO +ไคโตซาน
- กรรมวิธีที่ 10 อาหารแข็ง+ต้นหน้าวัว+KI+ไคโตซาน
- กรรมวิธีที่ 11 อาหารแข็ง+ไม่ผ่านแคลลัส+KI+ไคโตซาน

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. ได้ปลูกพันธุ์ลูกผสมลงในกระถางขนาด 6 นิ้ว และเตรียมต้นในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเตรียมในขั้นตอนชักนำให้เกิดแคลลัส จำนวน 5 สายพันธุ์ๆ ละ 50 ต้น
2. เตรียมก้อนแคลลัสในสภาพปลอดเชื้อเพื่อใช้ในการขยายแคลลัส
3. การเตรียมต้นสำหรับใช้ทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำโดยไม่ผ่านแคลลัส
4. ดำเนินการทดลองตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้

การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลการเจริญเติบโตของลำต้นและใบ จำนวนวันที่เกิดต้น การแตกกอ การเกิดราก

การทดลองที่ 3 ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน TDZ และ IBA ที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์หน้าวัวที่ไม่ผ่านแคลลัส

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD (Completely Randomized Design) ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัย A ฮอร์โมน TDZ ระดับความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 1.5 ppm. ปัจจัย B ฮอร์โมน IBA ความเข้มข้น 0 และ 2 ppm. ในหน้าวัว สายพันธุ์ลำปาง 2 จำนวน 10 ซ้ำ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การเตรียมต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อสำหรับใช้ทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดพุ่ม
2. ดำเนินการทดลองตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้

การบันทึกข้อมูล

- ข้อมูลการเจริญเติบโตของลำต้นและใบ ความสูงต้น ปริมาณต้นจำนวนใบ

วิเคราะห์ผลทางสถิติและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2553

สิ้นสุด 30 กันยายน 2558

สถานที่ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ของ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง ต.เวียงตาล อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การเพิ่มปริมาณแคลลัสหน้าวัวลูกผสมในอาหารเหลว อาหารแข็ง และ TIB

1. การเพิ่มปริมาณแคลลัสหน้าวัวลูกผสมในอาหารเหลว อาหารแข็ง และ TIB ซึ่งประกอบด้วยอาหารเหลว 3 ขวด อาหารแข็ง 5 ขวด และ BIO 1 ขวดๆ ละ 100 CC. หลังจากนั้น 8 เดือน มีจำนวนต้นที่สามารถย้ายต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อลงในขวดอาหารแข็ง ดังนี้ การเลี้ยงในอาหารเหลว 16 ขวด อาหารแข็ง 8 ขวด และ ระบบ BIO 3 ขวด โดยมี มีอัตราเพิ่มขยายเพิ่มขึ้น 4 : 1.7 : 2 เท่าจากเดิม

2. การวิเคราะห์น้ำหนักต่อต้นอายุ 6 เดือน พบว่า ระบบ Bio จะมีน้ำหนักต้นมากที่สุด เฉลี่ย 0.41 กรัม แตกต่างทางสถิติกับอาหารเหลว มีน้ำหนักต้นหน้าวัวน้อยมาก เฉลี่ย 0.04 กรัม และมีผลให้ ระบบ BIO มีความยาวใบ และจำนวนรากมาก เฉลี่ย 1.92 เซนติเมตร และ 4.17 ราก ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติกับอาหารเหลวที่มีความยาวใบ และจำนวนรากน้อย เพียง 0.57 เซนติเมตร และ 1.33 เซนติเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ศึกษากระบวนการขยายพันธุ์หน้าวัวในเชิงการค้า เมื่ออายุได้ 6 เดือน

กรรมวิธี	นน.ต่อต้าน (กรัม)	ความสูงต้น (ซม.)	กว้างใบ (ซม.)	ยาวใบ	ยาวราก 90	จำนวน ใบ	จำนวน ราก
1. อาหารเหลว	0.04 ^b	0.53	0.50	0.57 ^b	0.43	3.67 ^{bc}	1.33 ^b
2. อาหารแข็ง	0.23 ^{ab}	1.15	1.00	1.27 ^{ab}	1.60	5.33 ^c	3.67 ^a
3. Bioreactor	0.41 ^a	1.33	1.42	1.92 ^a	2.71	6.17 ^{bc}	4.17 ^a
CV	80.59	43.24	48.47	50.34	77.74	32.85	30.42
F-Test	*	ns	ns	*	ns	ns	**

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT
 ** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์
 * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์
 ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

การทดลองที่ 2 การขยายพันธุ์หน้าวัวโดยไม่ผ่านขั้นตอนการเกิดแคลลัส

เตรียมต้นในสภาพปลอดเชื้อ สำหรับการทดลองไม่ผ่านแคลลัส ในหน้าวัวพันธุ์ลำปาง 2 ระบบ Bubble bioreactor (แพลอย) เตรียมต้นทั้งในสภาพปลอดเชื้อ เตรียมอุปกรณ์สำหรับ ระบบ TIB การพัฒนาการขยายพันธุ์หน้าวัวโดยไม่ผ่านขั้นตอนการเกิดแคลลัส (ตารางที่ 1) การใช้ต้นในสภาพปลอดเชื้อทั้งระบบอาหารแข็งและอาหารเหลว การขยายพันธุ์ในระบบ TIB โดยไม่ผ่านแคลลัสพบว่า มีการเจริญเติบโตช้ามาก การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหารแข็ง และระบบแพลอย จากต้นที่ได้จากระบบ Bio ชุมพร ต้นจากระบบอาหารแข็ง และจากต้นที่ไม่ผ่านแคลลัส ร่วมกับการใช้ Ki และ ไคโตซาน พบว่า

1. ต้นที่ผ่านแคลลัส การเลี้ยงในระบบแพลอยใช้ต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็งร่วมกับการใช้ไคโตซานจะมีน้ำหนักมากที่สุด เฉลี่ย 0.195 กรัม แตกต่างทางสถิติกับการเลี้ยงในระบบแพลอยใช้ต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบ BIO ชุมพร ร่วมกับการใช้ไคโตซาน และการเลี้ยงในระบบแพลอย ไม่ผ่านแคลลัส ใช้ Ki ร่วมกับ ไคโตซาน ซึ่งมีน้ำหนักต้นเฉลี่ย 0.012 และ 0.033 กรัม ตามลำดับ

2. ต้นที่ไม่ผ่านแคลลัส ระบบอาหารแข็ง ใช้ Ki ร่วมกับ ไคโตซาน ระบบอาหารแข็งกับใช้ Ki มีน้ำหนักต้นมากที่สุด เฉลี่ย 0.145 และ 0.143 กรัม แตกต่างทางสถิติ การเลี้ยงในระบบแพลอยใช้ต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบ BIO

ชุมพร ร่วมกับการใช้ไคโตซาน และการเลี้ยงในระบบแพลอย ไม่ผ่านแคลลัส ใช้Ki ร่วมกับ ไคโตซาน ซึ่งมีน้ำหนักต้นเฉลี่ย 0.012 และ 0.033 กรัม ตามลำดับ

3.

ตารางที่ 2 การพัฒนาการขยายพันธุ์หน้าวัวโดยไม่ผ่านขั้นตอนการเกิดแคลลัส อายุ 6 เดือน

กรรมวิธี	หน.ต่อต้น (กรัม)		ความสูง ต้น(ซม)		กว้างใบ (ซม)		ยาวใบ		ยาวราก (ซม)		จำนวนใบ		จำนวนราก	
แพลอย + ต้น + Ki	0.168	ab	1.67	a	0.97	a	1.33	a	0.88	b	5.00	bc	4.17	a
แพลอย+ไม่ผ่านแคลลัส+Ki	0.067	cd	0.73	ef	0.67	b	0.70	b	0.00	c	3.83	c	0.00	d
อาหารแข็ง+ต้นBio	0.107	bc	1.07	cd	0.62	ab	0.92	b	2.17	a	5.50	bc	2.33	c
อาหารแข็ง+ต้นBio+Ki	0.157	ab	1.28	bc	0.88	a	1.33	a	1.27	b	5.50	bc	3.67	ab
อาหารแข็ง+ไม่ผ่านแคลลัส+Ki	0.143	ab	1.15	cd	0.97	a	1.23	a	0.98	b	4.67	c	2.67	bc
แพลอย+ต้นBio+ไคโตซาน	0.012	d	0.87	de	0.18	c	0.31	c	0.00	c	7.83	a	0.00	d
แพลอย+ต้น+ไคโตซาน	0.195	a	1.50	ab	1.10	a	1.37	a	1.22	b	6.50	ab	3.33	ac
แพลอย +ไม่ผ่านแคลลัส + Ki +ไคโตซาน	0.033	d	0.47	f	0.57	ab	0.72	ab	0.00	c	4.00	c	0.00	d
อาหารแข็ง + ต้นBio +ไคโตซาน	0.062	cd	0.75	ef	0.35	ab	0.75	b	0.97	b	7.67	a	2.67	cb
อาหารแข็ง + ต้น + Ki+ไคโตซาน	0.130	b	1.10	cd	0.98	a	1.45	a	0.82	b	5.33	bc	2.67	cb
อาหารแข็ง + ไม่ผ่านแคลลัส+Ki+ไคโตซาน	0.145	ab	1.67	cd	0.95	a	1.23	a	0.72	b	4.33	c	3.00	cb
CV	42.66		24.22		22.88		24.94		63.62		23.82		37.69	
sig	**		**		**		**		**		**		**	

การทดลองที่ 3 การขยายพันธุ์หน้าวัวโดยไม่ผ่านแคลลัส โดยการใช้ฮอร์โมน IBA ร่วมกับ TDZ

ผลของการใช้ TDZ ระดับความเข้มข้น 0.5 ppm. จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นหน้าวัว เฉลี่ยมากที่สุด ประกอบด้วย ขนาดแคลลัส 2.41 มิลลิเมตร การแตกกอ 8.84 ต้น จำนวนราก 13.45 ราก จำนวนใบ 19.58 ใบ และความสูงต้น 5.22 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับการไม่ใช้ TDZ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นหน้าวัวน้อยที่สุด ประกอบด้วย ขนาดแคลลัส 0.89 มิลลิเมตร การแตกกอ 3.47 ต้น จำนวนราก 7.62 ราก จำนวนใบ 10.44 ใบ และความสูงต้น 4.64 เซนติเมตร ตามลำดับ(ตารางที่ 3)

ผลของการใช้ IBA ระดับความเข้มข้น 2 ppm. จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นหน้าวัวเฉลี่ยมากที่สุด ประกอบด้วย จำนวนราก 12.68 ราก จำนวนใบ 16.21 ใบ และความสูงต้น 5.47 เซนติเมตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับการไม่ใช้ IBA ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นหน้าวัวน้อยที่สุด ประกอบด้วย จำนวนราก

8.52 ราก จำนวนใบ 14.78 ใบ และความสูงต้น 4.58 เซนติเมตร แต่การไม่ใช้ IBA มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยของขนาดแคลลัส 2.41 คะแนน และจำนวนต้น 7.47 ต้น โดยแตกต่างทางสถิติกับ การใช้ IBA 2 ppm. ซึ่งมีค่าเฉลี่ยน้อย โดยมีขนาดแคลลัส 1.95 คะแนน จำนวนต้น 5.00 ต้น (ตารางที่ 4)

แสดงผลของปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างฮอร์โมน TDZ และ IBA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ การใช้ฮอร์โมน TDZ ขนาด 0.5 ppm. มีการแตกกอมากที่สุด เฉลี่ย 10.75 ต้น ทำให้มีผลต่อจำนวนรากมาก เฉลี่ย 11.50 ราก จำนวนใบมากที่สุด เฉลี่ย 20.75 ใบ และความสูงต้นมาก เฉลี่ย 5.13 เซนติเมตร แตกต่างทางสถิติกับการไม่ใช้ฮอร์โมนทั้งสองชนิด ซึ่งมีจำนวนต้นน้อยที่สุด เฉลี่ย 2.52 ต้น จำนวนรากน้อยที่สุด เฉลี่ย 4.05 ราก จำนวนน้อยที่สุด 6.80 ใบ และความสูงต้นน้อยที่สุด เฉลี่ย 3.27 เซนติเมตร (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 3 ผลของระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน TDZ ต่อการเจริญเติบโตของต้นหน้าวัวอายุ 6 เดือนในสภาพปลอดเชื้อ

ระดับความเข้มข้นของ TDZ	ขนาดแคลลัส (มม.)	จ.ต้น (ต้น)	จ.ราก (ราก)	จ.ใบ (ใบ)	ความสูงต้น (ซม.)
ไม่ใช้ TDZ	0.89* C	3.47 D	7.62 C	10.44 D	4.64 B
TDZ 0.5 ppm.	2.41 A	8.84 A	13.45 A	19.58 A	5.22 A
TDZ 1 ppm.	2.41 A	6.79 B	10.95 B	17.00 B	5.02 A
TDZ 1.5 ppm.	2.25 B	5.53 C	10.33 B	15.08 C	5.18 A
CV	13.2	28.7	28.7	20.1	12.02
F – Test					
ปัจจัย A (TDZ)	**	**	**	**	**
ปัจจัย B (IBA)	**	**	**	**	**
A*B	ns	**	**	**	**

หมายเหตุ * ระดับการเจริญเติบโตของขนาดแคลลัส
 ระดับคะแนน 1 = แคลลัสขนาด 0.01 - 1 มิลลิเมตร
 ระดับคะแนน 2 = แคลลัสขนาด 1 - 2 มิลลิเมตร
 ระดับคะแนน 3 = แคลลัสขนาด 2 - 3 มิลลิเมตร
 ระดับคะแนน 4 = แคลลัสขนาด 3 - 4 มิลลิเมตร
 ระดับคะแนน 5 = แคลลัสขนาดมากกว่า 4 มิลลิเมตร

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ตาราง	ระดับความเข้มข้นของ IBA	ขนาดแคลลัส	จ.ต้น	จ.ราก	จ.ใบ	ความสูงต้น	ที่ 4
		(มม.)	(ต้น)	(ราก)	(ใบ)	(ซม.)	
	ไม่ใช้ IBA	2.41 A*	7.47 A	8.52 B	14.78 B	4.58 B	
	IBA 2 ppm.	1.95 B	5.00 B	12.68 A	16.21 A	5.47 A	
	CV	13.2	28.7	28.7	20.1	12.02	
	F – Test						
	ปัจจัย A (TDZ)	**	**	**	**	**	
	ปัจจัย B (IBA)	**	**	**	**	**	
	A*B	ns	**	**	**	**	

แสดงผลของระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน IBA ต่อการเจริญเติบโตของต้นหนั้วอายุ 6 เดือนในสภาพปลอดเชื้อ

หมายเหตุ	*	ระดับคะแนน 1 = แคลลัสขนาด 0.01 - 1 มิลลิเมตร
		ระดับคะแนน 2 = แคลลัสขนาด 1 - 2 มิลลิเมตร
		ระดับคะแนน 3 = แคลลัสขนาด 2 - 3 มิลลิเมตร
		ระดับคะแนน 4 = แคลลัสขนาด 3 - 4 มิลลิเมตร
		ระดับคะแนน 5 = แคลลัสขนาดมากกว่า 4 มิลลิเมตร

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ตารางที่ 5 แสดงผลของปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างฮอร์โมน TDZ และ IBA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของต้นหน้าวในสภาพปลอดเชื้อ

	ระดับความเข้มข้น		จ.ต้น	จ.ราก	จ.ใบ	ความสูงต้น
	TDZ (ppm.)	IBA(ppm.)	(ต้น)	(ราก)	(ใบ)	(ชม.)
	0	0	2.52 E	4.05 E	6.80 D	3.27 E
	0	2	3.45 BE	11.37 BC	14.26 C	6.08 A
	0.5	0	10.75 A	11.50 CD	20.75 A	5.13 BC
	0.5	2	6.72 C	16.72 A	18.28 B	5.32 BC
	1	0	5.74 CD	8.95 D	15.95 C	4.51 D
	1	2	7.84 B	12.95 B	18.05 B	5.54 B
	1.5	0	5.85 DC	10.60 CD	15.70 C	5.40 B
	1.5	2	5.20 D	10.05 CD	6.80 D	4.96 C
	CV		25.6	27.35	19.50	11.99
	F - Test					
หมายเหตุ	ปัจจัย A (TDZ)		**	**	**	**
	ปัจจัย B (IBA)		**	**	**	**
	A*B		**	**	**	**

ระดับคะแนน 1 = แคลลัสขนาด 0.01 - 1 มิลลิเมตร

ระดับคะแนน 2 = แคลลัสขนาด 1 - 2 มิลลิเมตร

ระดับคะแนน 3 = แคลลัสขนาด 2 - 3 มิลลิเมตร

ระดับคะแนน 4 = แคลลัสขนาด 3 - 4 มิลลิเมตร

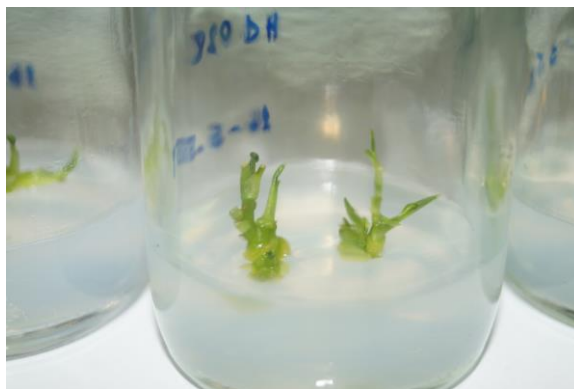
ระดับคะแนน 5 = แคลลัสขนาดมากกว่า 4 มิลลิเมตร

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



(การปักชำต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ)

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ มีอัตราเพิ่มขยายเพิ่มขึ้น 4 : 1.7 : 2 เท่าจากเดิม ส่วนการวิเคราะห์น้ำหนักต่อต้นเมื่ออายุ 6 เดือน พบว่า ระบบ Bio จะมีน้ำหนักต้นมากที่สุด เฉลี่ย 0.41 กรัม แตกต่างทางสถิติกับอาหารเหลว มีน้ำหนักต้นหน้าว้น้อยมาก เฉลี่ย 0.04 กรัม และมีผลให้ ระบบ BIO มีความยาวใบ และจำนวนรากมาก เฉลี่ย 1.92 เซนติเมตร และ 4.17 ราก ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติกับอาหารเหลวที่มีความยาวใบ และจำนวนรากน้อย เพียง 0.57 เซนติเมตร และ 1.33 เซนติเมตร ตามลำดับ

2. การพัฒนาสูตรอาหารร่วมกับระบบการขยายพันธุ์หน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อที่เหมาะสมโดยไม่ผ่านขั้นตอนการเกิดแคลลัส พบว่า ระบบอาหารแข็ง ใช้ KI ร่วมกับ ไคโตซาน ระบบอาหารแข็งกับใช้ KI มีน้ำหนักต้นมากที่สุด เฉลี่ย 0.145 และ 0.143 กรัม แตกต่างทางสถิติ การเลี้ยงในระบบแพลลอยใช้ต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบ BIO ชุมพร ร่วมกับการใช้ไคโตซาน และการเลี้ยงในระบบแพลลอย ไม่ผ่านแคลลัส ใช้ KI ร่วมกับ ไคโตซาน ซึ่งมีน้ำหนักต้นเฉลี่ย 0.012 และ 0.033 กรัม ตามลำดับ ส่วนต้นที่ผ่านแคลลัส การเลี้ยงในระบบแพลลอยใช้ต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็งร่วมกับการใช้ไคโตซานจะมีน้ำหนักมากที่สุด เฉลี่ย 0.195 กรัม แตกต่างทางสถิติกับการเลี้ยงในระบบแพลลอยใช้ต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบ BIO ชุมพร ร่วมกับการใช้ไคโตซาน และการเลี้ยงในระบบแพลลอย ไม่ผ่านแคลลัส ใช้ KI ร่วมกับ ไคโตซาน ซึ่งมีน้ำหนักต้นเฉลี่ย 0.012 และ 0.033 กรัม ตามลำดับ

3. การขยายพันธุ์หน้าวัวโดยไม่ผ่านแคลลัส โดยการใช้ฮอร์โมน IBA ร่วมกับ TDZ การใช้ TDZ ระดับความเข้มข้น 0.5 ppm. จะมีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นมากที่สุดโดยมี การแตกกอ 8.84 ต้น ขนาดแคลลัส 2.41

มิลลิเมตร จำนวนราก 13.45 ราก จำนวนใบ 19.58 ใบ และความสูงต้น 5.22 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับการไม่ใช้ TDZ ซึ่งมีผลต่อปริมาณต้นของน้อยที่สุด มีการแตกกอ 3.47 ต้น ขนาดแคลลัส 0.89 คะแนน จำนวนราก 7.62 ราก จำนวนใบ 10.44 ใบ และความสูงต้น 4.64 เซนติเมตร ปฏิกริยาสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างฮอร์โมน TDZ และ IBA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ การใช้ฮอร์โมน TDZ ขนาด 0.5 ppm. อย่างเดียว มีการแตกกอมากที่สุด เฉลี่ย 10.75 ต้น แตกต่างทางสถิติกับการไม่ใช้ฮอร์โมนทั้งสองชนิด ซึ่งมีจำนวนต้นน้อยที่สุด เฉลี่ย 2.52 ต้น

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ ทั้งหมด

12. เอกสารอ้างอิง

ดิเรก ตนพยอม ยิ่งคุณ อะทะวงษา และอนันดา ไชยรุ่งเรือง 2549. รายงานผลงานวิจัยเล่มเรื่องเต็ม
โครงการวิจัยการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตหน้าวัว กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 51 หน้า

Adelheid R. 1992 **Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium andraeanum* hybrids** Plant Cell Reports August 1992, Volume 11, Issue 9, pp 438-442

Hamidah, M.; Deberg, P.C. and Abdul-karim, A.G. 1995 Somatic Embryogenesis of *Anthurium scherzerianum* Schott. Biolographic Citation. 60(4a) : 1671-1673

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

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plantarum 15:473-497

Pierik, R.. 1976. *Anthurium andraeanum* plantlets produced from callus tissues cultivated in vitro. 1976. physiol. Plant. 37 : 80 – 82.

Pierik, R. Steegmans and J. Meys. 1974 Plantlet Formation in callus tissue of *Anthurium* Lind. Scientia horticulturae. 2 ; 193 – 198.

