การเพาะเลี้ยงดาวเรืองอเมริกัน (*Tagetes erecta* L.) ในหลอดแก้ว

In Vitro Culture of American Marigolds (*Tagetes erecta* L.)

ปิยรัตน์ บุษบงก์ไพฑูรย์

Peyarat Bussabonkpaitoon

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biological Sciences

Prince of Songkla University

2542

Order Key 24966

B.C. Key 167036

เลขหมู่ วิทยา ว๖๔

เลขทะเบียน ๒๖๔๒ ๑๐๑

๑ ๑/๕ มิ.ย. ๒๕๔๒

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเพาะเลี้ยงดาวเรืองอเมริกัน (*Tagetes erecta* L.) ในหลอดแก้ว

ผู้เขียน นางสาวปิยรัตน์ บุษบงก์ไพฑูรย์

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(ดร.อารักษ์ จันทศิลป์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.คำนูณ กาญจนภูมิ)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ดร.อารักษ์ จันทศิลป์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.คำนูณ กาญจนภูมิ)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.นพรัตน์ บำรุงรักษ์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ สดุดี)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ก้าน จันทร์พรหมมา)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเพาะเลี้ยงดาวเรืองอเมริกัน (*Tagetes erecta* L.)ในหลอดแก้ว
ผู้เขียน นางสาวปิยรัตน์ บุษบงก์ไพฑูรย์
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ
ปีการศึกษา 2542

บทคัดย่อ

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบ , ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง , ข้อ และปล้องของดาวเรืองอเมริกัน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง, พันธุ์ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และพันธุ์วานิลลา ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น อย่างละ 0.5,1,1.5 และ 2 มก/ล และในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA หรือไคเนติน ความเข้มข้น 0.5,1,1.5 และ 2 มก/ล ปรากฏว่ามีแคลลัสเกิดขึ้นจากทุกชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA เมื่อนำแคลลัสที่ได้ข้างต้นและชิ้นส่วนต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA หรือไคเนติน ไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตร MSที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าในพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง มีการเกิดยอดรวมได้ดีจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA อย่างละ 0.5 มก/ล และจากชิ้นส่วนใบที่มาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 1 มก/ล ในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง มีการเกิดยอดรวมได้ดีจากชิ้นส่วนใบที่มาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 2 มก/ล และจากชิ้นส่วนข้อที่มาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไคเนติน 1 หรือ 2 มก/ล สำหรับในพันธุ์วานิลลา สีขาว มีการเกิดยอดรวมได้ดีจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหารที่เติม BA 1.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล และจากชิ้นส่วนข้อที่มาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA 1 มก/ล จากยอดที่ได้นี้นำไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง มีการเกิดยอดรวมได้ดีจากยอดเดี่ยว ที่เกิดจากชิ้นส่วนใบที่ย้ายมาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 1 มก/ล และจากยอดเดี่ยวที่เกิดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหาร

ที่เติม BA ร่วมกับNAA อย่างละ 0.5 มก/ล ในพันธุ์วานิลลา สีขาว มีการเกิดยอดรวมได้ดีจากยอดเดี่ยวที่ได้จากชิ้นส่วนข้อที่มาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 1 มก/ล จากนั้นนำยอดที่ได้มาเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 3 สัปดาห์จะมีรากเกิดขึ้นประมาณ 10 – 30 ราก เมื่อนำยอดที่มีรากออกปลูกในดิน พันธุ์ดิสโคพเวอรี่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุดถึง 92.9 % จากต้นดาวเรืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหารสูตรที่มี BA 1.5 มก/ล

Thesis Title *In Vitro* Culture of American Marigolds (*Tagetes erecta* L.)

Author Miss Peyarat Bussabonkpaitoon

Major Program Biological Sciences

Academic Year 1999

Abstract

Leaves , hypocotyl , node and internode explants from aseptically grown seedlings of 3 varieties of American Marigolds i.e. Sovereign Gold, Discovery Yellow and Vanilla were cutured on MS culture medium supplemented with various concentrations of BA or kinetin or combinations of BA and NAA . Callus growth was observed on all explants cultured on MS medium supplemented with combinations of BA and NAA . To induce shoot formation , calli were subsequently subcultured on MS medium without growth regulators. In Sovereign Gold variety, multiple shoots regenerated from leaf-derived calli induced on MS medium with combination of BA and NAA, both at 0.5 mg/l , and directly from leaf explants previously cultured on MS medium with BA 1 mg/l. In Discovery Yellow variety , multiple shoots regenerated directly from both leaf explants previously cultured on MS medium supplemented with BA 2 mg/l and node explants on MS medium supplemented with kinetin 1 or 2 mg/l. In Vanilla variety , multiple shoots regenerated from node-derived calli induced on MS medium added with combination of BA 1.5 mg/l and NAA 0.5 mg/l and directly from node explants previously cultured on MS medium added with BA 1 mg/l.

To induce shoot proliferation , shoots obtained from different calli and explants were subcultured on MS medium without growth regurator. Shoot proliferation was observed in several treatments of plant growth regulator addition in the initial medium ; however different varieties responded to different treatments . In Discovery Yellow , multiple shoots proliferated on single shoots regenerated from leaf explants previously cultured on MS medium with BA 1 mg/l and on single shoots regenerated from node-derived calli induced on MS medium with combination of BA and NAA both at 0.5 mg/l . In Vanilla , multiple shoots proliferated on single shoots regenerated from node explants previously cultured on MS medium with BA 1 mg/l. Shoots were induced roots *in vitro* on MS medium without growth regulator. The plantlets , after rooting , were established in soil. The highest survival percentage of 92.9% was found in Discovery Yellow plantlets regenerated from leaf explants previously cultued on MS medium with BA 1.5 mg/l.

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานนี้สำเร็จได้เรียบร้อย จากการช่วยเหลือและสนับสนุนจากผู้มีพระคุณหลายฝ่ายด้วยกัน

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ ดร. อารักษ์ จันทศิลป์ ประธานกรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. คำนูณ กาญจนภูมิ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัยการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จไปด้วยความเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. นพรัตน์ บำรุงรักษ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. สายัณห์ สดุดี กรรมการสอบ ที่กรุณาแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ประสงค์ สิริพุทไธวรรณ หัวหน้าภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ซึ่งทำให้การวิจัยแสดงผลให้เห็นได้อย่างชัดเจน

และขอขอบพระคุณ พ่อ แม่ ญาติพี่น้อง เพื่อน ๆ ที่คอยให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จนเสร็จสมบูรณ์

ปิยรัตน์ บุษบงก์ไพฑูรย์

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... (3)

Abstract ..... (5)

กิตติกรรมประกาศ ..... (7)

สารบาญ ..... (8)

รายการตาราง ..... (9)

รายการภาพประกอบ ..... (11)

ตัวย่อและสัญลักษณ์ ..... (13)

บทที่

1 บทนำ 1

บทนำต้นเรื่อง 1

การตรวจเอกสาร 3

วัตถุประสงค์ 17

2 วิธีการวิจัย 18

วัสดุ 18

อุปกรณ์ 21

วิธีดำเนินการ 21

3 ผลการวิจัย 25

4 บทวิจารณ์ 54

5 บทสรุป 66

บรรณานุกรม 69

ภาคผนวก 72

ประวัติผู้เขียน 75

รายการตาราง

ตาราง หน้า

1. ขนาดแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของดาวเรืองพันธุ์ ซอฟเวอร์เรน สีทอง ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA 26
2. ขนาดแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของดาวเรืองพันธุ์ ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA 27
3. ขนาดแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของดาวเรืองพันธุ์ วานิลลา สีขาว ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA 28
4. จำนวนยอดที่ได้จากการย้ายแคลลัสจากอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAร่วมกับ NAA และจำนวนยอดที่ได้จากการย้ายชิ้นส่วนต่าง ๆ ที่ไม่เกิดแคลลัสจากอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA หรือไคเนตินไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 33
5. จำนวนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ๆ ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งยอดเดี่ยว ๆ นี้ได้มาจากการย้ายแคลลัสจากอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAAและจากการย้ายชิ้นส่วนต่าง ๆ จากอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA หรือไคเนติน ไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 34
6. เปอร์เซ็นต์การเกิดราก, จำนวนรากและเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบในอาหารสูตร MS ที่มี BAร่วมกับ NAA และอาหารสูตรที่มี BA หรือไคเนติน หลังจากเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ 35

รายการตาราง (ต่อ)

ตาราง หน้า

7. การเกิดรากและจำนวนรากจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของข้อในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA และจากชิ้นส่วนของข้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA หรือไคเนตินเป็นเวลา 3 สัปดาห์ และเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเมื่อย้ายแคลลัสและชิ้นส่วนของข้อลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 50
8. เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและจำนวนรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงและปล้องในอาหาร สูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA และอาหารสูตรที่มี BA หรือไคเนติน หลังจากเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ 51
9. เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดลักษณะปกติและยอดลักษณะเป็นใบแก้ว ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ๆ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบ ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 6 สัปดาห์ 52
10. เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง , ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และวานิลลา สีขาว ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบและข้อ เมื่อนำออกปลูกในดินเป็นเวลา 2 สัปดาห์ 53

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบ หน้า

1. ดาวเรืองที่ใช้ในการวิจัย..... 19
2. แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA 29
3. ยอดที่เจริญขึ้นจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 2 สัปดาห์ 30
4. ยอดรวม(multiple shoots) จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ที่เกิดจากแคลลัสใบ ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 6 สัปดาห์ 36
5. ยอดที่เจริญขึ้นจากชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ซึ่งชิ้นส่วนใบได้ย้ายมาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA 1 มก/ล 37
6. ยอดรวมที่มีลักษณะปกติที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ ของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 6 สัปดาห์ 38
7. แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงของดาวเรืองพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA 39
8. แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของดาวเรืองพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA 41
9. ยอดที่มีลักษณะใบแก้วที่เจริญขึ้นจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนของข้อ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 43

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ หน้า

10. ยอดลักษณะเป็นใบแก้วที่เจริญขึ้นจากชิ้นส่วนข้อของดาวเรืองพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งชิ้นส่วนข้อได้ย้ายมาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA หรือ ไคเนติน 44

11. ยอดรวมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ซึ่งเกิดจาก แคลลัส ที่ได้จากชิ้นส่วนข้อ และจากการเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนข้อโดยตรง ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 6 สัปดาห์ 46

12. แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรนในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA 48

ตัวย่อและสัญลักษณ์

BA = benzyladenine

BAP = N^6 – benzylaminopurine

DMRT = Duncan' s Multiple Range Test

GA_3 = giberellic acid

IAA = indole – 3 – acetic acid

IBA = indolebutyric acid

MS = Murashige & Skoog

NAA = α - naphthaleneacetic acid

SPSS = Statistical Package for the Social Sciences

TDZ = thidiazuron

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ดาวเรืองเป็นไม้ดอกที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ใน เม็กซิโก (Mexico) มีชื่อสามัญว่า แมรี่โกลด์ (Marigolds) พืชชนิดนี้เป็นที่นิยมกันทั่วไป เนื่องจากเป็นไม้ดอกที่ปลูกเลี้ยงง่ายสามารถปลูกได้ตลอดปี ดอกมีรูปทรงสวย สีสันสดใส และบานทนนานหลายวัน (นกเขาไฟ, 2534) สำหรับประโยชน์ของดาวเรืองนั้น นอกจากจะปลูกเป็นไม้ประดับตามอาคารบ้านเรือน ตัดดอกปักแจกัน ทำพวงมาลัย ทำไม้กระถาง (กันยา เหมพัฒน์, 2535) ยังใช้เป็นพืชสีโดยใช้เป็นสีย้อมผ้านับแต่โบราณกาลมา และกลีบดอกดาวเรืองแห้งบางพันธุ์ ซึ่งมีปริมาณแซนโทฟิล (xanthophyll) สูงๆ เมื่อใช้ผสมลงในอาหารไก่จะทำให้สีของไข่แดง , ผิวหนังของไก่ตลอดจนแข้งไก่เข้มขึ้น นอกจากนี้ดาวเรืองยังมีโปรตีนและวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของไก่อีกด้วย จึงนับได้ว่า ดาวเรืองยังมีโอกาสที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารไก่ได้ ประโยชน์อีกประการหนึ่งของดาวเรือง ก็คือการป้องกันและกำจัดไส้เดือนฝอย (nemathodes)ในดินโดยรากของดาวเรืองสามารถผลิตสารชนิดหนึ่งที่เรียกว่า แอลฟาเทอเทียนิล (α-terthienyl) ซึ่งสารนี้มีผลในการควบคุมปริมาณไส้เดือนฝอยในดินได้เป็นอย่างดี (สมเพียร เกษมทรัพย์, 2524)

ดังนั้นดาวเรืองจึงเป็นพืชเอนกประสงค์ สามารถใช้ได้สารพัดประโยชน์ แต่การส่งเสริมดาวเรืองให้เป็นพืชเศรษฐกิจจะเห็นเด่นชัดทางด้านเป็นไม้ตัดดอก เนื่องจากดาวเรืองในสายพันธุ์ชนิดต้นสูง เรียกกันทั่วไปว่า แอฟริกันแมรี่โกลด์ (African Marigolds) หรืออเมริกันแมรี่โกลด์ (American Marigolds) (กันยา เหมพัฒน์,2535) มีคุณสมบัติเหมาะที่จะเป็นไม้ตัดดอกเศรษฐกิจได้ดีมาก เพราะเป็นไม้ดอกที่ปลูกง่าย เลี้ยงง่าย โตเร็ว ปลูกได้ทุกแห่งและปลูกได้ตลอดปี ใช้เวลาในการผลิตสั้น ซึ่งสั้นที่สุดในบรรดาไม้ดอกทั้งหลายคือใช้เวลาเพียง 60-70 วัน เท่านั้น และสามารถกำหนดวันตัดดอกจำหน่ายได้

แม่นยำพอสมควร ดอกมีขนาดใหญ่ สีของดอกสดใสสะดุดตา ใช้งานได้กว้างขวาง รูปทรงดอกกลมสวย การจัดเรียงกลีบดอกเป็นไปอย่างมีระเบียบ กลีบดอกยึดติดกับฐานรองดอกแน่นไม่หลุดร่วงได้ง่าย ก้านดอกแข็งแรง อำนวยประโยชน์ในการบรรจุหีบห่อ และขนส่งได้เป็นอย่างดีมีอายุการใช้งานานมาก ในสภาพธรรมดาอยู่ได้ 5-7วัน ถ้าใช้สารเคมีช่วยจะอยู่ได้ประมาณ 10 วัน และเนื่องจากดาวเรือง มีลักษณะของดอกและการใช้งานเช่นเดียวกับเบญจมาศทุกประการ จึงใช้แทนเบญจมาศได้ในทุกกรณี เป็นเหตุให้ซื้อง่ายขายคล่องยิ่งขึ้น อีกทั้งชื่อของดาวเรืองยังเป็นมงคลนามจึงนิยมใช้ในงานต่างๆ (สมเพียร เกษมทรัพย์, 2524) ราคาซื้อขายในตลาดปัจจุบันนี้ คือ ดาวเรืองตัดดอกซื้อขายกันดอกละ 8-10บาท ดาวเรืองที่ใช้ร้อยมาลัยซื้อขายกันในราคา 300-400 บาท ต่อ100 ดอก ด้วยเหตุนี้ดาวเรืองจึงเป็นพืชที่สามารถทำรายได้ให้กับผู้ปลูกได้ดีมาก

แม้ว่าดาวเรืองจะเหมาะสำหรับเป็นไม้ตัดดอกเศรษฐกิจมากก็ตาม แต่พันธุ์ดาวเรืองที่จะนำมาปลูก แล้วให้ผลคุ้มค่า เป็นที่ต้องการของตลาดนั้น เป็นพันธุ์ดาวเรืองลูกผสมที่เกษตรกรไม่สามารถผลิตพันธุ์ได้เอง เพราะดอกเป็นหมัน ไม่มีเกสรตัวผู้จึงไม่มีเมล็ด ต้องสั่งเมล็ดมาจากสหรัฐอเมริกา ในราคาที่แพงมาก (ปิยะนุช จันทร์เพ็ญ,2526) ซึ่งปัจจุบันขายกันในราคา 70 บาท ต่อ100 เมล็ด (บริษัทเอเชี่ยนฟาร์มแมนเนจเมนท์ จำกัด, 2539)

เมื่อขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดไม่ได้ เกษตรกรจึงอาจใช้วิธีปักชำยอด แต่ปริมาณที่ได้จะน้อยมาก เมื่อเทียบกับการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด และขนาดของดอกอาจจะเล็กลงบ้าง (กันยา เหมพัฒน์, 2535) จึงต้องหาวิธีการแก้ปัญหาเรื่องการขยายพันธุ์ดาวเรืองให้เกษตรกร วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน วิธีนี้สามารถขยายพันธุ์พืชให้ได้จำนวนมากๆได้ในระยะเวลาอันสั้น และลักษณะของพืชที่ได้ก็จะเหมือนกันหมดเพราะมาจากต้นเดียวกัน (อรดี สหวัชรินทร์, 2522) เกษตรกรสามารถลดต้นทุนจากการซื้อเมล็ดพันธุ์ดาวเรือง และสามารถปลูกพันธุ์ที่ตลาดต้องการได้ ดังนั้นจึงได้ใช้วิธีขยายพันธุ์ดาวเรืองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อแก้ปัญหาให้กับเกษตรกร

การตรวจเอกสาร

ดาวเรืองมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tagetes spp.* อยู่ในวงศ์ (family) คอมโพสิเตอี้ (Compositae) (กันยา เหมพัฒน์ , 2535) ซึ่งพืชที่อยู่วงศ์เดียวกันกับดาวเรืองนี้มีมากมาย ที่รู้จักกันทั่วไป ได้แก่ ดาวกระจาย, เบญจมาศ และ บานชื่น เป็นต้น (วิชัย อภัยสุวรรณ , 2532) ดาวเรืองเป็นไม้ดอกอายุสั้น ลำต้นสูงประมาณ 2-4 ฟุต ดอกมีลักษณะเป็นแบบเฮด (head) มีทั้งดอกซ้อนและไม่ซ้อน มีสีต่างๆ เช่น ส้ม เหลือง แสด ใบและกิ่งก้านมีกลิ่นเหม็น แต่ในปัจจุบันดาวเรืองพันธุ์ใหม่ๆ ใบและกิ่งก้านจะมีกลิ่นเหม็นน้อยลง (กันยา เหมพัฒน์ , 2535) ดาวเรืองมีเมล็ดขนาดใหญ่ ปลูกง่าย งอกเร็ว ต้นโตเร็ว ให้ดอกเร็ว ออกดอกดก และออกดอกตลอดปี ดอกบานได้นานพอสมควรและต้นก็แข็งแรง ไม่ค่อยมีโรคหรือแมลงรบกวน (นันทิยา สมานนท์ , 2535) ปลูกง่ายในดินเกือบทุกชนิด เป็นพืชที่มีความทนต่อสภาพความแห้งแล้งได้ดี (วิชัย อภัยสุวรรณ , 2532)

ชนิดของดาวเรือง

ดาวเรืองที่พบเห็นและปลูกอยู่ในปัจจุบันมี 5 ชนิด คือ

1. ดาวเรืองอเมริกัน (American Marigolds หรือ African Marigolds หรือ Friendship Marigolds) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tagetes erecta* L.
2. ดาวเรืองฝรั่งเศส (French Marigolds) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tagetes patula* L.
3. ดาวเรืองทริพลอยด์ (Triploid Marigolds) เป็นลูกผสมที่เกิดจาก *Tagetes erecta* L. ซึ่งมีโครโมโซม 2 ชุด (diploids) กับ *Tagetes patula* L. มีโครโมโซม 4 ชุด (tetraploids) ลูกผสมที่ได้มีโครโมโซม 3 ชุด (triploid) การผลิตเมล็ดพันธุ์ที่มีโครโมโซม 3 ชุดนี้ ค่อนข้างซับซ้อนมีขั้นตอนมาก แต่ลูกผสมที่ได้จะออกดอกเร็วกว่า และดอกบานทนนานกว่า เพราะดอกที่ได้จะเป็นหมัน (sterile) ไม่ติดเมล็ด จึงทำให้เมล็ดมีราคาแพง

4. ดาวเรืองพันธุ์ซิกเนต (Signet Marigolds) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tagetes tenuifolia pumila* หรือ *Tagetes signata pumila* นิยมปลูกมากในยุโรป มีพุ่มต้นเตี้ย ประมาณ 7 - 10 นิ้ว กลีบดอกชั้นเดียว ขนาดดอกเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลางไม่ถึง 1 นิ้ว ส่วนมากปลูกเป็นขอบแปลงหรือในสวนหิน

5. ดาวเรืองใบ (Foliage Marigolds)มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tagetes filifolia* เป็นดาวเรืองใบ มีใบสวยงามมาก พุ่มต้นแน่น เหมาะสำหรับปลูกประดับขอบแปลง

ดาวเรืองทั้ง 5 ชนิด เป็นที่รู้จักคุ้นเคย แต่มี 2 ชนิด เท่านั้นที่นิยมปลูกกันทั่วโลก ดาวเรืองชนิดนี้ คือ ดาวเรืองอเมริกัน (American Marigolds) และ ดาวเรืองฝรั่งเศส (French Marigolds) (สมเพียร เกษมทรัพย์ , 2525)

ดาวเรืองอเมริกัน

แต่เดิมขึ้นอยู่ตามป่าทางตะวันตกเฉียงใต้ของอเมริกาใต้ ชาวสเปนชื่อ Hernando Cortez เป็นผู้นำดาวเรืองพื้นเมืองจากเม็กซิโกไปสเปน ตั้งแต่ ค.ศ. 1520 แต่ไม่ได้รับความสนใจ ต่อมาพวกแขกมัวร์ (Moore) นำดาวเรืองไปปลูกที่แอฟริกาเหนือ แล้วมีผู้นำจากแอฟริกากลับไปยังยุโรปอีก จึงเรียกดอกไม้ชนิดนี้กันว่า ดาวเรืองแอฟริกัน (African Marigolds) แต่เนื่องจากถิ่นเดิมจริงๆอยู่ในอเมริกา จึงเรียกว่า ดาวเรืองอเมริกัน (American Marigolds) ด้วย

เมื่อ 70 กว่าปีมานี้ ได้มีการปรับปรุงพันธุ์ดาวเรือง ให้มีต้นเตี้ยกะทัดรัด และมีดอกดก เพื่อใช้ประดับในแปลง ปัจจุบันนี้ดาวเรืองอเมริกันมีสีเหลือง ส้ม ทองและมีสีขาวด้วย ดอกมีกลีบซ้อนกันแน่น ขนาดดอกใหญ่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 นิ้ว ความสูงของต้นมีตั้งแต่ 10 - 40 นิ้ว

ดาวเรืองอเมริกันจัดแบ่งตามความสูงมีดังนี้คือ

พันธุ์เตี้ย ได้แก่ชุด Crush ความสูง10 - 14 นิ้ว มีชื่อพันธุ์ตามสีของผลไม้ เช่น มะละกอ สับปะรด ฟักทอง และพันธุ์สีคละของผลไม้ทั้งสามชื่อ Guys and Dolls ชุด Discovery มีความสูง 8 - 10 นิ้ว มีพันธุ์สีเหลือง ส้ม และทอง ต้นเตี้ยมากและดอกซ้อนขนาดใหญ่ 4 นิ้ว

พันธุ์สูงปานกลาง ความสูง 14 - 16 นิ้ว ได้แก่ชุด Space Age ได้แก่ Voyager, Apollo , Viking และ Moonshot

พันธุ์สูง ความสูง 16 - 30 นิ้ว ได้แก่ พันธุ์ Galore , Jubilee , Lady และ Perfection

พันธุ์สูงมาก ความสูง 30 - 36 นิ้ว เหมาะสำหรับทำไม้ตัดดอก ได้แก่ชุด Gold Coin เช่น Double Eagle สีส้มอ่อน Doubloon สีเหลือง และ Sovereign สีทอง ดอกของชุดนี้มีขนาด 3.5 - 4.5 นิ้ว พันธุ์ Climax มีสีเหลืองอ่อน สีเหลืองสด สีทอง และสีส้มแก่ ขนาดดอก 4 - 5 นิ้ว พันธุ์ผสมเปิด ได้แก่พันธุ์ Crackerjack เมล็ดราคาถูกมีสีต่างๆ เช่น สีครีม เหลืองสด สีทอง และ สีส้ม ต้นสูง 36 นิ้ว ขนาดดอก 3.5 - 4 นิ้ว

เป้าหมายของการผสมพันธุ์ดาวเรืองอเมริกันนั้น ต้องการต้นเตี้ย ดอกซ้อนแน่น ก้านดอกแข็งแรงเพื่อให้รับน้ำหนักดอกได้ดี มีทรงต้นสม่ำเสมอ และให้ดอกเร็วขึ้น

ดาวเรืองขาว เป็นดาวเรืองอเมริกันอีกชนิดหนึ่ง ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งทำได้ยาก เนื่องจากสีขาวเป็นลักษณะด้อย และในด้านพันธุกรรมเข้าใจว่าลักษณะสีขาวของดอกถูกควบคุมโดยยีนส์มากคู่ โอกาสที่ยีนส์ทุกคู่จะแสดงออกพร้อมกัน ในลักษณะด้อยนั้นมีน้อยมาก แต่ก็ได้มีการทำได้สำเร็จแล้ว

ดาวเรืองฝรั่งเศส

เป็นไม้พื้นเมืองจากทวีปอเมริกาเหนือไปจนถึงอเมริกาใต้ พวกลี้ภัย Huguenot ในประเทศฝรั่งเศสเป็นผู้นำดาวเรืองชนิดนี้เข้าไปในอังกฤษ จึงเรียกกันว่า ดาวเรืองฝรั่งเศส

ดาวเรืองฝรั่งเศส เป็นดาวเรืองต้นเล็ก สูงประมาณ 6 - 12 นิ้ว ต้นเป็นกอเตี้ย ให้ดอกเร็ว และดอกดกกว่าดาวเรืองอเมริกัน มีสีมากกว่าด้วยคือ มีสีเหลือง ส้ม ทอง น้ำตาลอมแดง และสีแดง บางพันธุ์มีสองสีในดอกเดียวกัน เช่น พื้นกลีบสีเหลืองใจกลางดอกสีน้ำตาลแดง ดอกมีขนาดเล็กประมาณ 1.5 นิ้ว นิยมใช้ปลูกประดับในแปลงมากกว่าใช้เป็นไม้ตัดดอก เนื่องจากมีก้านดอกสั้น

ตัวอย่างพันธุ์ดาวเรืองฝรั่งเศส

ดอกชั้นเดียว ขนาดดอก 1.5 - 2 นิ้ว ได้แก่ Red Marietta สีน้ำตาลแดง ริมกลีบเป็นสีทอง สีสดและบานได้นาน Naughty Marietta สีหลืองทอง มีแต้มสีแดงตรงใจกลางดอก.

ดอกซ้อน ได้แก่ Double Petites มีสีส้ม สีเหลือง และ สีคละ Janie สีทอง ให้ดอกเร็วมาก ขนาดดอก1.5 -1.75 นิ้ว Queen Sophia ดอกแบน กลีบกว้าง สีน้ำตาลแดงมีแต้มสีเหลืองที่ปลายกลีบ Scarlet Sophia ดอกสีน้ำตาลแดงขลิบริมกลีบเป็นเส้นเล็กๆสีทอง ถ้าอากาศเย็นสีแดงจะยิ่งชัด ถ้าอากาศร้อนสีแดงจะเหลือน้อยเห็นสีเหลืองสดชัด ดอกมีขนาด 2.5 - 2.75 นิ้ว Golden Gate ดอกใหญ่ 3 นิ้ว ดอกสีเหลืองทอง มีสีน้ำตาลแดงที่โคนกลีบ ต้นสูง 9 นิ้ว (นันทิยา สมานนท์ , 2535)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาวเรืองและพืชในวงศ์คอมโพสิเตอี้ (Compositae) ได้แก่ เยอบีร่า , เบญจมาศ , ทานตะวัน และ คาร์เนชั่น มีดังนี้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาวเรือง

Kothari และ Chandra (1984) ได้ศึกษาการชักนำต้นจากใบของดาวเรืองแอฟริกัน (*Tagetes erecta* L.) โดยจะต้องมีการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนของใบก่อน อาหารที่ใช้ในการชักนำแคลลัสนั้นเป็นอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1 ,3 และ 5 มก/ล เมื่อเพาะเลี้ยงไปได้ 6 วัน จะมีแคลลัสเกิดขึ้นตรงรอยตัดและขอบของใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารทุกสูตร ต่อมาในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงจะมียอดเกิดขึ้นจากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี BA 3 และ 5 มก/ล ร่วมกับ IAA 1, 3 และ 5 มก/ล จากนั้นทุก ๆ 14 วัน จะย้ายแคลลัสที่มียอดเกิดขึ้นนี้ลงในอาหารสูตรเดิม พบว่าอาหารที่มี BA 3 มก/ล ร่วมกับ IAA 1 มก/ล จะมีการเพิ่มจำนวนยอดจากแคลลัสนี้ได้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลามากกว่า 2 ปี แต่ยอดจะมีขนาดเล็ก ปล้อง (internode) จะไม่ยาวขึ้น การทำให้ยอดยืดยาวนั้น จะย้ายยอดที่ได้ลงในอาหารที่มี BA 2 มก/ล ร่วมกับ GA_3 0.5 มก/ล ภายใน 14 วัน จะมีการเจริญของยอดและปล้องยืดยาวขึ้น เมื่อได้ยอดที่ยืดยาวแล้วก็จะ

นำมาชักนำรากโดยตัดยอดนั้น ๆ มาวางบนกระดาษกรองที่ทำเป็นสะพานแช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่มี IBA 0.5 มก/ล ร่วมกับ GA_3 0.5 มก/ล ภายใน 7 วัน จะมีรากเกิดที่โคนของยอด และใน 18 วัน จะได้ต้นที่มีการเจริญของรากและยอดที่สมบูรณ์ ต้นที่ได้นี้จะย้ายไปยังอาหารเหลวสูตร MS ที่มีระดับของสารควบคุมการเจริญเติบโตเท่าเดิม แต่ไม่มีน้ำตาล และยังใช้วิธีการวางต้นลงบนกระดาษกรองที่ทำเป็นสะพานเหมือนเดิม ต่อมาจึงย้ายต้นที่ได้นี้ลงปลูกในดิน มีการรอดชีวิต 20%

ในการชักนำยอดจากชิ้นส่วนของดาวเรืองนี้ ระหว่างการเพาะเลี้ยงมักจะมีการปล่อยสารสีน้ำตาลออกจากรอยตัดของชิ้นส่วนและแคลลัส ซึ่ง Berlamino และคณะ (1992) ได้ศึกษาวิธีการป้องกันการปล่อยสารสีน้ำตาลนี้ ควบคู่ไปกับการชักนำยอดจากใบและลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง ของดาวเรืองแอฟริกัน และได้พบวิธีที่ดีกว่าการเติมผงถ่าน (activated charcoal) ลงไปในอาหารสำหรับเพาะเลี้ยง นั่นก็คือการนำชิ้นส่วนที่จะเพาะเลี้ยงแช่ไว้ในวิตามินซี (ascorbic acid) 1.0% เป็นเวลา 1 นาที ก่อนที่จะวางชิ้นส่วนนั้นลงบนอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งทำให้ไม่มีการปล่อยสารสีน้ำตาลจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงเลย การเพาะเลี้ยงใบและลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง ในการศึกษานี้ได้ตัดชิ้นส่วนมาจากต้นดาวเรืองที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้ออายุ 3 สัปดาห์ วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.2,0.5,1, 2 และ 5 มก/ล เป็นเวลา 3 สัปดาห์ สำหรับชักนำแคลลัส พบว่ามีแคลลัสเกิดขึ้นจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารทุกสูตร ยกเว้นชิ้นส่วนของใบไม่มีแคลลัสเกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA 2 มก/ล ร่วมกับ BA 5 มก/ล จากนั้นจะย้ายแคลลัสที่ได้ไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อชักนำยอด จะทำการย้ายแคลลัสลงอาหารใหม่ทุก ๆ1 สัปดาห์ ปรากฏว่าแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนของใบไม่มียอดเกิดขึ้น มีแต่รากเท่านั้น แต่ก็มีจุดกำเนิดยอด (green spots) เกิดขึ้นจากแคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรที่มี NAA 0.2 มก/ล ร่วมกับ BA 2 และ 5 มก/ล สำหรับชิ้นส่วนของ

ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง พบว่ามียอดเกิดขึ้นจากแคลลัสที่เกิดจากอาหารสูตรที่มี NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 1 และ 2 มก/ล และ NAA 1 มก/ล ร่วมกับ BA 0.5 และ 1 มก/ล จากการย้ายแคลลัสลงอาหารสูตรชักนำยอดจะมีรากเกิดขึ้นทุกสูตรอาหาร นอกจากการใช้ชิ้นส่วนของใบและลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงของดาวเรืองแอฟริกันมาชักนำยอดแล้วยังมีการนำเอา

ปลายยอดของดาวเรืองฝรั่งเศส พันธุ์ Aurelar yellow มาชักนำให้เกิดยอดรวม โดยการนำปลายยอดของดาวเรืองจากต้นดาวเรืองที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 3 สัปดาห์ มาตัดให้มี ความยาว 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA 1, 2 และ 3 มก/ล ไคเนติน 1 , 2 และ 3 มก/ล และ BA ร่วมกับ ไคเนติน อย่างละ 1 , 2 และ 3 มก/ล ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 45 วัน พบว่าอาหารที่มี BA 1 มก/ล ร่วมกับ ไคเนติน 3 มก/ล ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 7.2 $\pm$ 1.3 ยอด นอกจากนี้ยังได้มีการเพาะเลี้ยงปลายยอดลงในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA ด้วย โดยใช้ BA และ NAA ความเข้มข้น 0.5 , 1 , 1.5 และ 2 มก/ล ปรากฏว่าเมื่อเพาะเลี้ยงไปได้ 30 วัน มีแคลลัสเกิดขึ้นจากทุกสูตรอาหาร และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 30 วัน มียอดเกิดขึ้นจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงปลายยอดในอาหารที่มี BA 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นจำนวนยอด 3 ยอด จาก 2 ชิ้นส่วนเท่านั้น และจากอาหารที่มี BA 1.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นจำนวน 2 ยอดจาก 2 ชิ้นส่วน ยอดที่ได้ทั้งหมดจะนำไปชักนำรากโดยใช้อาหารสูตร MS ที่มี NAA 0 ,0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1, 2 และ 3 มก/ล อาหารที่มี NAA 0.3 มก/ล ทำให้มีจำนวนรากมากที่สุด 8.4 $\pm$ 1.14 รากต่อยอด และอาหารที่มี NAA 0.7 มก/ล ก็ให้จำนวนราก 8.4 $\pm$ 2.97 รากต่อยอด แต่อาหารสูตรดังกล่าวนี้ จะทำให้มีแคลลัสเกิดขึ้นที่รากด้วย อาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตจะทำให้รากยืดยาวได้ดีมีความยาวรากสูงที่สุด 12.0 $\pm$ 2.55 เซนติเมตร และไม่มีแคลลัสเกิดขึ้น ในการศึกษานี้ได้ใช้อาหารที่มี IAA 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1, 2 และ 3 มก/ล ในการชักนำรากด้วย ปรากฏว่าในทุกสูตรอาหารมีแคลลัสเกิดขึ้น และอาหารสูตรที่มี IAA 0.3 มก/ล จะทำให้ได้จำนวนรากสูงสุด 10.2 $\pm$ 1.79 รากต่อยอด (วัชรสุดา หวลกะสิน , 2538)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเยอบีร่า

จากการศึกษาของ Meyer และ Van Staden (1988) ได้ใช้ เคพิทูลัม (capitulum) และตาข้าง (axillary buds) ของเยอบีร่า (*Gerbera aurantiaca*) มาชักนำให้เกิดยอด

โดยใช้อาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0.02 , 0.1 , 0.2 , 1 และ 2 มก/ล ซึ่งการเพาะเลี้ยงเคพิทูลัมมีการเกิดยอดจากอาหารที่มี BA 1 มก/ล เพียงสูตรเดียว และมียอดเกิดขึ้นเพียง 6 ยอดเท่านั้นจาก 1 ชิ้นส่วนของ 20 ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนส่วนใหญ่นั้นตายหลังจากมีการปล่อยสารสีน้ำตาล (browning) สำหรับยอดที่ได้จะมีสีเขียว แต่จะไม่มีการเจริญและตายหลังจากการย้ายลงอาหารใหม่สูตรเดิมเพียง 3 ครั้ง ส่วนการเพาะเลี้ยงตาข้างนั้นมีการเกิดยอดในอาหารที่มี BA 1และ 2 มก/ล มีเปอร์เซนต์การเกิดยอดคือ 90 $\pm$ 15 และ 95 $\pm$ 10 % ตามลำดับ ยอดที่ได้จากอาหารที่มีความเข้มข้น BA ต่ำกว่า 2 มก/ล จะมีลักษณะอวบน้ำค่อนข้างโปร่งใส (vitrified) นอกจากนี้ยังได้เพาะเลี้ยงตาข้างลงในอาหารที่มี BA 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.2 มก/ล ผลก็คือมีแคลลัสเกิดขึ้นและมีส่วนที่มีลักษณะคล้ายใบเกิดขึ้นจากแคลลัสนี้ แต่ไม่มียอดเกิดขึ้นในการชักนำรากจากยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตาข้างจะใช้อาหารสูตร MS ที่มี IBA ความเข้มข้น 1 และ 2 มก/ล และ NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 2 มก/ล ซึ่งพบว่ามีรากเกิดขึ้นจากอาหารทุกสูตร แต่ยอดที่มีจำนวนมากที่สุดที่มีรากเกิดขึ้น เป็นยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี IBA 2 มก/ล เมื่อยอดมีรากเป็นต้นเยอบีร่าที่สมบูรณ์ ได้นำลงปลูกในดินมีการรอดชีวิตถึง 85 % จะเห็นว่าการชักนำยอดจากเคพิทูลัมในการศึกษาข้างต้นนั้นไม่ประสบผลสำเร็จ แต่จากการศึกษาก่อนหน้านี้ โดย Laliberte และคณะ (1985)ได้ชักนำยอดจากเคพิทูลัมของเยอบีร่า (*Gerbera jamisonii*) 2 สายพันธุ์คือ Pastourelle และ Mardi ได้เป็นผลสำเร็จแล้ว โดยใช้อาหารสูตรผสมระหว่างสูตร MS และ Heller ซึ่งได้ศึกษาโดยตัดเคพิทูลัมให้เป็นชิ้นมีขนาดประมาณ 0.5 - 0.7 เซนติเมตร แต่ละชิ้นจะมีดอกเล็ก ๆ (sessile flowers) ประมาณ 25 - 40 ดอก วางชิ้นส่วนนี้บนอาหารแข็ง 2 สูตร คือ สูตร MS และสูตร Heller ที่ใช้ NaFeEDTA 25 มก/ล แทน $FeCl_3$ ใน microelement ซึ่งอาหารสูตร Heller สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสสีเหลืองอ่อนตรงบริเวณฐานรองดอกและดอกเล็ก ๆ จะมีการยืดยาวขึ้นเล็กน้อย อาหารสูตรนี้ไม่มียอดเกิดจากแคลลัส แต่ในอาหารสูตร MS มีการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนเพียงเล็กน้อย แคลลัสมีสีเหลืองอ่อนปนเขียว และหลังจากเพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา 3 เดือน มีการเจริญของดอกเล็ก ๆ อย่างเห็นได้ชัด บนแคลลัสจะมีตาเกิดขึ้น

ตานี้จะกลายเป็นยอดที่ไม่สมบูรณ์ มีลักษณะผอม เนื้อเยื่อโปร่งใสและมีส่วนคล้ายใบติดอยู่ แต่เมื่อย้ายแคลลัสลงในอาหารที่ประกอบด้วย macroelement ของ MS + Na_2EDTA + $FeSO_4 . 7H_2O$ (ทั้งหมดนี้จะลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง) ร่วมกับ microelement ของ Heller + NaFeEDTA 25 มก/ล (ใช้แทน $FeCl_3$) เติมน้ำตาลทราย 1% และ Difco Bacto agar 0.8% ซึ่งเรียกสูตรนี้ว่า one-half MSH medium ปรากฏว่ามีการเจริญของยอดจนเป็นต้นที่มีลักษณะปกติ อาหารสูตรนี้ยังทำให้แคลลัสมีสีเขียว และมีจำนวนของตาเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดยอดจากเคพิทูลัมนั้น จึงใช้อาหารสูตร one- half MSH ที่เติม BA 1, 2, 3, 5 และ10 มก/ล ร่วมกับ IAA 0.1 มก/ล พบว่าเยอบีร่าสายพันธุ์ Pastourelle มีการตอบสนองต่ออาหารที่มี BA 2 มก/ล ร่วมกับ IAA 0.1 มก/ล ได้ดี ซึ่งมีการเกิดยอดถึง 50 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วน จากวิธีการเพาะเลี้ยงดังต่อไปนี้คือ นับตั้งแต่เพาะเลี้ยงไปได้ 8 สัปดาห์ ก็จะนำเอาชิ้นส่วนมาตัดแบ่งออกเป็น 2 - 4 ชิ้น แล้วย้ายชิ้นส่วนนี้ลงไปยังอาหารใหม่สูตรเดิม ต่อจากนั้นอีก 4 สัปดาห์ ก็จะได้ยอด 2 - 4 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วนที่ตัดแบ่งมา ยอดนี้มีความยาวประมาณ 0.3 - 0.7 เซนติเมตร หลังจากนั้นตัดยอดแล้วย้ายไปยังอาหารสูตรที่มี อะดีนีนซัลเฟท (adenine sulfate) 80 มก/ล เพื่อเพิ่มจำนวนยอด เนื่องจากในการศึกษานี้ได้ศึกษาผลของสารอินทรีย์บางชนิดที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงด้วย พบว่าการเติมอะดีนีนซัลเฟท 80 มก/ล จะช่วยกระตุ้นการเจริญของยอดถึง 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่มีอะดีนีนซัลเฟท และการเติมไทโรซีน (tyrosine) 100 มก/ล ก็จะมีผลเหมือนกับการเติมอะดีนีนซัลเฟท แต่การเติมวิตามินบี 1 (thiamine- HCl) , ไมโออิโนสิทอล (myo-inositol) , นิโคตินิกแอซิด (nicotinic acid) และโซเดียมไดฟอสเฟท(sodiumdiphosphate) ในปริมาณที่ใช้ในอาหารสูตร MS หรือการเติมเคซีนไฮโดรไลเสท (casein hydrolysate) 1 ก/ล จะไม่มีผลต่อการเจริญของยอดเลย การเพาะเลี้ยงเคพิทูลัมในอาหารที่มีBA 5 หรือ 10 มก/ล ร่วมกับ IAA 0.1 มก/ล ทำให้ได้ยอดที่มีลักษณะใบไม่ปกติ คือ ใบจะมีลักษณะเรียวยาวไม่แผ่ออก ต้องย้ายไปยังอาหารที่มี BA 2 มก/ล จึงจะมีการเพิ่มจำนวนยอดและยอดมีลักษณะปกติ สำหรับเยอบีร่าสายพันธุ์ Mardi จะมีการตอบสนองต่ออาหารที่มี BA 1 มก/ล ดีที่สุด ในอาหารที่มีความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นเป็น 2 หรือ 3 มก/ล จะทำให้จำนวนยอดลดลง ในการชักนำรากจะใช้อาหาร

สูตร one-half MSH (ไม่เติมอะดีนีนซัลเฟท) ที่มี IAA ความเข้มข้น 0, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 มก/ล ปรากฏว่าอาหารทุกสูตรกระตุ้นการเกิดรากได้ 100 % และได้รากยาวระมาณ 0.5 เซนติเมตร เป็นอย่างน้อย หลังจากได้ต้นเยอบีร่าที่สมบูรณ์ก็จะย้ายลงปลูกในดิน พบว่ามีการตายน้อยกว่า 5 %

ในการชักนำยอดจากเคพิทูลัมของเยอบีร่านี้ยังมีการศึกษาโดย Steegman และ Marelis (1973) อ้างโดย สมเพียร เกษมทรัพย์ (2525) จากการใช้ดอกที่บานเต็มที่แล้วมาดึงกลีบดอกออกให้หมดจากนั้น จึงนำเคพิทูลัมซึ่งประกอบด้วยฐานรองดอก (receptacle) ขนาด 2.5 เซนติเมตร ที่ติดอยู่บนก้าน (scape) มาฟอกฆ่าเชื้อแล้วตัดแบ่งออกเป็น 4 ส่วน นำแต่ละส่วนเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Heller ที่มี IAA ร่วมกับ BA ความเข้มข้น10^{-3}มก/ล ชักนำให้เกิดแคลลัสโดยเลี้ยงไว้ในที่มืด เมื่อได้แคลลัสแล้ว จึงย้ายไปยังที่มีแสง 24 ชม./วัน ภายใน 3 สัปดาห์ จะมียอดเกิดขึ้นจากแคลลัส เมื่อยอดยาวประมาณ 3 เซนติเมตร จึงย้ายลงปลูกในดิน หลังจากนั้นจะมีรากเกิดขึ้น นอกจากนี้ ยังพบว่าการเพาะเลี้ยงเฉพาะฐานรองดอกที่ไม่มีส่วนของก้านติดอยู่จะทำให้เกิดยอดยาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของอุบลพงษ์ แสงวาณิช (2518) อ้างโดย สมเพียร เกษมทรัพย์ (2525) ที่ได้นำฐานรองดอกของเยอบีร่าพันธุ์ Thai strain มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Heller , Vacin & Went , MSและWhite ปรากฏว่ามีแคลลัสเกิดขึ้นได้ดีที่สุดในอาหารสูตร Vacin & Went และเมื่อนำแคลลัสไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Vacin & Went ที่มี ไคเนติน 10 มก/ล และอาหารสูตร MS ที่มี IAA 0.2 มก/ล ร่วมกับ ไคเนติน 10 มก/ล เพื่อชักนำยอด พบว่าอาหารสูตร Vacin & Went ที่มี ไคเนติน 10 มก/ล ทำให้ได้แคลลัสมีปริมาณและขนาดเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ พร้อมกับมีสีเขียวเกิดขึ้นดีกว่าอาหารสูตร MS แต่ไม่มียอดเกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงในอาหารทุกสูตร ในการศึกษานี้ยังได้ใช้ชิ้นส่วนอื่น ๆ ซึ่งได้แก่ ช่อดอก , ดอกย่อย, ก้านช่อดอก, ยอด, ต้นและราก ของเยอบีร่าพันธุ์ Thai strainนี้ มาเพาะเลี้ยงตามวิธีเดียวกันกับการใช้ฐานรองดอก ปรากฏว่ามีแต่แคลลัสและไม่มียอดเกิดขึ้นในทุกชิ้นส่วน แต่จากการใช้ชิ้นส่วนของยอดนั้นได้มีการศึกษาโดย Murashige และคณะ(1974) ในการใช้ปลายยอดของเยอบีร่า (*Gerbera jamesonii*) มาชักนำยอดรวมได้เป็นผลสำเร็จ โดยนำปลายยอดมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี ไคเนติน ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10

และ 20 มก/ล ปรากฏว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถเพิ่มจำนวนยอดของเยอบีร่าได้ถึง 8.9 ± 1.1 ยอดต่อ 1 ปลายยอด คืออาหารที่มี ไคเนติน 10 มก/ล แต่ได้มีการศึกษาความต้องการออกซิน (auxin) ของปลายยอดเยอบีร่าด้วย โดยใช้อาหารสูตร MSที่มี IAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1และ 2 มก/ล พบว่าออกซินจากอาหารไม่มีความจำเป็นนัก เนื่องจากยอดที่เพิ่มขึ้นจากอาหารที่มีออกซินมีจำนวนใกล้เคียงกันมากกับยอดที่เพิ่มขึ้นจากอาหารที่ไม่มีออกซิน แต่ออกซินความเข้มข้น 0.5 มก/ล ที่ใส่ในอาหารนั้นทำให้ได้ยอดที่แข็งแรง ดังนั้นอาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มจำนวนยอดของเยอบีร่าในหลอดแก้วก็คือ อาหารสูตร MS ที่มีไคเนติน 10 มก/ล และ IAA 0.5 มก/ล สำหรับการชักนำรากจากยอดที่ได้นี้จะใช้อาหารสูตรที่มี IAA 0, 0.3, 1, 3 และ 10 มก/ล เมื่อย้ายยอดลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรดังกล่าวนี้เป็นเวลา 10 วัน ก็จะย้ายยอดลงปลูกในดินรากจะเกิดขึ้นหลังจากย้ายลงดินแล้วเป็นเวลา 1 เดือน ซึ่งอาหารที่ได้จำนวนรากมากที่สุดถึง 6.3 ± 0.6 รากต่อยอด และมีการเกิดรากถึง 100 % เป็นอาหารสูตรที่มี IAA 10 มก/ล

นอกจากการนำชิ้นส่วนต่าง ๆ ของเยอบีร่ามาศึกษาดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นแล้วนั้น ยังมีการนำเอาชิ้นส่วนของใบของเยอบีร่ามาชักนำให้เกิดยอดอีกด้วย ซึ่งเป็นการศึกษาโดย Reynoird และคณะ (1993) ในการศึกษานี้ได้เพาะเลี้ยงใบของเยอบีร่า 3 สายพันธุ์ คือ เยอบีร่าลูกผสม *G. jammesonii* × *G. viridifolia* และ เยอบีร่าพันธุ์พื้นเมือง *G. viridifolia, G. piloselloides* โดยนำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติมกลูตามีน (glutamine) 100 มก/ล , อะดีนีนซัลเฟท 20 มก/ล , น้ำตาลทราย 30 ก/ล และ Difco agar 8 ก/ล หลังจากเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ ตัดปลายยอดมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมที่มีไคเนติน 0.2 มก/ล , BA 0.2 มก/ล และ IAA 0.4 มก/ล ร่วมกัน เมื่อได้ต้นเยอบีร่าในหลอดแก้ว ก็จะตัดใบที่อยู่ในระยะเจริญที่แตกต่างกัน 4 ระยะ เป็นระยะตั้งแต่ใบอ่อนจนถึงระยะที่ใบคลี่ออกเต็มที่แล้ว โดยมีความยาวใบต่างกันคือ ≤ 2, 3, 5และ ≥ 6 มม. อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นอาหารสูตรที่ใช้เพาะเมล็ดที่เติม BA 0.5, 2และ 5 มก/ล , NAA 0.1 และ 0.5 มก/ล และ TDZ 0.01 และ 0.1 มก/ล ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มี 2 ชนิดร่วมกัน และรวมกันทั้ง 3 ชนิด เพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา 30 วัน ก็จะย้ายแคลลัสไปยังอาหารสูตรที่มี

ไคเนติน 0.2 มก/ล , BA 0.2 มก/ล และ IAA 0.4 มก/ล ร่วมกัน เพื่อให้มีการเจริญของยอดเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 30 วัน จากการใช้อาหารที่มี BA ร่วมกับ NAA จะทำให้ใบที่ยังอ่อน (ขนาด $\leq$ 2 มม.) ของเยอบีร่าลูกผสมมีตาเกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงในอาหารเกือบทุกสูตร ยกเว้นสูตรที่มี BA 0.5 และ 5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล และใบที่คลี่เต็มที่แล้ว (ขนาด $\geq$ 6 มม.) จะไม่มีการเกิดตาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารทุกสูตร แต่ใบที่มีขนาด 3 และ 5 มม. มีตาเกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี BA 2 และ 5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เท่านั้น และเมื่อใช้ TDZ ร่วมกับ BA และ NAA พบว่าใบที่มีขนาด $\leq$ 2 มม.และ $\geq$ 6 มม. มีการเกิดตาจากอาหารที่มี BA 2 มก/ล , NAA 0.5 มก/ล และ TDZ 0.01, 0.1 มก/ล ร่วมกัน และใบขนาด $\leq$ 2 มม. ยังมีตาเกิดขึ้นจากอาหารสูตรที่มี NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ TDZ 0.1 มก/ล ซึ่งในอาหารที่ปราศจาก BA นี้ มีเปอร์เซนต์ของการเกิดตาสูงถึง 90.4 % และมีจำนวนตา 5.9 ตาต่อใบ เป็นจำนวนที่สูงกว่าการใช้อาหารสูตรที่มี BA ร่วมกับ NAA มาก เพราะในอาหารสูตรนี้มีจำนวนตาต่อใบสูงสุดเพียง 2.6 ตาต่อใบ เท่านั้น ในเยอบีร่าพันธุ์พื้นเมือง *G. viridifolia* ใบที่มีขนาด $\leq$ 2 มม. จะมีตาเกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล มีจำนวน 2.9 ตาต่อใบ และอาหารที่มี BA 2 มก/ล , NAA 0.5 มก/ล และ TDZ 0.01, 0.1 มก/ล ร่วมกัน ซึ่งในอาหารที่มี TDZ นี้จะทำให้จำนวนตาต่อใบเพิ่มขึ้นเป็น 3.6 ตาต่อใบ ในเยอบีร่า*G. piloselloides* ก็เช่นเดียวกันอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงใบที่มีขนาด $\leq$ 2 มม. ทำให้มีจำนวนตาต่อใบสูงกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างเห็นได้ชัดก็คือ สูตรที่มี BA 2 มก/ล , NAA 0.5 มก/ล และ TDZ 0.1 มก/ล ร่วมกัน ได้จำนวนตา 3.7 ตาต่อใบ ในขณะที่อาหารสูตรที่ไม่มี TDZ ได้จำนวนตา 1.7 ตาต่อใบเท่านั้น แต่จากการเพาะเลี้ยงใบที่มีขนาด $\geq$ 6 มม. จากทั้ง *G. viridifolia* และ *G. piloselloides* ไม่มีการตอบสนองเลย จะเห็นว่าใบที่ยังอ่อนอยู่มีการตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยง ในการชักนำให้เกิดตาได้ดีกว่าใบในระยะอื่น และสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ มีผลทำให้จำนวนตาต่อใบเพิ่มขึ้นได้ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์พื้นเมืองกับสายพันธุ์ลูกผสม สายพันธุ์ที่เป็นลูกผสมจะตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยงได้ดีกว่าสายพันธุ์พื้นเมืองมาก

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเบญจมาศ

ได้มีการนำเอาชิ้นส่วนของตา,ลำต้น และกลีบดอกของเบญจมาศมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS โดยเติม NAA 1.5 มก/ล ร่วมกับ BAP 4.5 มก/ล เลี้ยงไว้ในที่มีแสงสว่างตลอดเวลา เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เมื่อได้แคลลัสจึงย้ายแคลลัสนี้ไปยังอาหารที่มี NAA 1.5 มก/ล ร่วมกับ ไคเนติน 4 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ จึงได้ยอดจำนวนมากจากแคลลัสนั้น หลังจากนั้นจะนำยอดที่ได้ไปชักนำให้เกิดราก โดยตัดยอดลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ก็จะได้ต้นเบญจมาศที่มีรากสมบูรณ์ ต่อมาก็จะนำต้นเบญจมาศนี้ลงปลูกในวัสดุปลูกและเก็บไว้ในตู้พลาสติกที่มีระบบพ่นหมอกเป็นเวลา 3 - 4 สัปดาห์ ก่อนที่จะนำต้นเบญจมาศออกปลูกในแปลงทดลอง (สุเม อรัญนารถ , 2533)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทานตะวัน

Pugliesi และคณะ (1993) ได้ชักนำยอดจากใบเลี้ยง , ใบ และ อับเรณู ของทานตะวัน การชักนำยอดจากใบเลี้ยงได้ใช้ทานตะวัน *Helianthus tuberosus* , *H. annuus* × *H. tuberosus* และ *H. annuus* × (*H. annuus* × *H. tuberosus*) โดยใช้ต้นที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 2 วัน นำใบเลี้ยงมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี IAA 0.5, 1 และ2 มก/ล ร่วมกับ ไคเนติน หรือ BAP 1, 2และ4 มก/ล เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน มีแคลลัสเกิดขึ้นตรงรอยตัด หลังจากนั้นอีก 20 - 25 วัน ในทานตะวัน *H. tuberosus* จะมียอดเกิดขึ้นจากแคลลัส มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดจากอาหารที่มี IAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ ไคเนติน 4 มก/ล เป็นจำนวนถึง 53.1 ± 4.2 ยอด ใน*H. annuus* × *H. tuberosus* และ *H. annuus* (*H. annuus* × *H. tuberosus*) ได้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 21.4 ± 2.3 ยอด และ 21.7 ± 3.9 ยอด ตามลำดับ ต่อมาย้ายยอดไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา 40 - 45 วัน จะมีการเจริญเป็นยอดที่สมบูรณ์ สำหรับการชักนำยอดจากใบและอับเรณู ใช้ทานตะวัน *H. annuus* , *H. tuberosus* และ

H. annuus × *H. tuberosus* การชักนำยอดจากใบใช้ ใบทานตะวันอายุ 5 - 6 สัปดาห์ จากเรือนเพาะชำ นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP 0.2, 0.5, 1 และ 4 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 และ 0.5 มก/ล พบว่าการเพาะเลี้ยงใบของ *H. annuus* ได้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด จากอาหารสูตรที่มี BAP 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นจำนวน 8.0 ± 3.7 ยอด และการเพาะเลี้ยงใบของ *H. tuberosus* มียอดเกิดขึ้นจากอาหารเพียงสูตรเดียว คือ สูตรที่มี BAP 0.2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล เป็นจำนวนยอดเฉลี่ย 7.4 ± 3.1 ยอด แต่จากการเพาะเลี้ยงใบของ *H. annuus* × *H. tuberosus* ไม่มียอดเกิดขึ้นเลย ส่วนการชักนำยอดจากอับเรณูใช้อับเรณูในระยะ uninucleate มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP 0.2 และ 0.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1, 0.2 และ 0.5 มก/ล พบว่ามีแคลลัสเกิดขึ้นในทุกสูตรอาหาร ยกเว้นในอาหารสูตรที่มี BAP ร่วมกับ NAA0.2 มก/ล เท่านั้น ที่ไม่มีแคลลัสเกิดขึ้นจากอับเรณูของ *H. annuus* และ *H. tuberosus* สำหรับเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสสูงสุดได้จากอับเรณูของ *H. annuus* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี BAP 0.2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล เป็นเปอร์เซนต์ถึง 97.8 % แคลลัสที่ได้ทั้งหมดย้ายไปยังอาหารใหม่สูตรเดิม ภายใน 10 วัน หลังจากย้ายจะมีจุดกำเนิดยอดและส่วนที่คล้ายเอ็มบริโอ (embryos) สีขาวเกิดขึ้นจากแคลลัสที่ได้จากอับเรณูของ *H. annuus* × *H. tuberosus* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี BAP 0.2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล เพียงสูตรเดียวเท่านั้น ซึ่งมีเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส 90.3 % และมีการเกิดยอดเพียง 2 ชิ้นส่วนจากแคลลัส 420 ชิ้นส่วน จากนั้นได้ย้ายแคลลัสที่เกิดยอดนี้ไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงไปอีก 3 สัปดาห์ ได้ยอดที่สมบูรณ์ ซึ่งมีจำนวนยอดถึง 182 ยอด จาก 2 ชิ้นส่วนที่ย้ายมาเพาะเลี้ยง ยอดที่ได้ทั้งหมด นำมาชักนำรากโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS (half - strength MS) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และมีน้ำตาล 15 ก/ล ภายใน 20 วัน มีรากเกิดขึ้น และมีเปอร์เซนต์การเกิดรากถึง 90%

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคาร์เนชั่น

ได้มีการศึกษาการชักนำยอดจากชิ้นส่วนของใบ, ลำต้น และ กลีบดอก ของคาร์เนชั่น (*Dianthus caryophillus* L.) พันธุ์ Scania ซึ่งเป็นการศึกษาโดย Nakanoและคณะ(1994) ในการศึกษานี้ได้ใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0 และ 0.1 มก/ล ชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยง คือ ปล้อง ยาวประมาณ 3 - 5 มม. ใบตัดตามขวางให้ผ่านเส้นกลางใบ สำหรับกลีบดอกนั้นใช้กลีบดอกชั้นในทั้งกลีบ นำชิ้นส่วนทั้งหมดวางลงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตรดังกล่าว พบว่าในชิ้นส่วนของปล้องและใบ มีรากและแคลลัสเกิดขึ้นจากอาหารที่มี NAA และมีการเกิดยอดจากอาหารที่มี BA ร่วมกับ NAA แต่เปอร์เซนต์การเกิดยอดและจำนวนยอดที่ได้ต่ำมาก เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงกลีบดอก ซึ่งมีการเกิดยอดจากอาหารที่มี BA และมีการเกิดยอดสูงถึง 67 % จากอาหารสูตรที่มี BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล มีจำนวนยอดเฉลี่ย 4.7 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วน หลังจากได้ยอดแล้ว เมื่อย้ายยอดไปยังอาหารสูตร 1/2 MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ยอดก็จะยืดยาวและมีรากเกิดขึ้นที่โคนของยอด

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนต่าง ๆของดาวเรือง ซึ่งได้แก่ ใบ , ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง , ข้อ (node) และ ปล้อง (internode)
2. ศึกษาการชักนำยอดจากแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนต่าง ๆ และการชักนำยอดจากชิ้นส่วนโดยตรง
3. ศึกษาการชักนำรากจากยอดที่เกิดจากแคลลัสและชิ้นส่วนต่าง ๆ
4. ศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นดาวเรืองที่เพาะเลี้ยงได้ เมื่อนำลงปลูกในดิน

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วัสดุ

1. เมล็ดพืชทดลอง เมล็ดดาวเรืองที่ใช้ศึกษามี 3 พันธุ์ คือ

1.1 ซอฟเวอร์เรนสีทอง (Sovereign gold) เป็นดาวเรืองอเมริกันชนิดต้นสูงมาก เป็นพันธุ์ลูกผสม สูงประมาณ 90 ซม. ดอกมีสีเหลืองทอง กลีบดอกจัดเรียงซ้อนกัน ดอกมีขนาดใหญ่เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 ซม. (ภาพประกอบที่ 1A)

1.2 ดิสโคพเวอร์รี่สีเหลือง (Discovery yellow) เป็นดาวเรืองอเมริกันชนิดต้นเตี้ย เป็นพันธุ์ลูกผสม สูงประมาณ 20 - 25 ซม. ดอกมีสีเหลือง กลีบดอกจัดเรียงซ้อนกัน ดอกมีขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 - 7 ซม. (นกเขาไฟ , 2534) (ภาพประกอบที่ 1B)

1.3 วานิลลา (Vanilla) เป็นดาวเรืองอเมริกันชนิดต้นสูง เป็นพันธุ์ลูกผสม สูงประมาณ 60 ซม. ดอกมีสีขาว กลีบดอกจัดเรียงซ้อนกัน ดอกมีขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7.5 ซม. (บริษัทเอเซี่ยนฟาร์มแมนเนจเมนท์ จำกัด , 2537) (ภาพประกอบที่ 1C)

2. สารเคมีต่าง ๆ

2.1 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร MS (ตารางภาคผนวกที่ 1)

2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่

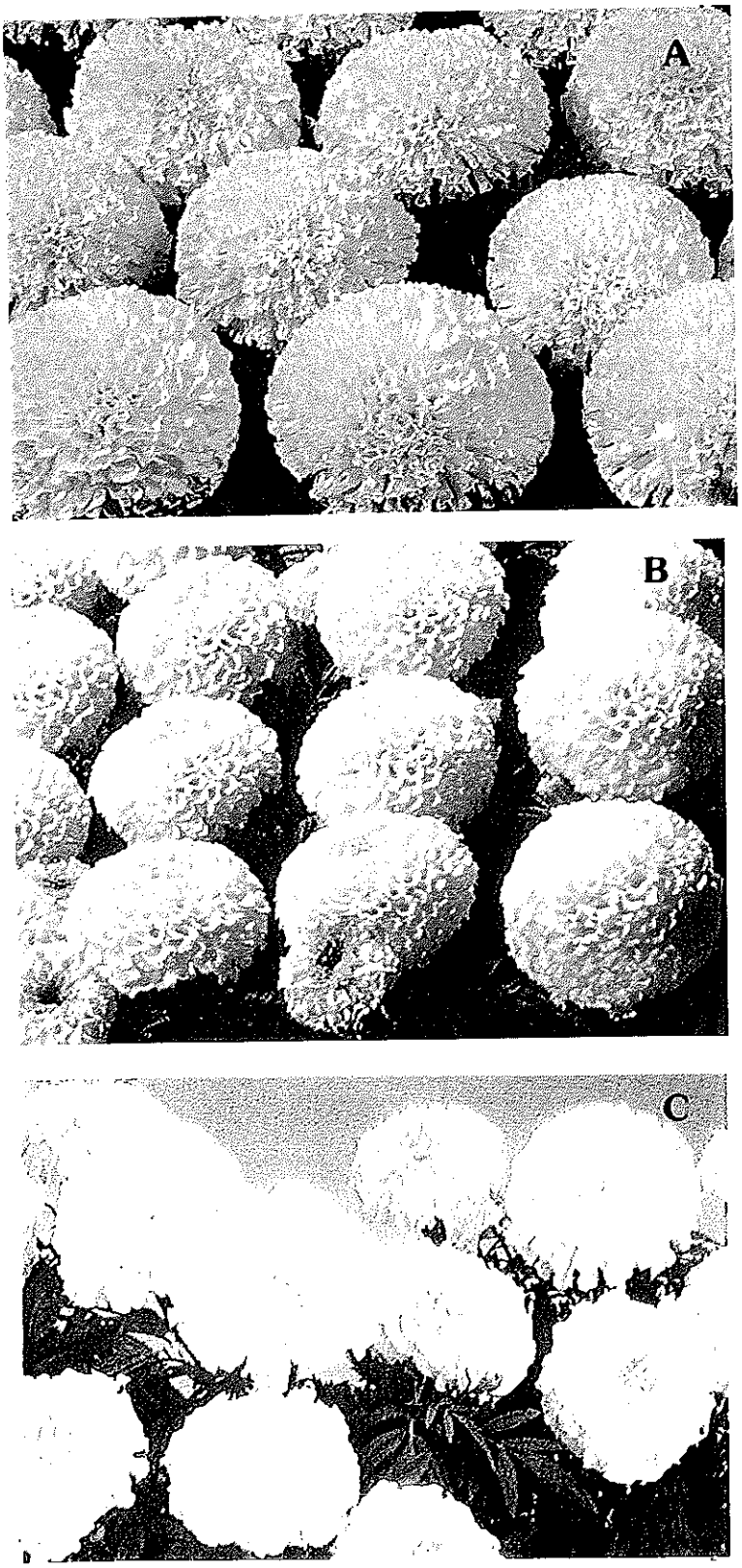
2.2.1 BA (N^6 - benzyladenine)

2.2.2 NAA (1 - naphthalenecetic acid)

2.2.3 ไคเนติน (6 - furfurylaminopurine)

2.3 สารเคมีสำหรับฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่

2.3.1 เอทิลแอลกอฮอล์ 95 % และ 70 %



ภาพประกอบที่ 1 ดาวเรืองที่ใช้ในการวิจัย (A) Sovereign Gold (B) Discovery Yellow (C) Vanilla

Central Library
Prince of Songkhla Unive

2.3.2 คลอร๊อกซ์ (Clorox™)

2.3.3 ทวีน 20 (Tween 20)

3. วัสดุสำหรับใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงและย้ายเนื้อเยื่อ

3.1 น้ำตาลทราย (sucrose)

3.2 วุ้นตรานางเงือก™

3.3 น้ำกลั่น

3.4 จุกสำลี

3.5 อลูมินัมฟอยล์ (aluminum foil)

3.6 เครื่องแก้วและพลาสติกต่าง ๆ ได้แก่ กระบอกตวง , กระทงชั่งสาร, ปิเปต , ฟลาสก์ , บีกเกอร์ , แท่งแก้ว , กรวยแก้ว ,ขวดแก้วพร้อมฝาปิดและจานเลี้ยงเชื้อ

3.7 ช้อนตักสารสแตนเลส

3.8 ตะแกรงกรองสแตนเลส

3.9 เครื่องมือผ่าตัด ได้แก่ มีดผ่าตัด , ปากคีบ

4. วัสดุสำหรับการย้ายต้นพืชลงดิน ได้แก่

4.1 กะบะโฟมสำหรับเพาะต้นกล้า

4.2 ถุงดำสำหรับปลูกต้นไม้

4.3 ดินสำหรับปลูก ใช้ดินผสมบรรจุกระสอบของ ดินงามดี

4.4 ปุ๋ยหมักบรรจุกระสอบของ ดินสีดา

4.5 กระถางพลาสติก

4.6 กระดาษหนังสือพิมพ์

4.7 แผ่นพลาสติกใสสำหรับคลุมรักษาความชื้น

4.8 กระบอกฉีดน้ำ

4.9 พลั่วมือ

4.10 ชั้นเหล็กวางต้นกล้า

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์ ได้แก่
   1.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler รุ่น PJ 400
   1.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler รุ่น AJ 100
   1.3 เตาแม่เหล็กไฟฟ้า (stirring heating plate) ยี่ห้อ Heidolph รุ่น MR 3001
   1.4 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Horiba รุ่น F - 13
   1.5 ตู้อบเครื่องแก้ว ยี่ห้อ Memmert รุ่น U 40
   1.6 ตู้อบไมโครเวฟ ยี่ห้อ Toshiba รุ่น ER - 7800
   1.7 หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) ยี่ห้อ Eyela รุ่น MAC - 601
2. ตู้ย้ายเนื้อเยื่อปลอดเชื้อ (laminar air flow cabinet) ยี่ห้อ Dwyer รุ่น HS - 124
3. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ และมีชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยงติดหลอดฟลูออเรสเซนต์ ยี่ห้อ Phillip ขนาดTDL 36W/54 ซึ่งให้ความเข้มแสงประมาณ 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิห้อง 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส

วิธีดำเนินการ

ตอนที่ 1 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5และ 2 มก/ล , เติมไคเนติน ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5และ 2 มก/ล , เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นชนิดละ 0.5,1,1.5และ 2 มก/ล และที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ใช้น้ำตาลทราย 30 ก/ล วัดค่าความเป็น กรด – ด่าง ด้วยเครื่องวัดความเป็น กรด - ด่าง ปรับค่าความเป็น กรด - ด่างให้ได้ 5.7 ด้วยสารละลาย HCl และ NaOH ความเข้มข้น 0.01, 0.1และ 1 โมลาร์ เติมวุ้นตรานางเงือก 6.7 ก/ล จากนั้นนำไปต้มด้วยตู้อบไมโครเวฟ โดยใช้ไฟแรงปานกลาง เป็นเวลา 10 นาที (ใช้กับอาหารปริมาตร 1 ลิตร) เทอาหารใส่ขวดแก้ว ซึ่งอาหารสูตรที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเทใส่ขวดที่มีขนาด 110 และ 450 มล.

ใส่อาหารลงไป 10 และ 60 มล. ตามลำดับ สำหรับอาหารสูตรที่เติม BA ,ไคเนติน และ BA ร่วมกับ NAA เทใส่ขวดที่มีขนาด 60 มล. ใส่อาหารลงไป 8 มล. ปิดฝาขวดแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที เมื่อนำออกจากหม้อนึ่งอัดไอแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจึงนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

ตอนที่ 2 การเตรียมต้นกล้าปลอดเชื้อ

นำเมล็ดดาวเรืองมาฟอกฆ่าเชื้อโดยแช่ในสารละลายคลอร๊อกซ์ 20% ผสมทวีน 20 ในอัตรา 3 หยดต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่ปลอดเชื้อ 4 - 5 ครั้ง ในการล้างเมล็ดจะเทสารละลายคลอร๊อกซ์ที่มีเมล็ดอยู่ผ่านตะแกรงกรองสแตนเลส แล้วใช้ปากคีบ คีบเมล็ดใส่กลับลงไปในฟลาสก์ เทน้ำกลั่นลงไป เขย่าและเทผ่านตะแกรงกรองสแตนเลสอีกครั้ง เมื่อล้างเมล็ดเสร็จแล้วก็จะเพาะเมล็ดลงในขวดแก้ว ขนาด 450 มล.ที่มีอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ และการเพาะเมล็ด จะทำในตู้ย้ายเนื้อเยื่อปลอดเชื้อ หลังจากนั้นนำขวดไปวางเลี้ยง ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 3 สัปดาห์ และ 5 สัปดาห์ เพื่อให้ได้ต้นกล้าดาวเรืองที่ปลอดเชื้อ สำหรับนำเอาชิ้นส่วนต่าง ๆ จากต้นกล้าไปเพาะเลี้ยงต่อไป

ตอนที่ 3 ศึกษาการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนของใบ , ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) , ข้อ และ ปล้อง ของดาวเรือง

ใช้ชิ้นส่วนของใบและลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง จากต้นกล้าดาวเรืองปลอดเชื้ออายุ 3 สัปดาห์ และใช้ชิ้นส่วนของข้อและปล้อง จากต้นกล้าดาวเรืองปลอดเชื้ออายุ 5 สัปดาห์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSที่มี BA ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5และ 2 มก/ล, ไคเนติน ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5และ 2 มก/ล และ BAร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 มก/ล มีน้ำตาล 3% วุ้นตรานางเงือก 0.67% pH 5.7

ชิ้นส่วนของใบใช้ใบคู่ที่ 1และ 2 โดยตัดตรงบริเวณกลางใบให้ได้ขนาดประมาณ 0.5X0.5 ซม. การตัดจะต้องตัดให้ผ่านเส้นกลางใบและวางชิ้นส่วนให้ด้านหลังใบสัมผัส

กับอาหาร ชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงตัดให้ได้ขนาดยาวประมาณ 0.5 ซม. วางชิ้นส่วนตามแนวนอนลงบนอาหาร สำหรับชิ้นส่วนของข้อและปล้อง จะตัดใบออกจนหมดแล้วตัดให้ได้ขนาดยาวประมาณ 0.5 ซม. ปักชิ้นส่วนของข้อตามแนวตั้งลงในอาหารเพาะเลี้ยงโดยให้ด้านโคนจมลงในอาหารเพียงเล็กน้อย และวางชิ้นส่วนของปล้องตามแนวนอนลงบนอาหาร ชิ้นส่วนทั้งหมดนี้จะใช้ 1 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวดเพาะเลี้ยงที่มีขนาด 60 มล. และชิ้นส่วนแต่ละชนิดจะเพาะเลี้ยงลงในอาหารทุกสูตร ซึ่งแต่ละสูตรอาหารจะทำ 5 ขวด จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 3 สัปดาห์ บันทึกผลโดยหาเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสและวัดขนาดแคลลัสที่เกิดขึ้น

ตอนที่ 4 ศึกษาการชักนำยอดจากแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนต่าง ๆ และการชักนำยอดจากชิ้นส่วนพืชโดยตรง

หลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆในอาหารสูตรที่กล่าวไว้ในขั้นตอนที่ 2 เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ย้ายแคลลัสหรือชิ้นส่วนนั้น ๆไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และย้ายไปยังอาหารใหม่สูตรเดิมนี้ทุก ๆ 2 สัปดาห์ จนกว่าจะมียอดเกิดขึ้น บันทึกผลทุก ๆ 2 สัปดาห์ โดยหาเปอร์เซนต์การเกิดยอด และนับจำนวนยอดที่ได้

ตอนที่ 5 ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดจากยอดที่ชักนำได้

ตัดยอดที่ได้จากแคลลัสหรือชิ้นส่วนต่าง ๆมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต จนเกิดการเพิ่มจำนวนยอดจากยอดนั้น ๆ บันทึกผลทุก ๆ 2 สัปดาห์ โดยนับจำนวนยอดที่ได้

ตอนที่ 6 ศึกษาการชักนำรากจากยอดที่ชักนำได้

ตัดยอดที่ชักนำได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งบรรจุอยู่ในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 110 มล. จนมีรากเกิดขึ้น มีจำนวนรากประมาณ 10 - 30 ราก เพื่อเตรียมพร้อมที่จะย้ายลงดิน

ตอนที่ 7 ศึกษาการรอดชีวิตของต้นดาวเรืองหลังจากย้ายลงปลูกในดิน

ต้นดาวเรืองที่เพาะเลี้ยงได้จะย้ายลงปลูกในกะบะโฟมสำหรับเพาะต้นกล้า วางกะบะโฟมบนชั้นเหล็กที่ขึงด้วยลวดและปูทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ชั้นเหล็กนี้คลุมด้วยแผ่นพลาสติกใสเพื่อรักษาความชื้นภายใน วางชั้นเหล็กไว้ในเรือนเพาะชำ ปลูกต้นดาวเรืองไว้ในกะบะโฟมเป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยให้ความชื้นจากกระบอกฉีดน้ำแบบพ่นหมอก ให้น้ำวันละ4 ครั้ง เฉพาะช่วงเวลากลางวัน หลังจากนั้นย้ายต้นดาวเรืองจากกะบะโฟมลงปลูกในถุงดำหรือกระถางพลาสติก ปลูกไว้ในสภาพแวดล้อมปกติ ในเรือนเพาะชำ บันทึกผลหลังจากย้ายต้นดาวเรืองลงกระถางเป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยหาเปอร์เซนต์การรอดชีวิตของต้นดาวเรือง

ในขั้นตอนที่ 2 - 7 ทำการทดลอง 2 ครั้ง

ตอนที่ 8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ขนาดแคลลัสที่เกิดขึ้นจากชิ้นส่วนต่าง ๆ และจำนวนยอดที่เกิดจากการเพาะเลี้ยง ใช้การทดสอบทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน และ ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรม SPSS

บทที่ 3

ผลการวิจัย

การชักนำยอดจากชิ้นส่วนของใบ , ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง , ข้อ และปล้อง ของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง , พันธุ์ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และพันธุ์วานิลลา สีขาว

1. การชักนำยอดจากชิ้นส่วนของใบ

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นแต่ละชนิด 0.5, 1, 1.5และ 2 มก/ล ภายใน 1 สัปดาห์ชิ้นส่วนของใบจะม้วนงอและเริ่มมีแคลลัสเกิดขึ้นบาง ๆตรงรอยตัด และตรงขอบใบที่สัมผัสกับอาหารเพาะเลี้ยง การเกิดแคลลัสนั้นเกิดในทุกชิ้นส่วน อีก 2 สัปดาห์ต่อมาแคลลัสจะเพิ่มขนาดขึ้นจนคลุมพื้นผิวส่วนใหญ่ของชิ้นส่วน แคลลัสมีสีเหลืองอ่อนเกือบขาว หรือสีขาวใส ๆ ลักษณะค่อนข้างฉ่ำน้ำและอ่อนนุ่มแยกออกจากกันได้ง่าย (ภาพประกอบที่ 2A) พันธุ์ซอฟเวอร์เรน มีอาหารหลายสูตรที่ทำให้ชิ้นส่วนของใบมีแคลลัสเกิดขึ้นเป็นขนาดที่ใกล้เคียงกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1) แต่สูตรที่ทำให้เกิดแคลลัสดีที่สุดแตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ คือสูตรที่มี BA 1มก/ล ร่วมกับ NAA 1มก/ล พันธุ์ดิสโคพเวอรี่ อาหารทุกสูตรทำให้มีแคลลัสเกิดขึ้นจากชิ้นส่วนใบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2) และพันธุ์วานิลลา อาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่มี BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 1 มก/ล ทำให้ชิ้นส่วนของใบมีแคลลัสเกิดขึ้นดีกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) ในบางชิ้นส่วนมีรากเกิดขึ้น (ภาพประกอบที่ 2B) และเริ่มมียอดเกิดขึ้นด้วย (ภาพประกอบที่ 2C) หลังจากนั้นย้ายแคลลัสที่ได้ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อชักนำให้มีการเจริญของยอด หลังจากเพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา 2 สัปดาห์ มีการเจริญของยอดเกิดขึ้น สำหรับแคลลัสที่มียอดเกิดขึ้นแล้ว ยอดจะยืดยาวขึ้น มีการคลี่ของใบ (ภาพประกอบที่ 3A) ยอดที่ได้ส่วนใหญ่จะมีลักษณะใบแก้ว เนื้อเยื่อค่อนข้างโปร่งใส (vitrified) (ภาพประกอบที่ 3B) เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 2 สัปดาห์ ในอาหารสูตรเดิมโดยย้ายลงอาหารใหม่ แคลลัสและยอดจะเริ่มเป็นสีน้ำตาล

ตารางที่ 1 ขนาดแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA

ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต		ขนาดแคลลัส (ซม.) ($\bar{X} \pm SD$)			
BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	ชิ้นส่วนของใบ	ชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง	ชิ้นส่วนของข้อ	ชิ้นส่วนของปล้อง
0.5	0.5	0.42 ± 0.16^{d}	0.66 ± 0.11^{ab}	$0.70\ 0.07^{d}$	0.73 ± 0.06^{d}
0.5	1	0.46 ± 0.24^{d}	0.58 ± 0.15^{bc}	0.80 ± 0.06^{bc}	0.75 ± 0.06^{d}
0.5	1.5	0.90 ± 0.14^{cd}	0.50 ± 0.12^{bc}	0.60 ± 0.12^{d}	0.83 ± 0.06^{ab}
0.5	2	0.94 ± 0.09^{ab}	0.45 ± 0.13^{d}	0.66 ± 0.11^{d}	0.64 ± 0.11^{d}
1	0.5	0.84 ± 0.11^{ab}	0.70 ± 0.07^{ab}	0.60 ± 0.12^{d}	0.80 ± 0.07^{bc}
1	1	1.02 ± 0.16^{a}	0.50 ± 0.07^{bc}	0.70 ± 0.16^{d}	0.68 ± 0.04^{d}
1	1.5	0.82 ± 0.13^{ab}	0.46 ± 0.15^{d}	0.78 ± 0.08^{bc}	0.74 ± 0.09^{d}
1	2	0.83 ± 0.42^{ab}	0.34 ± 0.05^{d}	0.93 ± 0.15^{ab}	0.70 ± 0.07^{d}
1.5	0.5	0.92 ± 0.19^{ab}	0.64 ± 0.09^{ab}	0.94 ± 0.06^{a}	0.74 ± 0.09^{d}
1.5	1	0.70 ± 0.32^{bc}	0.58 ± 0.08^{bc}	0.65 ± 0.10^{d}	0.74 ± 0.05^{d}
1.5	1.5	0.96 ± 0.15^{ab}	0.50 ± 0.07^{bc}	0.76 ± 0.06^{bc}	0.78 ± 0.04^{cd}
1.5	2	0.98 ± 0.08^{ab}	0.46 ± 0.05^{d}	0.80 ± 0.07^{bc}	0.65 ± 0.13^{d}
2	0.5	0.90 ± 0.14^{ab}	0.82 ± 0.16^{a}	0.90 ± 0.16^{ab}	0.75 ± 0.21^{d}
2	1	0.96 ± 0.15^{ab}	0.70 ± 0.08^{ab}	0.90 ± 0.14^{ab}	0.84 ± 0.05^{ab}
2	1.5	0.94 ± 0.21^{ab}	0.48 ± 0.04^{cd}	0.78 ± 0.13^{bc}	0.92 ± 0.16^{a}
2	2	0.90 ± 0.10^{ab}	0.44 ± 0.05^{d}	0.72 ± 0.08^{cd}	0.82 ± 0.16^{ab}

อักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05 จากการทดสอบโดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 ขนาดแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของดาวเรืองพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA

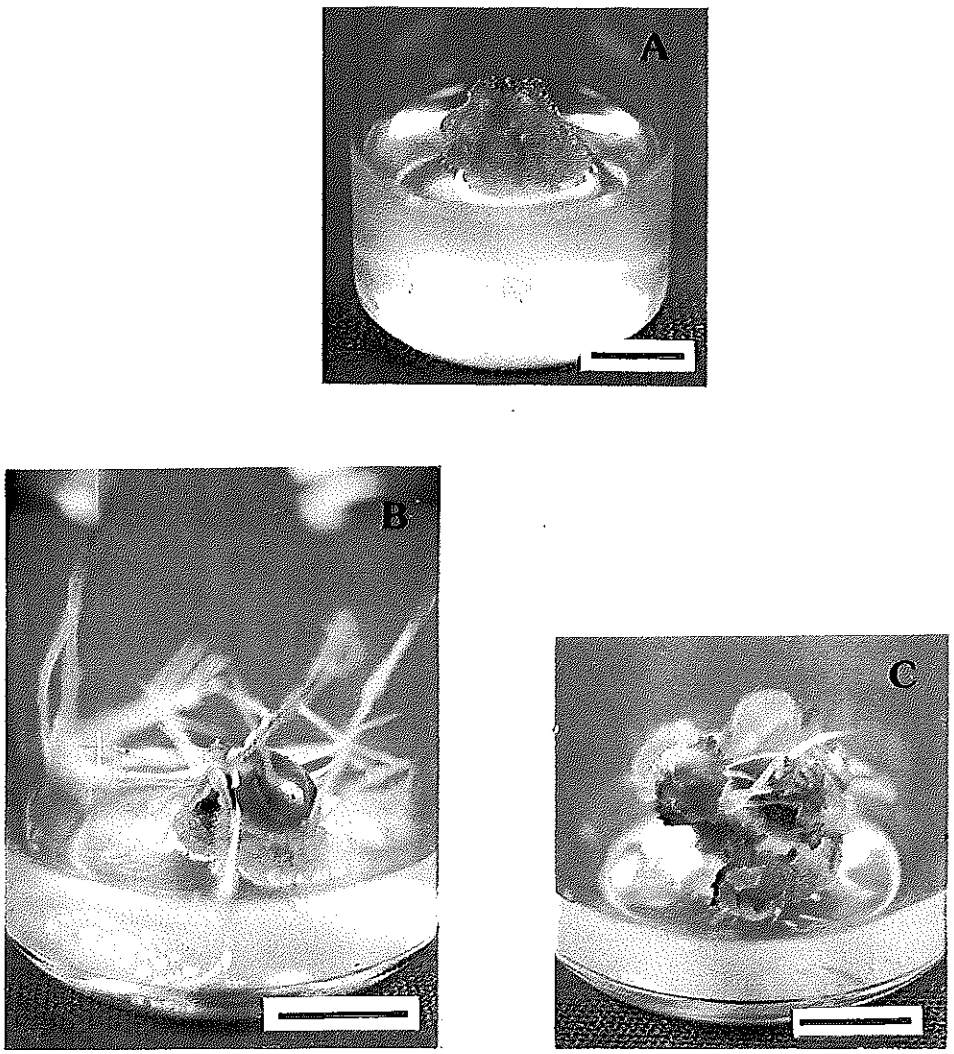
ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต		ขนาดแคลลัส (ซม.) ($\bar{X} \pm SD$)			
BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	ชิ้นส่วนของใบ	ชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง	ชิ้นส่วนของข้อ	ชิ้นส่วนของปล้อง
0.5	0.5	0.83±0.05	0.48±0.25 ef	0.92±0.11 d	0.94±0.09 ab
0.5	1	0.90±0.20	0.64±0.15 bc	0.94±0.06 d	0.76±0.11 fg
0.5	1.5	0.92±0.84	0.40±0.10 f	0.95±0.06 d	0.64±0.15 h
0.5	2	0.82±0.18	0.23±0.06 f	0.90±0.14 d	0.56±0.09 h
1	0.5	0.78±0.17	0.72±0.13 ab	0.88±0.19 d	0.80±0.27 de
1	1	0.84±0.15	0.58±0.17 cd	1.03±0.05 d	0.86±0.09 bc
1	1.5	0.88±0.16	0.26±0.09 f	0.98±0.15 d	0.60±0.20 h
1	2	1.00±0.16	0.23±0.05 f	0.94±0.24 d	0.58±0.22 h
1.5	0.5	0.70±0.35	0.77±0.12 ab	1.03±0.19 d	1.03±0.06 a
1.5	1	0.98±0.15	0.23±0.06 f	1.08±0.11 cd	0.70±0.10 gh
1.5	1.5	0.80±0.34	0.28±0.10 f	1.02±0.15 d	0.64±0.11 h
1.5	2	0.76±0.36	0.33±0.10 f	0.94±0.06 d	0.65±0.17 h
2	0.5	0.68±0.36	0.95±0.10 a	0.98±0.05 d	0.88±0.11 ab
2	1	1.03±0.17	0.50±0.08 de	1.22±0.19 a	0.82±0.13 cd
2	1.5	1.10±0.14	0.32±0.22 f	1.10±0.16 bc	0.80±0.08 ef
2	2	0.95±0.06	0.47±0.15 ef	1.16±0.15 ab	0.48±0.08 h

อักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05 จากการทดสอบโดยวิธี DMRT

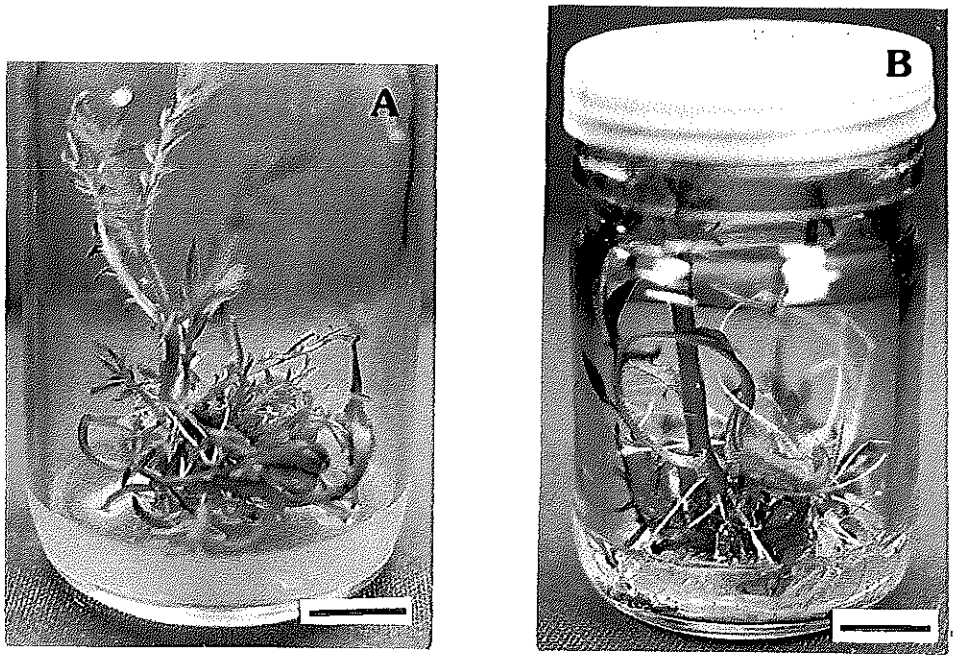
ตารางที่ 3 ขนาดแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของดาวเรืองพันธุ์วานิลลา สีขาว ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA

ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต		ขนาดแคลลัส (ซม.) ($\bar{X} \pm$ SD)			
BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	ชิ้นส่วนของใบ	ชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง	ชิ้นส่วนของข้อ	ชิ้นส่วนของปล้อง
0.5	0.5	0.76 ± 0.18^{d}	0.66 ± 0.13^{bc}	1.04 ± 0.20^{d}	0.68 ± 0.05^{cd}
0.5	1	0.70 ± 0.30^{d}	0.46 ± 0.11^{de}	1.20 ± 0.27^{bc}	0.60 ± 0.10^{e}
0.5	1.5	0.98 ± 0.17^{cd}	0.38 ± 0.22^{e}	1.04 ± 0.15^{d}	0.74 ± 0.05^{cd}
0.5	2	0.90 ± 0.32^{d}	0.32 ± 0.13^{e}	1.08 ± 0.08^{cd}	0.52 ± 0.08^{e}
1	0.5	1.02 ± 0.29^{bc}	0.73 ± 0.33^{a}	1.12 ± 0.08^{bc}	0.80 ± 0.12^{bc}
1	1	1.12 ± 0.18^{ab}	0.62 ± 0.29^{cd}	0.80 ± 0.10^{d}	0.73 ± 0.06^{cd}
1	1.5	1.03 ± 0.31^{bc}	0.40 ± 0.14^{e}	0.95 ± 0.19^{d}	0.84 ± 0.11^{ab}
1	2	0.68 ± 0.30^{d}	0.24 ± 0.09^{e}	1.07 ± 0.06^{d}	0.68 ± 0.08^{cd}
1.5	0.5	1.08 ± 0.08^{bc}	0.84 ± 0.09^{a}	1.20 ± 0.20^{bc}	0.70 ± 0.07^{cd}
1.5	1	1.00 ± 0.00^{bc}	0.68 ± 0.13^{ab}	1.20 ± 0.20^{bc}	0.78 ± 0.08^{bc}
1.5	1.5	0.90 ± 0.12^{d}	0.46 ± 0.26^{de}	1.07 ± 0.40^{d}	0.85 ± 0.06^{ab}
1.5	2	0.62 ± 0.39^{d}	0.23 ± 0.05^{e}	1.16 ± 0.11^{bc}	0.67 ± 0.06^{de}
2	0.5	0.80 ± 0.62^{d}	0.76 ± 0.11^{a}	1.33 ± 0.06^{ab}	0.77 ± 0.12^{cd}
2	1	1.16 ± 0.11^{a}	0.63 ± 0.15^{cd}	1.35 ± 0.06^{a}	0.90 ± 0.12^{a}
2	1.5	1.08 ± 0.11^{bc}	0.44 ± 0.15^{e}	1.16 ± 0.29^{bc}	0.70 ± 0.22^{cd}
2	2	1.05 ± 0.35^{bc}	0.40 ± 0.10^{e}	1.23 ± 0.25^{bc}	0.70 ± 0.10^{cd}

อักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05 จากการทดสอบโดยวิธี DMRT



ภาพประกอบที่ 2 แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA (A) แคลลัสจากอาหารที่เติม BA 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 1 มก/ล (B) แคลลัสที่มีรากจากอาหารที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.5 มก/ล (C) แคลลัสที่มียอดจากอาหารที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล (bar = 1 เซนติเมตร)



ภาพประกอบที่ 3 ยอดที่เจริญขึ้นจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 2 สัปดาห์ (A) ยอดลักษณะปกติ (B) ยอดลักษณะเป็นใบแก้ว (bar = 1 เซนติเมตร)

จากนั้นอีก 2 สัปดาห์ จะกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำและตาย ยกเว้นในพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ยอดที่ได้จากแคลลัสที่ชักนำในอาหารสูตรที่มี BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 และ BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.5 มก/ล ยังมีสีเขียวอยู่ และมีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.4 ± 1.14 ยอด และ 2.8 ± 0.84 ยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 40 % และ 20 % ตามลำดับ ในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ ยอดที่ได้จากอาหารสูตรเดียวกันนี้และอาหารที่มี BA ร่วมกับ NAA 1.5 มก/ล ก็ยังมีสีเขียวอยู่เช่นกัน มีจำนวนยอด เฉลี่ย4.3 ± 1.50 ยอด , 6.8 ± 2.05 ยอด และ4.3 ± 1.50 ยอด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 40 % , 75 % และ 40 % ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และ 6) สำหรับแคลลัสจากอาหารสูตรอื่นๆ และแคลลัสที่ได้จากใบของพันธุ์วานิลลาจะไม่มีการเจริญของยอด เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 2 สัปดาห์ ในอาหารสูตรเดิมแคลลัสจะกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำและตายในที่สุด

นอกจากนี้จากการใช้ชิ้นส่วนของใบของดาวเรือง 3 พันธุ์เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA หรือไคเนติน ความเข้มข้น 0.5,1,1.5 และ 2 มก/ล หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 3 สัปดาห์ ชิ้นส่วนใบของพันธุ์วานิลลาจะเริ่มม้วนงอและเป็นสีน้ำตาล เมื่อย้ายลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ชิ้นส่วนกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำและตาย แต่ในพันธุ์ซอฟเวอร์เรนและดิสโคพเวอรี่ หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA หรือไคเนติน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ชิ้นส่วนจะเริ่มม้วนงอ ในพันธุ์ซอฟเวอร์เรนจะมีแคลลัสบาง ๆตรงส่วนที่สัมผัสกับอาหาร และอาหารที่มีไคเนตินจะมีรากเกิดขึ้นจากชิ้นส่วน สำหรับในอาหารที่มี BAจะเริ่มมียอดเกิดขึ้นตรงรอยตัดและตรงเส้นกลางใบ เมื่อย้ายชิ้นส่วนจากอาหารที่มี BA หรือ ไคเนติน ลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ชิ้นส่วนเริ่มเป็นสีน้ำตาล แต่อาหารที่มี BA มีการเจริญของยอด สำหรับจำนวนยอดที่ได้จากการชักนำผ่านแคลลัส และจำนวนยอดที่ได้จากการชักนำจากชิ้นส่วนของใบโดยตรง ในพันธุ์ซอฟเวอร์เรนจำนวนยอดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี BA ร่วมกับ NAA อย่างละ 0.5 มก/ล และจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบในอาหารที่มี BA 1 มก/ล ได้จำนวนยอดเฉลี่ยมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นอย่างมี

นัยสำคัญ คือ 3.4±1.14 และ 4.0±1.00 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบในอาหารที่มี BA 2 มก/ล ได้จำนวนยอดเฉลี่ยมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญคือ 8.5 ± 2.08 ยอด (ตารางที่ 4) หลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตร MSที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ยอดที่ได้จะยาวประมาณ 0.7–1เซนติเมตร ซึ่งยอดจะมีทั้งที่เป็นยอดปกติและยอดลักษณะใบแก้ว ตัดยอดนี้ลงเพาะเลี้ยงต่อไปในอาหารสูตรเดิมเป็นเวลา 6 สัปดาห์ จะได้ยอดเพิ่มขึ้น (ภาพประกอบที่ 4Aและ4B) ในพันธุ์ซอฟเวอร์เรน เมื่อเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ๆ ที่ได้จากแคลลัสหรือชิ้นส่วนของใบในแต่ละยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต จะได้ยอดเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5) คือได้ยอดเพิ่มขึ้นประมาณ 4–7 ยอด แต่ในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ๆ ที่ได้จากชิ้นส่วนของใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี BA 1 มก/ล ได้จำนวนยอดเพิ่มขึ้นมากกว่ายอดที่ได้จากแคลลัสหรือชิ้นส่วนของใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งได้จำนวนยอดเพิ่มขึ้นถึง 8.3 ± 3.06 ยอด (ตารางที่ 5)

2. การชักนำยอดจากชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงลงในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นอย่างละ 0.5, 1, 1.5และ 2 มก/ล ภายใน 1 สัปดาห์ ชิ้นส่วนจะบวมและมีแคลลัสเกิดขึ้นตรงรอยตัดของทุกชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง ต่อมาอีก 2 สัปดาห์ แคลลัสจะเพิ่มขนาดจนคลุมชิ้นส่วนทั้งหมด แคลลัสมีสีเหลืองอ่อนจนเกือบขาวหรือสีขาวใส ๆ ลักษณะค่อนข้างฉ่ำน้ำ อ่อนนุ่มและแยกออกจากกันได้ง่าย (ภาพประกอบที่ 7A) บางชิ้นส่วนมีรากเกิดขึ้น (ภาพประกอบที่ 7B) ในพันธุ์ซอฟเวอร์เรน และพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ อาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่มี BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล ทำให้ชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง มีแคลลัสเกิดขึ้นดีกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1 และ 2) แต่ในพันธุ์วานิลลา นอกจากอาหารสูตรนี้แล้วยังมีอาหารสูตรที่มี BA 1 และ 1.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก /ล ทำให้ชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง

ตารางที่ 4 จำนวนยอดที่ได้จากการย้ายแคลลัสจากอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA และจำนวนยอดที่ได้จากการย้ายชิ้นส่วนต่าง ๆ ที่ไม่เกิดแคลลัส จากอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA หรือไคเนตินไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรเริ่มเพาะเลี้ยง			ซอฟเวอร์เรน สีทอง				ดิสโคฟเวอรี่ สีเหลือง				วานิลลา สีขาว			
			จำนวนยอด ($\bar{X} \pm SD$)				จำนวนยอด ($\bar{X} \pm SD$)				จำนวนยอด ($\bar{X} \pm SD$)			
BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	ไคเนติน (มก/ล)	ใบ	ไฮโปคอทิล	ช้อ	ปล้อง	ใบ	ไฮโปคอทิล	ช้อ	ปล้อง	ใบ	ไฮโปคอทิล	ช้อ	ปล้อง
0.5	0.5	-	3.4 ± 1.14^{a}	-	-	-	6.8 ± 2.05^{b}	-	3.7 ± 0.58^{c}	-	-	-	-	-
0.5	1.5	-	2.8 ± 0.84^{b}	-	-	-	4.3 ± 1.50^{b}	-	-	-	-	-	-	-
1	0.5	-	-	-	-		-	-	4.0 ± 1.00^{c}	-	-	-	-	-
1	1	-	-	-	-	-	-	-	3.7 ± 1.53^{c}	-	-	-	-	-
1.5	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.8 ± 1.30^{a}	-
1.5	1	-	-	-	-	-	-	-	3.3 ± 0.58^{c}	-	-	-	4.0 ± 1.00^{b}	-
1.5	1.5	-	-	-	-	-	4.3 ± 1.50^{b}	-	-	-	-	-	-	--
1.5	2	-	-	-	-	-	-	-	3.7 ± 1.15^{c}	-	-	-	-	--
2	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.7 ± 0.58^{b}	-
2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.5 ± 1.29^{b}	-
2	2	-	-	-	-	-	-	-	3.0 ± 1.00^{c}	-	-	-	-	-
0.5	-	-	3.0 ± 1.00^{ab}	-	-	-	4.5 ± 1.29^{b}	-	4.7 ± 2.08^{bc}	-	-	-	-	-
1	-	-	4.0 ± 1.00^{a}	-	-	-	4.0 ± 1.00^{b}	-	3.3 ± 0.58^{c}	-	-	-	5.0 ± 1.41^{a}	-
1.5	-	-	1.7 ± 0.58^{b}	-	-	-	7.0 ± 2.65^{ab}	-	6.0 ± 1.00^{ab}	-	-	-	4.3 ± 0.58^{ab}	-
2	-	-	1.3 ± 0.58^{b}	-	-	-	8.5 ± 2.08^{a}	-	$3.7\pm.58^{c}$	-	-	-	3.3 ± 1.53^{b}	-
-	-	0.5	-	-	-	-	-	-	3.0 ± 0.58^{c}	-	-	-	-	-
-	-	1	-	-	-	-	-	-	12.0 ± 3.65^{a}	-	-	-	-	-
-	-	1.5	-	-	-	-	-	-	3.3 ± 0.58^{c}	-	-	-	-	-
-	-	2	-	-	-	-	-	-	10.7 ± 0.58^{a}	-	-	-	-	-

อักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05 จากการทดสอบโดยวิธี DMRT

ตารางที่ 5 จำนวนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ๆ ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งยอดเดี่ยว ๆ นี้ได้มาจากการย้ายแคลลัสจากอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA และจากการย้ายชิ้นส่วนต่าง ๆ จากอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA หรือ ไคเนติน ไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

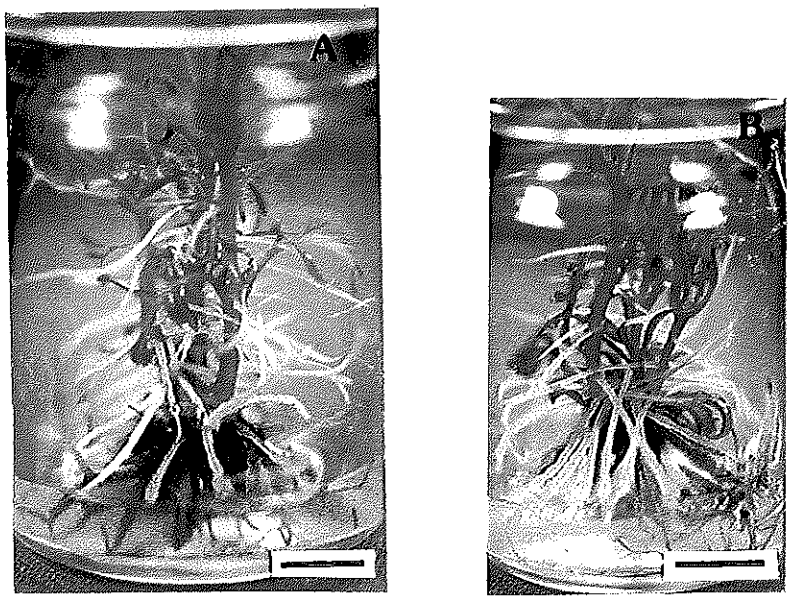
ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรเริ่มเพาะเลี้ยง			ซอฟเวอร์เรน สีทอง				ดิสโคฟเวอรี่ สีเหลือง				วานิลลา สีขาว			
			จำนวนยอด ($\bar{X}$± SD)				จำนวนยอด ($\bar{x}$ ± SD)				จำนวนยอด ($\bar{x}$ ± SD)			
BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	ไคเนติน (มก/ล)	ใบ	ไฮโปคอทิล	ข้อ	ปล้อง	ใบ	ไฮโปคอทิล	ข้อ	ปล้อง	ใบ	ไฮโปคอทิล	ข้อ	ปล้อง
0.5	0.5	-	6.8±2.12	-	-	-	5.7±2.29 ^{ab}	-	8.7±0.58 ^{a}	-	-	-	-	-
0.5	1.5	-	6.3±2.87	-	-	-	5.5±1.29 ^{bc}	-	-	-	-	-	-	-
1	0.5	-	-	-	-	-	-	-	5.7±1.15 ^{bc}	-	-	-	-	-
1	1	-	-	-	-	-	-	-	5.7±0.58 ^{bc}	-	-	-	-	-
1.5	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.2±1.64 ^{bc}	-
1.5	1	-	-	-	-	-	-	-	4.3±1.53 ^{c}	-	-	-	3.7±1.15 ^{c}	-
1.5	1.5	-	-	-	-	-	4.3±1.53 ^{c}	-	-	-	-	-	-	-
1.5	2	-	-	-	-	-	-	-	4.3±0.58 ^{c}	-	-	-	-	-
2	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.7±0.58 ^{c}	-
2	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.8±0.50 ^{c}	-
2	2	-	-	-	-	-	-	-	3.7±0.58 ^{c}	-	-	-	-	-
0.5	-	-	5.0±1.73	-	-	-	3.7±0.58 ^{c}	-	5.0±2.44 ^{c}	-	-	-	-	-
1	-	-	5.7±2.89	-	-	-	8.3±3.06 ^{a}	-	5.0±2.21 ^{c}	-	-	-	12.0±0.82 ^{a}	-
1.5	-	-	3.7±1.15	-	-	-	2.8±1.30 ^{c}	-	7.4±2.72 ^{ab}	-	-	-	6.0±1.00 ^{ab}	-
2	-	-	4.3±0.58	-	-	-	4.3±1.37 ^{c}	-	-	-	-	-	-	-
-	-	0.5	-	-	-	-	-	-	6.7±3.24 ^{ab}	-	-	-	-	-
-	-	1	-	-	-	-	-	-	7.0±3.03 ^{ab}	-	-	-	-	-

อักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05 จากการทดสอบโดยวิธี DMRT

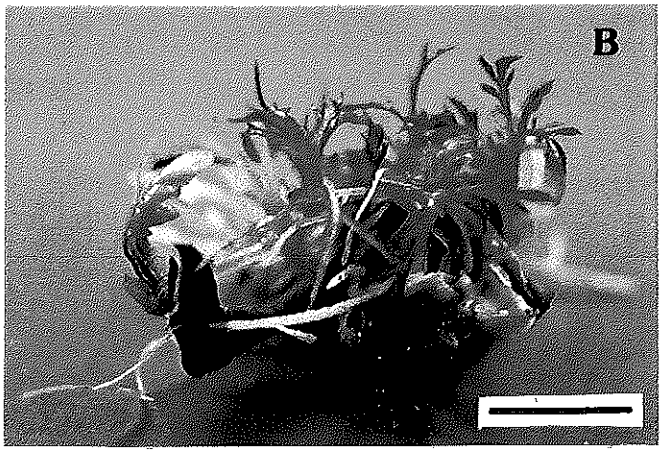
ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การเกิดราก, จำนวนรากและเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA และอาหารสูตรที่มี BAหรือไคเนติน หลังจากเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์

ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต			เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (%)			จำนวนราก			เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด (%)		
BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	ไคเนติน (มก/ล)	S	D	V	S	D	V	S	D	V
0.5	0.5	-	60	100	60	+	++	+	40	75	40
0.5	1	-	40	100	40	++	++	+	80	25	0
0.5	1.5	-	80	100	100	++	+	++	20	20	0
0.5	2	-	100	100	50	++	+	++	20	0	0
1	0.5	-	40	100	20	+	+	++	60	25	0
1	1	-	60	100	60	+	+	+	40	20	0
1	1.5	-	80	80	50	+	+	+	80	0	0
1	2	-	50	100	0	+	+	-	50	0	0
1.5	0.5	-	40	33	100	+	+	+	40	67	40
1.5	1	-	20	100	100	+	+	++	100	0	0
1.5	1.5	-	20	40	50	+	+	++	40	40	25
1.5	2	-	20	80	75	+	+	+	20	40	0
2	0.5	-	0	80	0	-	+	-	25	80	0
2	1	-	20	0	60	+	-	+	60	25	50
2	1.5	-	40	0	20	+	-	+	40	0	60
2	2	-	0	25	25	-	+	+	33	0	0
0.5	-	-	0	0	0	-	-	-	60	80	0
1	-	-	0	0	0	-	-	-	20	67	0
1.5	-	-	0	0	0	-	-	-	80	60	0
2	-	-	0	0	0	-	-	-	75	100	0
-	-	0.5	60	100	0	+	+	-	0	0	0
-	-	1	60	100	0	+	+	-	0	0	0
-	-	1.5	80	100	0	+	+	-	0	0	0
-	-	2	50	100	0	+	+	-	0	0	0

S = Sovereign Golds , D = Discovery Yellow , V = Vanilla , - = ไม่มีราก , + = 1 – 10 ราก , ++ = 10 – 30 ราก

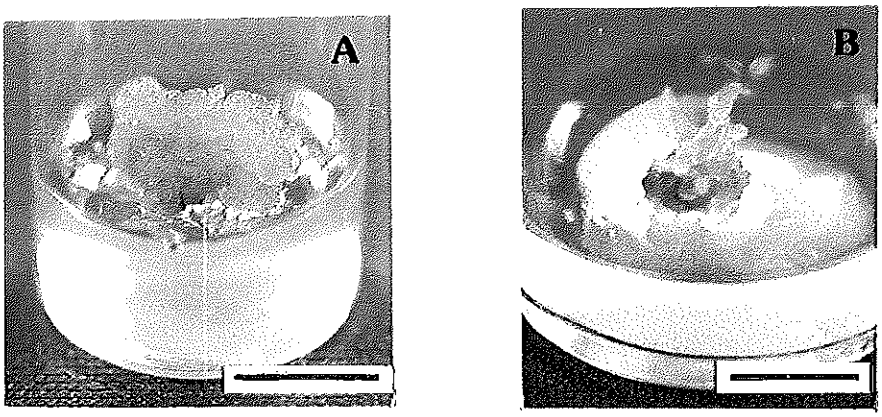


ภาพประกอบที่ 4 ยอดรวม (multiple shoots) จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยวที่เกิดจากแคลลัสใบในอาหารสูตร MSที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 6 สัปดาห์ (A) ยอดลักษณะปกติของพันธุ์ซอฟเวอร์เรน (B) ยอดลักษณะเป็นใบแก้วของพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ (bar = 1 เซนติเมตร)



ภาพประกอบที่ 5 ยอดที่เจริญขึ้นจากชิ้นส่วนใบของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ซึ่งชิ้นส่วนใบได้ย้ายมาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA 1 มก/ล (A) ยอดลักษณะปกติ (B) ยอดลักษณะเป็นใบแก้ว (bar = 1 เซนติเมตร)

ภาพประกอบที่ 6 ยอดรวมที่มีลักษณะปกติที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 6 สัปดาห์
(bar = 1 เซนติเมตร)



ภาพประกอบที่ 7 แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงของดาวเรือง พันธุ์ดิสโคพเวอรี่ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA

(A) แคลลัสจากอาหารที่เติม BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล

(B) แคลลัสที่มีรากจากอาหารที่เติม BA 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล

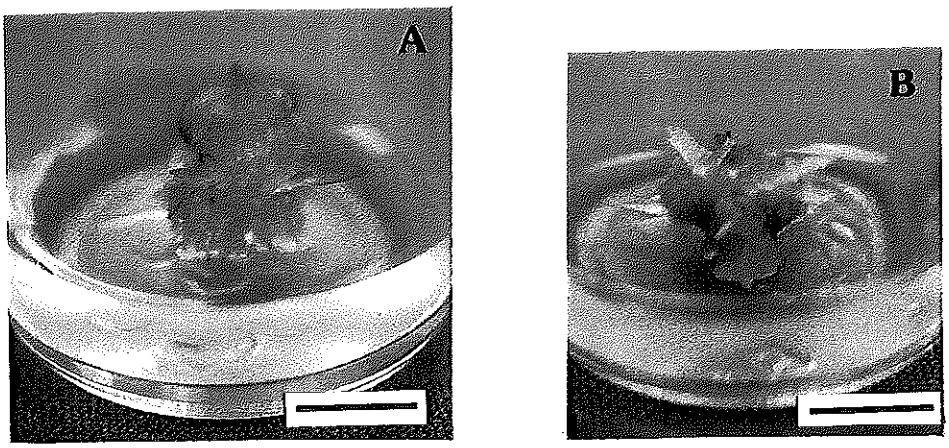
(bar = 1 เซนติเมตร)

มีแคลลัสเกิดขึ้นดีกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) ต่อจากนั้นได้ย้ายแคลลัสที่ได้ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อชักนำให้มีการสร้างยอด เมื่อเพาะเลี้ยงไปได้ 2 สัปดาห์ ชิ้นส่วนและแคลลัสจะเริ่มเป็นสีน้ำตาล และไม่มียอดเกิดขึ้นเลย ยกเว้นในดาวเรืองพันธุ์วานิลลา จะมียอดเกิดขึ้นจากแคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรที่มี NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 1.5 และ 2 มก/ล ซึ่งเกิดขึ้นเพียง 2 ชิ้นส่วน จากที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด 5 ชิ้นส่วน และได้ยอดชิ้นส่วนละ 1 ยอด ยอดจะมีลักษณะใบแก้วและมีขนาดเล็กมาก หลังจากนั้นได้ย้ายแคลลัสที่เกิดยอดลงอาหารสูตรเดิมนี้ เพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ปรากฏว่าแคลลัสและยอดกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มจนเกือบดำ เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 2สัปดาห์ โดยย้ายแคลลัสนี้ไปยังอาหารใหม่สูตรเดิม ทั้งแคลลัสและยอดจะกลายเป็นสีดำและตาย

นอกจากนี้จากการใช้ชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA และ ไคเนติน ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5และ 2 มก/ล หลังจากเพาะเลี้ยงไปได้ 3 สัปดาห์ ชิ้นส่วนจะบวมเล็กน้อยตรงบริเวณรอยตัด มีแคลลัสบาง ๆ เกิดขึ้นบริเวณผิวของชิ้นส่วน มีรากเกิดขึ้นและชิ้นส่วนเริ่มเป็นสีน้ำตาล เมื่อย้ายชิ้นส่วนจากอาหารสูตรนี้ลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ชิ้นส่วนกลายเป็นสีน้ำตาลเข้ม หลังจากเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 2 สัปดาห์ ชิ้นส่วนจะกลายเป็นสีดำและตาย

3. การชักนำยอดจากชิ้นส่วนของข้อ

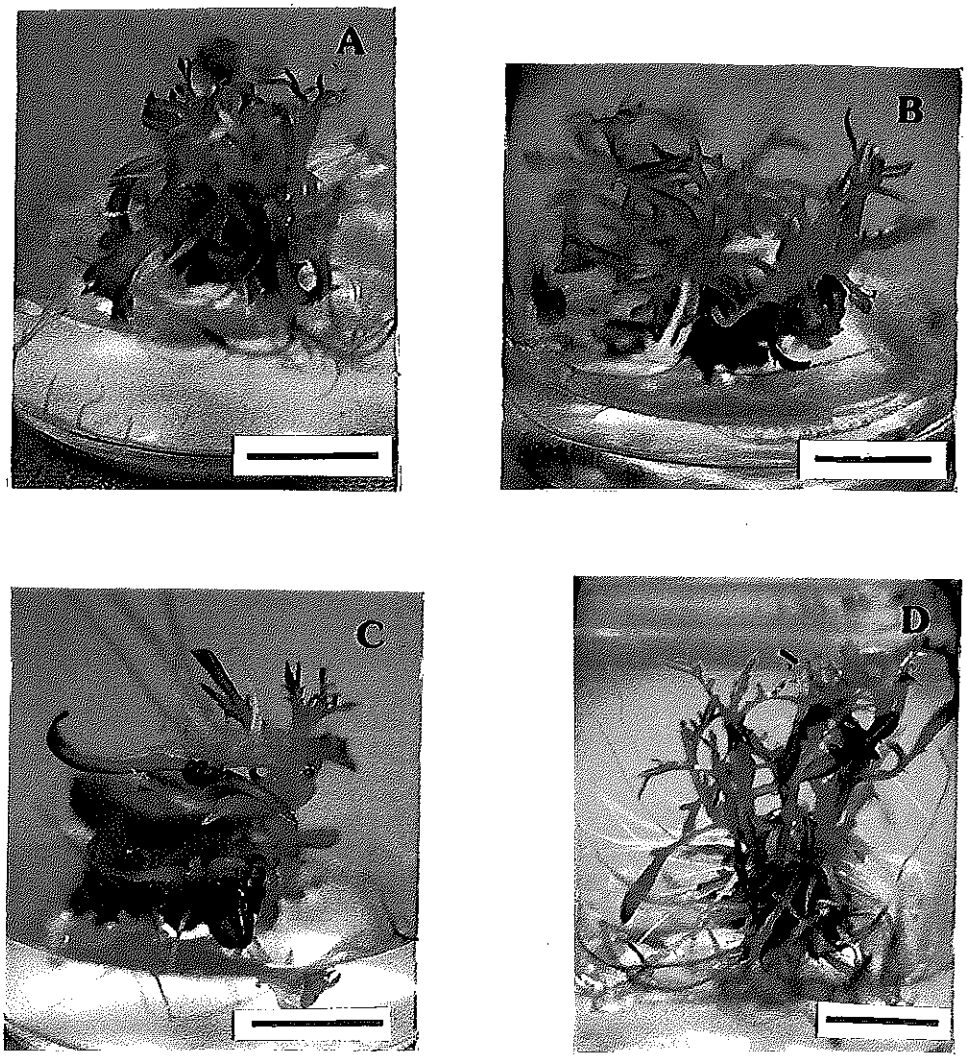
จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของข้อในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 มก/ล ใน 1 สัปดาห์ ชิ้นส่วนของข้อจะบวมและเริ่มมีแคลลัสเกิดขึ้นบาง ๆ บริเวณผิวของทุก ๆชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง หลังจากนั้นอีก 2 สัปดาห์ แคลลัสจะเพิ่มขนาดขึ้นจนคลุมพื้นผิวของชิ้นส่วนทั้งหมด แคลลัสมีลักษณะอ่อนนุ่ม แยกออกจากกันได้ง่าย ค่อนข้างฉ่ำน้ำ มีสีเหลืองอ่อนใสเกือบขาว (ภาพประกอบที่ 8A) บางชิ้นส่วนมีรากเกิดขึ้น (ภาพประกอบที่ 8B) ซึ่งในพันธุ์ซอฟเวอร์เรนอาหารสูตรที่มี BA 1.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล ,พันธุ์ดิสโคพเวอรี่และวานิลลา อาหารสูตรที่มี BA 2



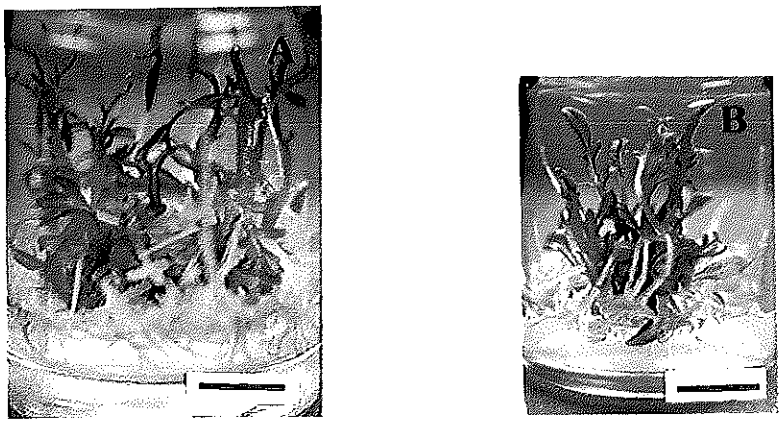
ภาพประกอบที่ 8 แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของดาวเรืองพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA (A) แคลลัสจากอาหารที่เติม BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 2 มก/ล (B) แคลลัสที่มีรากจากอาหารที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.5 มก/ล (bar = 1 เซนติเมตร)

มก/ล ร่วมกับ NAA 1มก/ล ทำให้ชิ้นส่วนของข้อมีแคลลัสเกิดขึ้นดีกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1,2 และ3) หลังจากนั้นได้ย้ายแคลลัสลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ปรากฏว่าพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ไม่มียอดเกิดขึ้นและแคลลัสเริ่มเป็นสีน้ำตาลอ่อน เมื่อย้ายแคลลัสลงอาหารใหม่สูตรเดิมและเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 2 สัปดาห์ แคลลัสกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำและตาย สำหรับในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่และวานิลลา มียอดเกิดขึ้นจากแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (ภาพประกอบที่ 9Aและ9C) ในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่มีการเจริญของยอดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหาร 6 สูตร และในพันธุ์วานิลลามีการเจริญของยอดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของข้อในอาหาร 4 สูตร จำนวนยอดและเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดแสดงในตารางที่ 4 และ 9 และเมื่อย้ายแคลลัสที่มียอดไปยังอาหารใหม่สูตรเดิม เพาะเลี้ยงต่อไปอีก 4 สัปดาห์ โดยย้ายแคลลัสไปยังอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์ ปรากฏว่ายอดเจริญยืดยาวขึ้นมีขนาดประมาณ 0.7 -1 เซนติเมตร และยอดมีลักษณะใบแก้วมากขึ้น (ภาพประกอบที่ 9Bและ9D)

นอกจากนี้จากการใช้ชิ้นส่วนของข้อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA หรือไคเนติน ความเข้มข้น 0.5 ,1 ,1.5 และ 2 มก/ล หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 3 สัปดาห์ มีแคลลัสเกิดขึ้นบาง ๆ บริเวณผิวของชิ้นส่วนและมีรากเกิดขึ้น ยกเว้นในพันธุ์วานิลลามีรากเกิดขึ้นเฉพาะในอาหารสูตรที่มี ไคเนติน เท่านั้น ต่อจากนั้นได้ย้ายชิ้นส่วนไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าในพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ชิ้นส่วนจะเริ่มเป็นสีน้ำตาลและเมื่อได้ย้ายชิ้นส่วนลงไปยังอาหารใหม่สูตรเดิมนี้เพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา 4 สัปดาห์โดยมีการย้ายไปยังอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์ ชิ้นส่วนกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำและตาย สำหรับในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่และวานิลลาเมื่อเริ่มมียอดเกิดขึ้นจากชิ้นส่วน ก็ได้ย้ายไปยังอาหารใหม่สูตรเดิมเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 2 สัปดาห์ ยอดยืดยาวขึ้นประมาณ 0.7 -1 เซนติเมตร และยอดมีลักษณะค่อนข้างเป็นใบแก้ว (ภาพประกอบที่ 10Aและ10B) ในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่มีการเจริญของยอดจากชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี ไคเนติน 1 และ 2 มก/ล ได้



ภาพประกอบที่ 9 ยอดที่มีลักษณะใบแก้วที่เจริญขึ้นจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนข้อ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (A) ยอดของพันธุ์ดิสโคพเวอรี่หลังจากเพาะเลี้ยง 2 สัปดาห์ (B) ยอดของพันธุ์ดิสโคพเวอรี่หลังจากเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ (C) ยอดของพันธุ์วานิลลาหลังจากเพาะเลี้ยง 2 สัปดาห์ (D) ยอดของพันธุ์วานิลลาหลังจากเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)



ภาพประกอบที่ 10 ยอดลักษณะเป็นใบแก้วที่เจริญขึ้นจากชิ้นส่วนข้อของดาวเรืองพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งชิ้นส่วนข้อได้ย้ายมาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA หรือ ไคเนติน (A) ยอดจากชิ้นส่วนข้อที่มาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มีไคเนติน 2 มก/ล (B) ยอดจากชิ้นส่วนข้อที่มาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี BA 1.5 มก/ล
(bar = 1 เซนติเมตร)

จำนวนยอดมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ คือ 12.0±3.65 และ 10.7±0.58 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ส่วนพันธุ์วานิลลามีการเจริญของยอดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหารที่มี BA 1.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล และจากชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA 1 มก/ล ได้จำนวนยอดมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ คือ 4.8±1.30 และ 5.0±1.41 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 4) เมื่อได้ยอดที่ยืดยาวแล้วจึงตัดยอดเดี่ยว ๆลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 6 สัปดาห์ จะมีการเพิ่มจำนวนยอด พันธุ์ดิสโคพเวอรี่ได้ยอดเพิ่มขึ้นจากยอดเดี่ยว ๆ ที่ได้มาจากแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหารที่มี BA ร่วมกับ NAA อย่างละ 0.5 มก/ล ได้จำนวนยอดเฉลี่ย 8.7±0.58 ยอด ซึ่งมากกว่าจำนวนยอดที่ได้จากยอดเดี่ยว ที่ได้จากแคลลัสหรือชิ้นส่วนของข้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5) สำหรับในพันธุ์วานิลลาได้จำนวนยอดเพิ่มขึ้นจากยอดเดี่ยว ๆ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของข้อในอาหารที่มี BA 1 มก/ล เป็นจำนวนที่มากกว่ายอดที่เกิดจากยอดเดี่ยว ๆ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสหรือชิ้นส่วนของข้อในอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ คือได้ 12.0±0.82 ยอด (ตารางที่ 5) ในสัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ๆในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ ยอดที่ได้จากอาหารสูตรที่มี BA 2 มก/ล ,ไคเนติน1.5 และ 2 มก/ล และยอดของพันธุ์วานิลลาที่ได้จากอาหารสูตรที่มี BA 2 มก/ล จะกลายเป็นสีเขียวอ่อนจนเกือบเหลืองและมีลักษณะใบแก้วมาก ต่อจากนั้นอีก 1 สัปดาห์ก็จะกลายเป็นสีน้ำตาลและตาย สำหรับยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยวนี้ จะมีลักษณะใบแก้วทั้งหมด (ภาพประกอบที่ 11Aและ11B)

4. การชักนำยอดจากชิ้นส่วนของปล้อง

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของปล้องในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น ชนิดละ 0.5, 1, 1.5 และ 2 มก/ล หลังจากเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์ ชิ้นส่วน

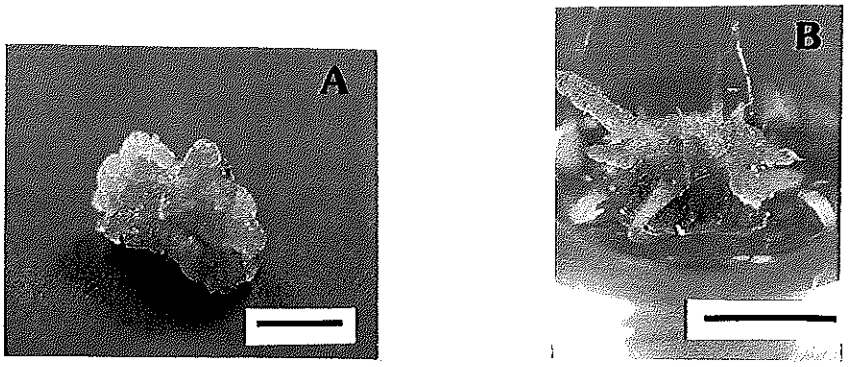
ภาพประกอบที่ 11 ยอดรวมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ซึ่งเกิดจากแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อโดยตรง ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 6 สัปดาห์ (A) ยอดรวมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนข้อของดาวเรืองพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ (B) ยอดรวมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อโดยตรงของดาวเรืองพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ (bar = 1 เซนติเมตร)

จะบวมและมีแคลลัสเกิดขึ้นตรงบริเวณรอยตัด ต่อมาอีก 2 สัปดาห์ แคลลัสจะเพิ่มขนาดจนคลุมชิ้นส่วนหมด แคลลัสมีสีเหลืองอ่อนจนเกือบขาวหรือสีขาวใส ๆ ลักษณะค่อนข้างฉ่ำน้ำ อ่อนนุ่มและแยกออกจากกันได้ง่าย (ภาพประกอบที่ 12A) บางชิ้นส่วนมีรากเกิดขึ้น (ภาพประกอบที่ 12B) ในพันธุ์ซอฟเวอร์เรนอาหารสูตรที่มี BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA1.5 มก/ล ,พันธุ์ดิสโคพเวอรี่อาหารสูตรที่มี BA1.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล และพันธุ์วานิลลาอาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่มี BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 1 มก/ล ทำให้ชิ้นส่วนของปล้องมีแคลลัสเกิดขึ้นดีกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1,2 และ3) ต่อจากนั้นได้ย้ายแคลลัสที่ได้ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อชักนำให้เกิดยอด เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 2 สัปดาห์ แคลลัสจะเริ่มกลายเป็นสีน้ำตาลและไม่มียอดเกิดขึ้นเลย หลังจากนั้นได้ย้ายแคลลัสนี้ไปยังอาหารสูตรเดิมและเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 4สัปดาห์ โดยมีการย้ายแคลลัสไปยังอาหารใหม่ทุก 2สัปดาห์ ปรากฏว่าแคลลัสกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำและตาย

นอกจากนี้จากการใช้ชิ้นส่วนของปล้องเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA และไคเนติน ความเข้มข้น 0.5 ,1 ,1.5 และ 2 มก/ล หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 3 สัปดาห์ ชิ้นส่วนจะบวมและเริ่มเป็นสีน้ำตาล แต่ในพันธุ์ซอฟเวอร์เรนชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี ไคเนติน จะมีรากเกิดขึ้นจากชิ้นส่วนด้วย เปอร์เซ็นต์การเกิดรากประมาณ 40 - 80 % และมีจำนวนรากไม่เกิน 10 ราก (ตารางที่ 7) ในแต่ละชิ้นส่วนที่มีรากเกิดขึ้นเมื่อย้ายชิ้นส่วนทั้งหมดไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และเพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยมีการย้ายไปยังอาหารใหม่สูตรเดิมทุก 2 สัปดาห์ ปรากฏว่าชิ้นส่วนกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำและตาย

5. การชักนำรากจากยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของดาวเรือง

หลังจากชักนำยอดได้จากชิ้นส่วนของใบและข้อของดาวเรืองแล้ว ได้ตัดยอดลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา



ภาพประกอบที่ 12 แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA

(A) แคลลัสจากอาหารที่เติม BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.5 มก/ล

(B) แคลลัสที่มีรากจากอาหารที่เติม BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล

(bar = 1 เซนติเมตร)

2 สัปดาห์ จะมีรากเกิดขึ้นที่โคนของยอด และยอดก็จะยืดยาวขึ้น ซึ่งเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 1 สัปดาห์ ก็จะได้ยอดยาวประมาณ 3 - 4 เซนติเมตร และมีรากประมาณ 10 - 30 ราก พร้อมสำหรับการย้ายลงปลูกในดิน

6. การศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นดาวเรืองเมื่อย้ายลงปลูกในดิน

เมื่อได้ต้นดาวเรืองจากการเพาะเลี้ยงที่มียอดยาวประมาณ 3 - 4 เซนติเมตร และมีรากประมาณ 10 - 30 ราก ก็จะนำต้นดาวเรืองนี้ลงปลูกในดิน ซึ่งในสัปดาห์แรกของการย้ายลงดิน จะต้องมีการดูแลรักษาความชื้นให้กับต้นดาวเรืองเป็นอย่างดี ต่อจากนั้น จะย้ายต้นดาวเรืองออกปลูกในสภาวะปกติ หลังจากปลูกได้ 1 สัปดาห์ ต้นดาวเรืองที่ได้จากชิ้นส่วนของใบโดยตรง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตดีกว่าต้นดาวเรืองที่ได้จากแคลลัส เพราะได้ยอดที่มีลักษณะปกติมากกว่า (ตารางที่ 9) และในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นดาวเรืองมากที่สุดถึง 92.9% จากต้นดาวเรืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบในอาหารสูตรที่มี BA 1.5 มก/ล (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 7 การเกิดรากและจำนวนรากจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของข้อในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA และจากชิ้นส่วนของข้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA หรือ ไคเนติน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ และเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเมื่อย้ายแคลลัสและชิ้นส่วนข้อ ลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรเริ่มเพาะเลี้ยง			เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (%)			จำนวนราก			เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด (%)		
BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	ไคเนติน (มก/ล)	S	D	V	S	D	V	S	D	V
0.5	0.5	-	0	60	100	-	++	+	0	60	0
0.5	1	-	25	100	100	+	++	+	0	0	0
0.5	1.5	-	40	50	80	+	+	+	0	0	0
0.5	2	-	0	60	40	-	+	+	0	0	0
1	0.5	-	20	100	40	+	++	+	0	60	0
1	1	-	40	25	67	++	+	+	0	75	0
1	1.5	-	40	40	100	+	+	+	0	0	0
1	2	-	40	0	0	+	-	-	0	0	0
1.5	0.5	-	80	75	67	++	+	+	0	0	100
1.5	1	-	0	80	33	-	+	++	0	75	40
1.5	1.5	-	20	20	67	+	+	+	0	0	0
1.5	2	-	20	20	60	+	+	+	0	75	0
2	0.5	-	20	50	100	+	+	+	0	0	60
2	1	-	40	0	100	+	-	+	0	60	0
2	1.5	-	0	40	20	-	+	+	0	0	80
2	2	-	0	0	33	-	-	+	0	0	0
0.5	-	-	100	50	0	+	+	-	0	50	0
1	-	-	67	50	0	-	+	-	0	100	20
1.5	-	-	67	0	0	-	-	-	0	25	60
2	-	-	0	20	0	-	++	-	0	100	25
-	-	0.5	100	100	100	++	++	++	0	60	0
-	-	1	25	80	100	++	+	++	0	60	0
-	-	1.5	80	100	100	++	++	++	0	20	0
-	-	2	80	100	100	++	++	++	0	33	0

S = Sovereign Golds , D = Discovery Yellows , V = Vanilla , - = ไม่มีราก , + = 1 – 10 ราก , ++ = 10 – 30 ราก

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและจำนวนรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง และ ปล้อง ในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA และอาหารสูตรที่มี BA หรือ ไคเนติน หลังจากเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์

ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต			ชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง						ชิ้นส่วนของปล้อง					
			เปอร์เซ็นต์การเกิดราก			จำนวนราก			เปอร์เซ็นต์การเกิดราก			จำนวนราก		
BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	ไคเนติน (มก/ล)	S	D	V	S	D	V	S	D	V	S	D	V
0.5	0.5	-	80	0	20	++	-	+	60	80	75	+	+	+
0.5	1	-	20	0	67	+	-	+	25	60	40	-	+	+
0.5	1.5	-	50	0	75	+	-	+	0	20	80	+	+	+
0.5	2	-	25	0	50	+	-	++	0	0	0	-	-	-
1	0.5	-	60	60	75	+	+	++	0	60	60	-	++	+
1	1	-	20	25	0	+	+	-	0	60	0	-	+	-
1	1.5	-	0	60	67	-	+	++	40	60	0	-	+	-
1	2	-	0	25	25	-	+	+	0	0	0	+	-	-
1.5	0.5	-	60	33	20	+	+	+	0	0	0	+	-	-
1.5	1	-	40	0	100	+	-	+	0	33	0	+	+	-
1.5	1.5	-	0	0	60	-	-	+	0	0	0	+	-	-
1.5	2	-	0	0	25	-	-	+	0	0	0	-	-	-
2	0.5	-	60	0	0	+	+	-	0	60	0	+	+	-
2	1	-	40	0	100	+	-	+	0	20	0	-	+	-
2	1.5	-	0	0	0	-	-	-	0	0	0	-	-	-
2	2	-	0	0	33	-	+	+	0	0	0	-	-	-
0.5	-	-	80	40	80	+	+	+	20	25	30	+	+	+
1	-	-	20	40	60	+	+	+	30	40	20	+	+	+
1.5	-	-	60	20	25	+	+	+	20	40	25	+	+	+
2	-	-	100	20	20	+	+	+	40	30	30	+	+	+
-	-	0.5	100	80	100	+	+	+	20	20	20	+	+	+
-	-	1	100	80	80	+	+	+	30	30	20	+	+	+
-	-	1.5	60	100	60	+	+	+	20	30	40	+	+	+
-	-	2	100	60	60	+	+	+	20	30	30	+	+	+

S =Sovereign Golds , D =Discovery Yellow , V = Vanilla , - = ไม่มีราก , + = 1 – 10 ราก , ++ = 10 – 30 ราก

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดลักษณะปกติ และ ยอดลักษณะเป็นใบแก้ว ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรเริ่มเพาะเลี้ยง			เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดลักษณะปกติ (%)			เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดลักษณะเป็นใบแก้ว (%)		
BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	ไคเนติน (มก/ล)	S	D	V	S	D	V
0.5	0.5	-	7.41	42.50	0	92.59	57.50	0
0.5	1.5	-	0	68.18	0	100	31.82	0
1.5	1.5	-	0	76.92	0	0	23.08	0
0.5	-	-	80	0	0	20	100	0
1	-	-	70.59	56.00	0	29.41	44	0
1.5	-	-	63.64	92.86	0	36.36	7.14	0
2	-	-	66.67	0	0	33.33	100	0

S = Sovereign Golds , D = Discovery Yellows , V = Vanilla

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง , ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และวานิลลา สีขาว ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบและข้อ เมื่อนำออกปลูกในดินเป็นเวลา 2 สัปดาห์

ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรเริ่มเพาะเลี้ยง			เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (%)			
			ชิ้นส่วนของใบ		ชิ้นส่วนของข้อ	
BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	ไคเนติน (มก/ล)	Sovereign	Discovery	Discovery	Vanilla
0.5	0.5	-	3.7	37.5	0	0
0.5	1.5	-	0	63.6	0	0
1	0.5	-	0	0	0	0
1	1	-	0	0	0	0
1.5	0.5	-	0	0	0	0
1.5	1	-	0	0	0	0
1.5	1.5	-	0	69.2	0	0
1.5	2	-	0	0	0	0
2	0.5	-	0	0	0	0
2	1	-	0	0	0	0
2	1.5	-	0	0	0	0
0.5	-	-	80	0	0	0
1	-	-	70.6	44	0	0
1.5	-	-	63.6	92.9	0	0
2	-	-	66.7	0	0	0
-	-	0.5	0	0	0	0
-	-	1	0	0	0	0

บทที่ 4

บทวิจารณ์

ตอนที่ 1 การเตรียมต้นกล้าปลอดเชื้อ

ในการทดลองนี้ได้ใช้วิธีการฆ่าเชื้อเมล็ด โดยใช้สารเคมี ซึ่งฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทวีน 20 เป็นเวลา 20 นาที มีต้นกล้าปลอดเชื้อรอดชีวิตและเจริญเติบโต โดยปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียถึง 95 - 98 % วิธีการใช้ต้นกล้าปลอดเชื้อเข้าร่วมในขบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นได้มีการใช้มาบ้างแล้ว คือ Berlarmino และคณะ (1992) ได้เตรียมต้นกล้าดาวเรืองแอฟริกันปลอดเชื้อ โดยการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดดาวเรืองด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์1.0 % ร่วมกับทวีน 20 เป็นเวลา 15 นาที Reynoird และคณะ (1993) ได้ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1.0 % ฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดเยอบีร่า เป็นเวลา 20 นาที ในการเตรียมต้นกล้าเยอบีร่าปลอดเชื้อ Meyer และ van Staden (1988) เตรียมต้นกล้าเยอบีร่าปลอดเชื้อ โดยฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดเยอบีร่าด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรต์3.5 % เป็นเวลา 5 นาที

ตอนที่ 2 ศึกษาการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนของใบ, ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง, ข้อและปล้อง ของ ดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง , พันธุ์ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และ พันธุ์วานิลลา สีขาว

จากการทดลองชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนของใบ ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง ข้อและปล้อง ของดาวเรืองทั้ง 3 พันธุ์ พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 มก/ล มีแคลลัสเกิดขึ้น แต่การทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตร MS ที่มี BA หรือ ไคเนติน ความเข้มข้น 0.5,1,1.5และ 2 มก/ล มีแคลลัสเกิดขึ้นเพียงบาง ๆบริเวณผิวของชิ้นส่วนหรือไม่มีแคลลัสเกิดขึ้นเลย อาจเป็นเพราะว่า สัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชระหว่างออกซิน(NAA)

กับไซโทไคนิน (BA) ที่มีในอาหารสมดุลกันจึงมีผลทำให้แคลลัสเจริญได้ดี (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2538) สอดคล้องกับการศึกษาของ Meyer และ van Staden (1988) ที่ได้ชักนำยอดจากตาข้างของเยอบีร่า โดยใช้อาหารสูตร MS ที่มี BA อย่างเดียว กับอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA ผลก็คือมีแคลลัสเกิดขึ้นจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA ร่วมกับ NAA แต่อาหารที่มี BA เพียงอย่างเดียวไม่มีแคลลัสเกิดขึ้นเลย และจากการศึกษาของ Berlarmino และคณะ (1992) ที่มีการชักนำยอดจากใบและลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงของดาวเรืองแอฟริกัน โดยใช้อาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA พบว่ามีแคลลัสเกิดขึ้นจากทุกชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง

จากการทดลองชักนำแคลลัสและยอดของดาวเรืองนี้มีปัญหาสำคัญอีกประการหนึ่ง คือ ดาวเรืองเป็นพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงแล้วจะปล่อยสารสีน้ำตาล (browning) ออกมาสะสมในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้เป็นพิษต่อชิ้นส่วนนั้น ๆ และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปก็จะทำให้ชิ้นส่วนตายได้ ดังนั้นจึงต้องแก้ปัญหาการปล่อยสารสีน้ำตาลของดาวเรือง โดยทั่ว ๆไปจะแก้ปัญหาโดยการเติมผงถ่านลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง เนื่องจากผงถ่านจะช่วยดูดสารพิษที่พืชปล่อยออกมา แต่ผงถ่านก็ยังสามารถดูดเอาสารอาหารอื่น ๆที่จำเป็นต่อพืชไปได้บางส่วนเช่นกัน (ธิดารัตน์ น้อยรักษา, 2533) นอกจากการแก้ปัญหาโดยการเติมผงถ่านลงในอาหารเพาะเลี้ยงแล้ว Berlamino และคณะ ((1992) ยังใช้ชิ้นส่วนของใบและลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงของดาวเรืองแอฟริกัน ที่จะเพาะเลี้ยงจุ่มลงในวิตามินซี1.0 % เป็นเวลา 1 นาทีก่อนที่จะวางชิ้นส่วนลงบนอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งทำให้ไม่มีการปล่อยสารสีน้ำตาลจากชิ้นส่วนนั้น ๆ เลย แต่จากการทดลองนี้ได้แก้ปัญหาการปล่อยสารสีน้ำตาล โดยย้ายแคลลัสหรือชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงไปยังอาหารใหม่ใน 3 สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยง และจะย้ายอีกทุก ๆ 2 สัปดาห์ ปรากฏว่าสามารถลดการปล่อยสารสีน้ำตาลของแคลลัสและชิ้นส่วนได้

ตอนที่ 3 ศึกษาการชักนำยอดของแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนของใบ, ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง ข้อ และปล้อง ของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง , ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และวานิลลาสีขาว

การชักนำยอดจากแคลลัสนั้น ในการทดลองนี้ แคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนของใบ มีการเจริญของยอดจากแคลลัสที่ได้จากใบของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน และพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ ซึ่งจะเห็นได้ว่าแคลลัสที่มีการเจริญของยอดเกิดขึ้น อาจเป็นเพราะว่าสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงสูตรนั้น ๆเป็นสัดส่วนที่สมดุลกันมากกว่าอาหารเพาะเลี้ยงสูตรอื่นที่แคลลัสไม่มีการเจริญของยอด หากสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตไม่สมดุลกันก็อาจทำให้ไม่สามารถกระตุ้นการเกิดยอดได้ การชักนำยอดจากแคลลัสที่ได้จากใบของดาวเรืองแอฟริกันนั้นBerlamino และคณะ (1992) ได้ศึกษาโดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบดาวเรืองแอฟริกันในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น อย่างละ 0.2, 0.5, 1, 2และ 5 มก/ล เมื่อได้แคลลัสจึงย้ายไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อชักนำให้เกิดยอด พบว่าไม่มียอดเกิดขึ้นจากแคลลัสเลย อาจเนื่องจากพันธุ์ของดาวเรืองที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่ได้ระบุพันธุ์ดาวเรืองที่ใช้อย่างแน่ชัดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้สัดส่วนอาจไม่สมดุลกันจึงทำให้ไม่กระตุ้นการเกิดยอด สัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่สมดุลและเหมาะสมสำหรับการชักนำยอดจากชิ้นส่วนใบของดาวเรืองแอฟริกัน อาจจะเป็นสัดส่วนที่ต้องมีไซโทไคนินปริมาณสูงร่วมกับออกซินปริมาณต่ำ สังเกตจากการศึกษาของ Kothari และ Chandra (1984) ได้ศึกษาการชักนำยอดจากแคลลัสที่ได้ในการเพาะเลี้ยงใบของดาวเรืองแอฟริกัน โดยเพาะเลี้ยงใบในอาหารสูตร MSที่มี BA ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1, 3และ 5 มก/ล พบว่าอาหารสูตรที่มี BA 3 และ 5 มก/ล ร่วมกับ IAA 1, 3 และ 5 มก/ล สามารถชักนำยอดได้ดี และเมื่อย้ายแคลลัสที่มียอดลงอาหารสูตรเดิม ปรากฏว่าอาหารที่มี BA 3 มก/ล ร่วมกับ IAA 1 มก/ล จะมีการเพิ่มจำนวนยอดจากแคลลัสนี้อย่างต่อเนื่อง

ในการทดลองชักนำยอดจากแคลลัสที่ได้ในการเพาะเลี้ยงข้อ พบว่ามีการเกิดยอดจากแคลลัส หลังจากย้ายไปยังอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 สัปดาห์ ซึ่งเกิดช้ากว่าการเกิดยอดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบ อาจเนื่องมาจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงข้อมีความต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตสำหรับการสร้างยอดในปริมาณที่มากกว่าแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบ สังเกตจาก ระยะเวลาและสภาวะที่เพาะเลี้ยง แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบจะมีการเกิดยอด ตั้งแต่ยังเพาะเลี้ยงอยู่ในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต แต่แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงข้อมีการเกิดยอดหลังจากย้ายแคลลัสลงเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 สัปดาห์ ซึ่งการย้ายแคลลัสไปยังอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตนั้น ทำเพื่อลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่พืชจะได้รับให้น้อยลง ในการทดลองนี้จำนวนยอดที่ได้มีจำนวนต่ำมาก อาจเป็นเพราะไซโทไคนินที่ใช้ในการกระตุ้นการเกิดยอด(ในการทดลองนี้ใช้ BA) อาจจะมีปริมาณน้อยเกินไปสำหรับกระตุ้นให้มีการสร้างยอดจากแคลลัสที่ได้จากเนื้อเยื่อของข้อ ข้อของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน อาจจะต้องการไซโทไคนินในปริมาณที่สูงกว่าดาวเรืองอีก 2 พันธุ์ เพราะแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงข้อของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรนไม่มีการสร้างยอด ไม่มีการเจริญและตาย อีกประการหนึ่งออกซินที่เติมลงไปในอาหาร (ในการทดลองนี้ใช้ NAA) มีผลยับยั้งการเกิดยอดในเนื้อเยื่อข้อของดาวเรืองได้เช่นกัน ดังนั้นปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมสำหรับกระตุ้นให้มีการสร้างยอดรวมจำนวนมาก ๆจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงข้อของดาวเรืองแอฟริกัน จะต้องมีการศึกษากันต่อไป

การทดลองชักนำยอดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงและปล้องนั้น เมื่อย้ายแคลลัสไปยังอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และเพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยย้ายแคลลัสไปยังอาหารใหม่สูตรเดิมทุก ๆ 2 สัปดาห์ ปรากฏว่าแคลลัสกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำและตาย ไม่มียอดเกิดขึ้นจากแคลลัส อาจเป็นเพราะปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้สัดส่วนไม่สมดุลกันจึง

ไม่สามารถกระตุ้นให้มีการสร้างยอดจากแคลลัสได้ยกเว้นแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงของดาวเรืองพันธุ์วานิลลามีการสร้างยอดจากแคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรที่มี BA 1.5 หรือ 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5มก/ล แต่เกิดขึ้นเพียง 2 ชิ้นส่วนใน 5 ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงและได้ยอดเพียงชิ้นส่วนละ 1 ยอดเท่านั้น การทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Berlarmino และคณะ(1992) ในการชักนำยอดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงของดาวเรืองแอฟริกัน มียอดเกิดขึ้นจากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล ซึ่งมียอดเกิดขึ้นเพียง 30 % จะเห็นว่าเป็นปริมาณที่ต่ำเช่นเดียวกัน และจากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 1 มก/ล มียอดเกิดขึ้น 50% เป็นจำนวนสูงสุด แต่ในการทดลองนี้จากอาหารสูตรเดียวกันนี้ไม่มียอดเกิดขึ้นเลย อาจเป็นเพราะพันธุ์ของดาวเรืองที่ใช้ในการทดลอง มีความต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตในสัดส่วนที่เหมาะสมแตกต่างกัน ซึ่งการศึกษาของ Berlarmino และคณะ (1992) ไม่ได้ระบุพันธุ์ของดาวเรืองที่ใช้ทดลอง

การชักนำยอดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบ, ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง, ข้อและปล้องของดาวเรืองทั้ง 3 พันธุ์นี้ จะมีรากเกิดขึ้นจากแคลลัสในระหว่างการเพาะเลี้ยง รากที่เกิดขึ้นมีสีขาว ยาวประมาณ 0.2 - 3 เซนติเมตร ใน 3 สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยงจะเกิดรากจากแคลลัสเกือบทุกแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปรากจะเพิ่มจำนวนขึ้นและบางแคลลัสจะมีรากเกิดขึ้นด้วย ซึ่งจากการศึกษาของ Berlarmino และคณะ (1992) โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS สำหรับชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนของใบและลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงของดาวเรืองแอฟริกัน ก็มีรากเกิดขึ้นจากแคลลัสเช่นเดียวกัน การเกิดรากจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของดาวเรือง อาจเนื่องมาจากชิ้นส่วนต่าง ๆ เหล่านี้มีศักยภาพในการเกิดรากโดยธรรมชาติอยู่แล้ว เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในที่ที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์ และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมลงไปในอาหารในปริมาณที่เหมาะสม จึงช่วยกระตุ้นให้มีการสร้างรากจากชิ้นส่วนเหล่านั้นได้ง่ายขึ้น

ตอนที่ 4 ศึกษาการชักนำยอดโดยตรงจากชิ้นส่วนของใบ , ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง , ข้อ และ ปล้อง ของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง , ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และ วานิลลา สีขาว

การชักนำยอดจากชิ้นส่วนของใบโดยตรง จะเห็นว่าในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ จากค่าความเข้มข้นของ BA กับจำนวนยอดที่ได้ หากเพิ่มความเข้มข้นของ BAให้มากขึ้นอาจทำให้ได้จำนวนยอดมากขึ้นด้วย ส่วนพันธุ์ซอฟเวอร์เรนนั้นความต้องการ BA ในการสร้างยอดจะมีแค่ระดับหนึ่งเท่านั้น สังเกตจากอาหารสูตรที่มี BA 1 มก/ล จะกระตุ้นให้มีการสร้างยอดจากชิ้นส่วนของใบได้ดี แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของ BAสูงหรือต่ำกว่านี้จำนวนยอดจะลดลง สำหรับในพันธุ์วานิลลานั้น อาจเป็นเพราะสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตไม่สมดุลกัน หรือความเข้มข้นยังไม่เหมาะสม จึงไม่มีการเกิดยอดจากชิ้นส่วนของใบ และจากการเปรียบเทียบจำนวนยอดที่ได้ระหว่างการชักนำยอดจากชิ้นส่วนใบโดยตรงกับการชักนำโดยผ่านแคลลัส จะเห็นว่า การชักนำจากชิ้นส่วนโดยตรงจะได้จำนวนยอดมากกว่า อาจเป็นไปได้ว่าออกซิน (NAA) ที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำแคลลัสนั้นไปยับยั้งการเกิดยอดจากชิ้นส่วนของใบในการทดลองชักนำยอดจากชิ้นส่วนของข้อโดยตรงนั้น จะเห็นว่าในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่มีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิด คือ BA และ ไคเนติน แต่ไคเนตินสามารถกระตุ้นให้มีการสร้างยอดรวมได้มากกว่า BA ส่วนในพันธุ์วานิลลานั้นตอบสนองต่อ BA เพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องมาจากการตอบสนองและความต้องการปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต ในดาวเรืองแต่ละพันธุ์แตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบวิธีชักนำยอดระหว่าง การชักนำจากข้อโดยตรง กับการชักนำโดยผ่านแคลลัสของดาวเรืองพันธุ์เดียวกัน พบว่าการชักนำจากข้อโดยตรง จะได้จำนวนยอดมากกว่า อาจเป็นเพราะ ออกซิน(NAA) ที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำแคลลัส มีผลในการยับยั้งการเกิดยอด เมื่อเปรียบเทียบการชักนำยอดระหว่างการชักนำยอดจากใบและข้อ การชักนำยอดจากข้อจะได้จำนวนยอดมากกว่าการชักนำยอดจากใบมาก เพราะข้อมีตาข้างที่เป็นจุดกำเนิดยอดตามธรรมชาติอยู่แล้ว ดังนั้นการกระตุ้นให้ข้อมีการสร้างยอดรวม จึงเป็นไปได้ง่ายกว่าการกระตุ้นใบ

การทดลองชักนำยอดจากชิ้นส่วนของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงและปล้อง พบว่าไม่มียอดเกิดขึ้นเลย อาจเป็นเพราะชิ้นส่วนทั้ง 2 นี้ ต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตปริมาณที่แตกต่างไปจากการทดลองนี้ เพื่อกระตุ้นให้มีการสร้างยอด ระหว่างการชักนำยอดโดยตรงจากชิ้นส่วนของใบ ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง ข้อและปล้องนี้จะมีรากเกิดขึ้นจากชิ้นส่วนด้วย รากมีสีขาวยาวประมาณ 0.7-3 เซนติเมตร การเกิดรากนี้ อาจเนื่องมาจาก แต่ละชิ้นส่วนที่ใช้เพาะเลี้ยงมีความสามารถในการเกิดรากโดยธรรมชาติอยู่แล้ว เมื่อนำมาเพาะเลี้ยง ในที่ที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์และมีการกระตุ้นโดยสารควบคุมการเจริญเติบโต จึงทำให้เกิดรากได้ง่ายขึ้น แม้แต่ใบที่มีโอกาสเกิดรากในธรรมชาติได้น้อยกว่าชิ้นส่วนอื่นมากก็ยังสามารถสร้างรากได้ เมื่อถูกกระตุ้นโดยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม ดังการทดลองนี้ ใบมีการตอบสนองต่อไคเนตินในการเกิดรากเพียงอย่างเดียว ไม่มีการตอบสนองในการเกิดรากต่อ BA เลย แต่ถ้าใช้ BA ร่วมกับNAA ก็สามารถกระตุ้นให้มีการสร้างรากจากใบได้

นอกจากสารควบคุมการเจริญเติบโตและวิธีการเพาะเลี้ยง มีผลในการชักนำยอดจากชิ้นส่วนต่าง ๆของดาวเรือง 3 พันธุ์นี้แล้ว อายุของชิ้นส่วนก็ยังมีผลด้วย ถ้าใช้ชิ้นส่วนที่มีอายุน้อยเกินไปเนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่ต่าง ๆได้น้อย จะทำให้การกระตุ้นให้เกิดยอดไม่ได้ผลเท่าที่ควร และถ้าใช้ชิ้นส่วนที่มีอายุมากเกินไปเนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงเพื่อทำหน้าที่ต่าง ๆ แล้วการจะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อกลับมาทำหน้าที่ตามต้องการนั้นก็จะทำได้ยาก จากการทดลองนี้ได้ทำการชักนำยอดจากชิ้นส่วนของใบและลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง อายุ 5 สัปดาห์ควบคู่ไปด้วย (ไม่ได้แสดงผล) ปรากฏว่าไม่มีการสร้างยอดเกิดขึ้นมีแต่รากเกิดขึ้นจากชิ้นส่วนเท่านั้น สำหรับชิ้นส่วนของข้อและปล้องนั้นไม่ได้ทำการทดลองในชิ้นส่วนที่อายุ 3 สัปดาห์ เพราะจำเป็นที่จะต้องใช้ชิ้นส่วนอายุ 5 สัปดาห์ เนื่องจาก ต้นกล้าดาวเรืองจะมีการยืดตัวของปล้องและมีจำนวนข้อมากพอที่จะใช้สำหรับเพาะเลี้ยง เพราะถ้าต้นกล้าอายุน้อยกว่านี้จะมีจำนวนข้อเพียงต้นละ 1 หรือ 2 ข้อเท่านั้น ทำให้ต้องใช้ต้นกล้าจำนวนมากขึ้น ซึ่งจะต้องซื้อเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองเพิ่มเนื่องด้วยเมล็ดมีราคาแพง จึงเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต

ตอนที่ 5 ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดจากยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนของใบและข้อ ของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง , ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และวานิลลาสีขาว

การเพิ่มจำนวนยอดจากยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนของใบ จะเห็นว่าในพันธุ์ซอฟเวอร์เรน ยอดที่ได้จากแคลลัสสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ใกล้เคียงกับยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนโดยตรงจากการใช้ BA เติมในอาหารเพาะเลี้ยง แต่ไม่มียอดเกิดขึ้นจากการใช้ไคเนตินเติมในอาหาร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากยอดของพันธุ์ซอฟเวอร์เรนต้องการไคเนตินเพิ่มสำหรับใช้ในการเพิ่มจำนวนยอด เพราะจากการศึกษาการชักนำยอดรวมจากปลายยอดของเยอบีร่า โดย Murashige และคณะ (1974) พบว่าเมื่อใช้ไคเนตินความเข้มข้นตั้งแต่ 2.5 - 20 มก/ล เติมในอาหารสูตร MS สามารถชักนำยอดรวมจากปลายยอดของเยอบีร่าได้ 6 - 9 ยอด โดยประมาณ จากยอดเดี่ยว 1 ยอด และ วัชรสุดา หวลกะสิน (2538) ได้ชักนำยอดรวมจากปลายยอดของดาวเรืองฝรั่งเศส พันธุ์ Aurelar yellow โดยเพาะเลี้ยงปลายยอดในอาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ ไคเนติน พบว่าปลายยอดมีการเกิดยอดรวมเฉลี่ยสูงสุดถึง 7.2 $\pm$ 1.3 ยอดต่อชิ้นส่วน จากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA1มก/ล ร่วมกับไคเนติน 3 มก/ล สำหรับในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ยอดที่ได้จากชิ้นส่วนโดยตรง สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้มากกว่ายอดที่ได้จากแคลลัส และยอดที่ได้ก็มากกว่าในพันธุ์ซอฟเวอร์เรน อาจเป็นเพราะในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่นี้ไม่ได้ต้องการปริมาณของไซโทไคนินในการสร้างยอดมากนัก เฉพาะไซโทไคนินที่ตกค้างมาจากอาหารเพาะเลี้ยงในขั้นตอนต้น ๆ ก็เพียงพอแล้ว การเพิ่มจำนวนยอดจากยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนข้อ ในพันธุ์วานิลลา ยอดที่ได้จากชิ้นส่วนโดยตรงสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้มากกว่ายอดที่ได้จากแคลลัสอย่างเห็นได้ชัด แสดงว่าออกซิน (NAA) ที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงสำหรับชักนำแคลลัสในตอนต้น ๆ มีผลยับยั้งการเกิดยอดในพันธุ์วานิลลา และความต้องการไซโตไคนิน ในการสร้างยอดของพันธุ์นี้ก็มีความต้องการเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เพราะไซโทไคนินที่ใช้ในการสร้างยอดเป็นไซโทไคนิน (BA)ที่ตกค้างมาจากอาหารเพาะเลี้ยงในขั้นตอนต้น ๆเท่านั้น ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อย

แต่ก็สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้เป็นจำนวนมาก สำหรับในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ ยอดที่ได้จากแคลลัสและยอดที่ได้จากชิ้นส่วนโดยตรง สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้เป็นจำนวนที่ใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนยอดที่ได้จากยอดที่มาจากการเพาะเลี้ยงใบ จำนวนยอดที่ได้จะใกล้เคียงกันมาก อาจสรุปได้ว่าพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ ต้องการไซโทไคนินสำหรับใช้ในการสร้างยอดรวมเป็นปริมาณที่น้อย แต่ก็ยังมากกว่าในพันธุ์วานิลลา เพราะเมื่อสังเกตปริมาณ BA ที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยง ที่ทำให้มีการสร้างยอดรวมเป็นจำนวนสูงสุดของแต่ละพันธุ์ ปรากฏว่าพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ ได้จำนวนยอดสูงสุดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA 1.5 มก/ล ส่วนในพันธุ์วานิลลาได้จากอาหารที่มี BA1 มก/ล

จากการชักนำยอดจากแคลลัสและชิ้นส่วนโดยตรงของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน , ดิสโคพเวอรี่ และวานิลลา ยอดที่ได้มีทั้งยอดที่เป็นยอดลักษณะปกติและยอดลักษณะใบแก้วเนื้อเยื่อค่อนข้างโปร่งใส ซึ่งจากการเพาะเลี้ยงข้อ พันธุ์ดิสโคพเวอรี่และพันธุ์วานิลลาเท่านั้นที่ชักนำยอดรวมได้สำเร็จ แต่ยอดที่ได้เป็นยอดที่มีลักษณะเป็นใบแก้วทั้งหมด และเมื่อนำยอดนี้ไปเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนยอด ยอดที่ได้ก็จะมีลักษณะใบแก้วทั้งหมด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะใช้ความเข้มข้นของไซโทไคนิน (BA) ต่ำ ซึ่งเป็นลักษณะเดียวกันกับการศึกษาของ Meyer และ van Staden (1988) ที่ได้ชักนำยอดจากตาข้างของเยอบีร่า โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ปรากฏว่ายอดที่ได้จากอาหารที่มีความเข้มข้นของ BA ต่ำกว่า 2.25 มก/ล จะมีลักษณะใบแก้วทั้งหมด ส่วนในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบ พันธุ์ซอฟเวอร์เรนและพันธุ์ดิสโคพเวอรี่เท่านั้น ที่ชักนำยอดรวมได้สำเร็จ และยอดที่ได้มีทั้งยอดลักษณะปกติและยอดลักษณะใบแก้ว ในพันธุ์ซอฟเวอร์เรนยอดที่ชักนำได้จากแคลลัสนั้นส่วนใหญ่จะมีลักษณะใบแก้ว แต่ยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนโดยตรงส่วนใหญ่จะมีลักษณะปกติ อาจเป็นผลของออกซินที่เติมลงไปในอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Laliberte และคณะ (1985) ได้ชักนำยอดจากเคพิทูลัมของเยอบีร่า โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงที่มี BA ร่วมกับ IAA พบว่ายอดที่ได้มีใบลักษณะไม่ปกติ ลักษณะค่อนข้างเป็นใบแก้ว แต่เมื่อเปลี่ยนไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA เพียงอย่างเดียว ได้ยอดที่มีลักษณะปกติ ยอดที่ได้จาก

ยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพันธุ์ซอฟเวอร์เรน เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนยอด ยอดลักษณะแบบไหนก็จะได้ยอดลักษณะแบบนั้น สำหรับพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ การชักนำยอดจากชิ้นส่วนใบ โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงที่มี BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นของออกซิน (NAA) อาจไม่มีผลต่อการเกิดยอดลักษณะใบแก้วมากนัก เพราะที่ความเข้มข้นของ BA เท่ากัน (0.5 มก/ล) และความเข้มข้นของ NAA ต่างกัน (0.5 และ 1.5 มก/ล) ที่ความเข้มข้นของ NAA สูงกว่า น่าจะมียอดลักษณะใบแก้วมากกว่า แต่กลับมียอดลักษณะใบแก้วน้อยกว่า ดังนั้นในพันธุ์ดิสโคพเวอรี่นี้ ออกซินความเข้มข้นสูง อาจเป็นสิ่งที่ทำให้ยอดมีลักษณะปกติ ซึ่งเมื่อใช้ร่วมกับ BAที่มีความเข้มข้นสูงเช่นกัน ก็จะช่วยส่งเสริมให้ยอดมีลักษณะปกติมากขึ้น สังเกตจากเปอร์เซ็นต์ของยอดลักษณะปกติที่เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ BA และ NAA เป็น 1.5 มก/ล และความเข้มข้นของ BA ที่เหมาะสม สำหรับการเกิดยอดลักษณะปกติจากชิ้นส่วนใบของพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ เป็นความเข้มข้นที่ 1.5 มก/ล เพราะจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหารที่มี BA 1.5 มก/ล ทำให้มียอดลักษณะปกติถึง 92.86 % เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ BA 1 มก/ล ได้เพียง 56 % เท่านั้น และที่ความเข้มข้น 0.5 และ 2 มก/ล ได้ยอดลักษณะใบแก้วทั้งหมด

จากการทดลองครั้งนี้สิ่งที่ควรมีการศึกษาต่อไปก็คือ การแก้ปัญหายอดที่มีลักษณะใบแก้ว เช่น จากการเพาะเลี้ยงข้อสามารถชักนำยอดรวมได้จำนวนมาก แต่ยอดที่ได้มีลักษณะใบแก้วเมื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ จะไม่รอดชีวิตเลย แต่ถ้าสามารถทำให้ได้ยอดที่มีลักษณะปกติ จะขยายพันธุ์ดาวเรืองได้มากกว่าที่ทำได้จากการทดลองนี้ ถ้าหากทำได้จะเป็นการขยายพันธุ์ดาวเรืองที่มีลักษณะดี แต่เมล็ดมีราคาแพง ทำให้ลดต้นทุนในการเพาะปลูกและสามารถเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรได้มากขึ้น

ตอนที่ 6 การชักนำรากจากยอดเพื่อเตรียมต้นกล้าสำหรับปลูกลงดิน

จากการทดลองนี้ได้ชักนำรากจากยอดโดยการนำยอดมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ภายใน 2 สัปดาห์ จะมีรากเกิดขึ้นที่โคนของยอด ดาวเรืองเป็นพืชที่เกิดรากได้ง่ายโดยธรรมชาติ เพียงนำยอดมาเพาะเลี้ยงในที่ที่มีสาร

อาหารอุดมสมบูรณ์ก็สามารถกระตุ้นให้มีการสร้างรากได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ วัชรสุดา หวลกะสิน (2538) ที่ได้ชักนำรากจากยอดของดาวเรืองฝรั่งเศส โดยใช้อาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ทำให้ได้รากที่ยืดยาวและแข็งแรง อาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตนี้สามารถชักนำรากจากยอดของเบญจมาศและได้ต้นเบญจมาศที่สมบูรณ์ด้วยเช่นกัน (สุเม อรัญนารถ , 2533)

ตอนที่ 7 ศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นดาวเรือง เมื่อย้ายลงปลูกในดิน

การนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงลงปลูกในดินภายใต้สภาพแวดล้อมธรรมชาติในช่วงแรกจะต้องมีการดูแลรักษา ในเรื่องของความชื้นเป็นอย่างดี Brainerd และ Fuchigami (1982) และ Ziv และคณะ (1987) อ้างโดย Selvapandiyan และคณะ (1988) รายงานว่าปากใบของพืชที่อยู่ในหลอดทดลองแตกต่างจากใบพืชในธรรมชาติ คือปากใบของพืชในหลอดทดลองจะเปิดอยู่ตลอดเวลาเพราะในหลอดทดลองมีความชื้นสูงกว่าสภาพแวดล้อมภายนอกมาก หากนำพืชในหลอดทดลองออกปลูกในสภาพแวดล้อมปกติ ระบบการทำงานของปากใบจะเปิดปิดไม่ดี ทำให้มีการสูญเสียน้ำอย่างรวดเร็ว ในการทดลองนี้ต้นกล้าดาวเรืองที่พร้อมจะนำลงปลูกในดิน จะถูกย้ายลงปลูกในกะบะโฟมสำหรับเพาะต้นกล้า วางกะบะโฟมบนชั้นเหล็กที่คลุมด้วยแผ่นพลาสติกใส และรองกะบะโฟมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ให้ความชื้นแก่ต้นดาวเรืองโดยการพ่นน้ำด้วยกระบอกฉีดน้ำ ให้น้ำวันละ 4 ครั้ง เฉพาะช่วงเวลากลางวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงย้ายต้นกล้า จากกะบะโฟม ลงปลูกในถุงดำหรือกระถางพลาสติก วางไว้ในเรือนเพาะชำ และดูแลรักษาตามปกติเหมือนการดูแลพืชในธรรมชาติ ต่อจากนี้ 1 สัปดาห์ ต้นดาวเรืองที่มีลักษณะปกติ จะรอดชีวิตทั้งหมด แต่ต้นดาวเรืองที่มีลักษณะอวบน้ำทั้งหมด จะตายตั้งแต่ลงปลูกในกะบะโฟม 3 - 5 วัน เป็นเพราะต้นที่มีลักษณะอวบน้ำต้องการความชื้นที่สูงกว่านี้มาก ซึ่งเป็นการยากที่จะรักษาความชื้นให้สูงตลอดเวลา นอกจากนี้การย้ายต้นกล้าดาวเรืองลงปลูกในดิน ได้ทดลองทำโดยการนำกะบะโฟมวางไว้ในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ โดยรองกะบะโฟมด้วยกระดาษหนังสือ

พิมพ์ และใช้น้ำราดกระดาษหนังสือพิมพ์ให้เปียกอยู่เสมอ รดน้ำให้ต้นดาวเรืองวันละ 2 ครั้ง เช้า - เย็น พ่นน้ำด้วยกระบอกฉีดน้ำ วันละ 4 - 5 ครั้ง เฉพาะช่วงเวลากลางวัน ปรากฏว่าได้ผลเหมือนกันกับวิธีแรก ดังนั้นการนำต้นกล้าจากหลอดทดลองลงปลูกในสภาพธรรมชาติ จะต้องมีการดูแลเกี่ยวกับความชื้นให้กับพืชเป็นอย่างดีในขั้นตอนแรก จนกว่าพืชสามารถปรับตัวได้ แล้วจึงปลูกเหมือนกับพืชปกติในธรรมชาติได้ วิธีเตรียมต้นกล้าจากหลอดทดลอง เพื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ มีหลายวิธี เช่น จากการศึกษาของ Selvapandiyan และคณะ (1988) ได้ย้ายต้นกล้าของต้นยาสูบและต้น *Solanum* ออกปลูก โดยใช้วิธีเคลือบผิวใบทั้ง 2 ด้านด้วยสารป้องกันการระเหยของน้ำ ได้แก่ กลีเซอรอล พาราฟิน และน้ำมัน (grease) ปรากฏว่าต้นกล้ารอดตายทั้งหมด ส่วนต้นกล้าที่ไม่ได้เคลือบสารป้องกันการระเหยของน้ำต้นยาสูบรอดตายน้อยมาก แต่ต้น *Solanum* ตายทั้งหมด นอกจากนี้ Imber และ Tal (1970) อ้างโดย Selvapandiyan และคณะ (1988) รายงานว่า การใช้กรดแอบไซซิก พ่นเป็นละอองบนใบมะเขือเทศ สามารถลดการสูญเสียน้ำได้ดี อย่างไรก็ตามการเตรียมต้นกล้าออกปลูกในสภาพธรรมชาตินั้น วิธีการต่าง ๆ จะมีความเหมาะสมสำหรับพืชแต่ละชนิดเท่านั้น

บทที่ 5

บทสรุป

จากการทดลองชักนำยอดจากชิ้นส่วนใบ , ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง , ข้อ และ ปล้อง ของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง,ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และวานิลลา สีขาว จากต้นกล้าปลอดเชื้อ , การชักนำแคลลัส , การชักนำยอดจากแคลลัส , การชักนำยอดจากชิ้นส่วนโดยตรง , การเพิ่มจำนวนยอดจากยอดที่ชักนำได้ , การชักนำรากจากยอด และการนำต้นกล้าที่เพาะเลี้ยงได้ออกปลูกในดิน สรุปผลได้ดังนี้

1. การเตรียมต้นกล้าปลอดเชื้อ พบว่าฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดดาวเรืองด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 20 % ร่วมกับ ทวีน 20 เป็นเวลา 20 นาที มีต้นกล้ารอดชีวิตและเจริญเติบโตโดยปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียถึง 95 - 98 %

2. การชักนำแคลลัส พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบ , ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง ข้อ และปล้องของดาวเรืองทั้ง 3 พันธุ์นี้ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSที่มี BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5,1,1.5 และ 2 มก/ล ใช้น้ำตาล 3%วุ้นตรานางเงือก 0.67% ปรับความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 5.7เพาะเลี้ยงในที่มีแสงสว่าง มีการเกิดแคลลัสได้ดีจากทุกชิ้นส่วน ในทุกสูตรอาหารที่เพาะเลี้ยง แต่อาหารที่ทำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ได้ดี มีดังนี้

ชิ้นส่วน	พันธุ์ซอฟเวอร์เรน	พันธุ์ดิสโคพเวอรี่	พันธุ์วานิลลา
ใบ	อาหารสูตรที่มีBA 1มก/ล ร่วมกับNAA1 มก/ล	อาหารสูตรที่มีBA 2มก/ล ร่วมกับNAA 1.5มก/ล	อาหารสูตรที่มีBA 2มก/ล ร่วมกับNAA 1มก/ล
ลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง	อาหารสูตรที่มีBA 2มก/ล ร่วมกับNAA 0.5 มก/ล	อาหารสูตรที่มีBA 2 มก/ล ร่วมกับNAA 0.5 มก/ล	อาหารสูตรที่มีBA 1,1.5 หรือ 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล
ข้อ	อาหารสูตรที่มีBA1.5มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล	อาหารสูตรที่มีBA 2 มก/ล ร่วมกับNAA 1 มก/ล	อาหารสูตรที่มีBA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 1 มก/ล
ปล้อง	อาหารสูตรที่มีBA 2 มก/ล ร่วมกับNAA 1.5 มก/ล	อาหารสูตรที่มีBA1.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล	อาหารสูตรที่มีBA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 1 มก/ล

3. การชักนำยอดจากแคลลัสและจากชิ้นส่วนโดยตรง พบว่าชิ้นส่วนต่าง ๆของดาวเรืองทั้ง 3 พันธุ์ มียอดรวมเกิดขึ้น จากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบและจากชิ้นส่วนใบโดยตรงของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรนและดิสโคพเวอรี่ และมียอดรวมเกิดขึ้นจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อและจากข้อโดยตรงของดาวเรืองพันธุ์ดิสโคพเวอรี่และวานิลลาเท่านั้น การเกิดยอดรวมจากชิ้นส่วนของใบนั้น ในพันธุ์ซอฟเวอร์เรนมีการเกิดยอดได้ดีจากแคลลัสที่มาจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ชนิดละ 0.5 มก/ล ได้จำนวนยอดเฉลี่ย 3.4 ±1.1 ยอด และจากชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA 1 มก/ล ได้จำนวนยอดเฉลี่ย 4.0 ±1.0 ยอด พันธุ์ดิสโคพเวอรี่มีการเกิดยอดได้ดีจากชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA 2มก/ล ได้จำนวนยอดเฉลี่ยถึง 8.5 ± 2.1 ยอด ส่วนการเกิดยอดรวมจากชิ้นส่วนข้อดาวเรืองพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ มีการเกิดยอดได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม ไคเนติน1 หรือ 2 มก/ล ได้จำนวนยอดเฉลี่ย 12.0 ± 3.7 และ 10. 7 ± 0.6 ยอด ตามลำดับ ในพันธุ์วานิลลามีการเกิดยอดได้ดีจากแคลลัสที่มาจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.5 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล และจากชิ้นส่วนข้อโดยตรงที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก/ล ได้จำนวนยอดเฉลี่ย 4.8 ±1.3 และ 5.0± 1.4 ยอด ตามลำดับ

4. การเพิ่มจำนวนยอดจากยอดที่ชักนำได้ พบว่าพันธุ์ดิสโคพเวอรี่ มีการเกิดยอดได้ดีจากยอดเดี่ยว ที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก/ล ซึ่งได้ 8.3 ± 3.1ยอดจากยอดเดี่ยว 1 ยอด และจากแคลลัสซึ่งเกิดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAAชนิดละ 0.5มก/ล ได้จำนวนยอด 8.7±0.6 ยอดจากยอดเดี่ยว 1 ยอด ส่วนพันธุ์วานิลลานั้น มีการเกิดยอดได้ดีจากยอดเดี่ยว ที่มาจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อโดยตรงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA1 มก/ล ได้จำนวนยอดถึง 12.0± 0.8 ยอดจากยอดเดี่ยว 1 ยอด

5. การชักนำรากจากยอด พบว่า เมื่อนำยอดที่เพาะเลี้ยงได้มาเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังจากเพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา 3 สัปดาห์ จะได้รากเกิดขึ้นที่โคนของยอด มีจำนวนประมาณ 10 - 30 ราก และยอดยาวประมาณ 3 - 4 เซนติเมตร

6. การนำต้นกล้าที่เพาะเลี้ยงได้ออกปลูกในดิน พบว่า การใช้กระดาษหนังสือพิมพ์เปียกน้ำรองภาชนะที่ใช้ปลูกต้นกล้าดาวเรือง และคลุมบริเวณที่วางภาชนะด้วยพลาสติกใส ฉีดน้ำให้ความชื้นอย่างสม่ำเสมอ ภายในเวลา 1 สัปดาห์ สามารถนำต้นดาวเรืองลงปลูกตามปกติในสภาพแวดล้อมธรรมชาติได้ แต่ต้นกล้าดาวเรืองที่มีลักษณะใบแก้วจะไม่รอดชีวิตเลย สำหรับต้นกล้าที่มีลักษณะปกติจะรอดชีวิตทั้งหมด และต้นกล้าพันธุ์ดิสโคพเวอรี่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุดถึง 92.9 % จากต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหารสูตรที่มี BA 1.5 มก/ล

บรรณานุกรม

กันยา เหมพัฒน์ . 2535 . ไม้ดอกไม้ประดับ . สงขลา : ภาควิชาพืชศาสตร์
คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ .

ธิดารัตน์ น้อยรักษา . 2533 . การขยายพันธุ์มังคุดโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ;
วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ . (สำเนา) .

นกเขาไฟ (นามแฝง) . 2534 . ไม้ดอกไม้ประดับ . พิมพ์ครั้งที่ 4 . ม.ป.ท. : ม.ป.พ.

นันทิยา สมานนท์ . 2535 . คู่มือการปลูกไม้ดอก . พิมพ์ครั้งที่ 3 กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์ .

ประศาสตร์ เกื้อมณี . 2538 . เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช . พิมพ์ครั้งที่ 2 .
กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์ .

ปิยะนุช จันทร์เพ็ญ . 2526 . "ดาวเรืองเกษตรสีเหลืองทองดอกยักษ์ " , ชาวเกษตร .
23 (เมษายน 2526) , 3 –13 .

วัชรสุดา หวลกะสิน . 2538 . "การชักนำให้เกิดยอดรวมจากปลายยอดดาวเรือง",
หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ โครงงานเทคโนโลยีชีวภาพ 1 คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ .

วิชัย อภัยสุวรรณ . 2532 . ดอกไม้และประวัติไม้ดอกเมืองไทย . กรุงเทพมหานคร .
สำนักงานธรรมชาติศึกษา .

สมเพียร เกษมทรัพย์ . 2524 . "ดาวเรืองไม้ตัดดอกเศรษฐกิจ " , ข่าวสารเกษตรศาสตร์
26 (กุภาพันธ์ – มีนาคม 2524) , 3 – 9 .

สมเพียร เกษมทรัพย์ . 2525 . การปลูกไม้ดอก . พิมพ์ครั้งที่ 2 . กรุงเทพฯ : คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

สุเม อรัญนารถ . 2533 . "เบญจมาศพันธุ์ใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ" , กสิกร .
63 (กันยายน – ตุลาคม 2533) , 420 –424 .

อรดี สหวัชรินทร์ . 2522 . ไม้ประดับในประเทศไทย . กรุงเทพมหานคร :
อมรินทร์การพิมพ์ .

เอเซี่ยนฟาร์มแมนเนจเมนท์ จำกัด , บริษัท . 2539 . คู่มือเมล็ดพันธุ์ไม้ดอก . เชียงใหม่ .

Berlamino , M. M. ; Toshinori , A. and Sasahara , T.1992 . "Callus Induction and Plant Regeneration in African Marigold (*Tagetes erecta* L.)", Japan J. Breed . 42 (1992) , 835 – 841 .

Kothari , S.L. and Chandra , N. 1982 . "Induction of Negatively Geotropic Roots in Cultures of *Tagetes patula* L." , Current Science .5 (Mar.1982) 238 –239 .

Kothari , S.L. and Chandra , N. 1984 . "*In Vitro* Propagation of African Marigold" , HortScience . 19 (1984) , 703 – 705 .

Laliberte ,S. ; Chretien , L. and Vieth , J. 1985 . "*In Vitro* Plantlet Production from Young Capitulum Explants of *Gerbera jamesonii* ", HortScience . 20 (1985) , 137 – 139 .

Meyer, H.J. and van Staden , J . 1988 . "The *In Vitro* Culture of *Gerbera aurantiaca* ", Plant Cell , Tissue and Organ Culture .14 (1988) , 25 – 30 .

Murashige ,T. ; Serpa , M. and Jones , J.B. 1974 . "Clonal Multiplication of Gerbera through Tissue Culture", HortScience . 9 (June 1974) , 175 – 180 .

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

Nakano , M. ; Hoshino , Y. and Mii , M. .1994 . "Adventitious Shoot Regeneration from Cultured Petal Explants of Carnation" , Plant Cell, Tissue and Organ Culture . 36 (1994) , 15 – 19 .

Pugliesi , C. ; Megale , P. ; Cecconi , F. and Baroncelli , S. 1993 . "Organogenesis and Embryogenesis in *Helianthus tuberosus* and in the interspecific hybrid *Helianthus annuus* × *Helianthus tuberosus* " , Plant Cell, Tissue and Organ Culture . 33 (1993) , 187 –193 .

Reynoird , J.P. ; Chriqui , D. ; Noin , M. ; Brown , S. and Marie , D. 1993 . "Plant Regeneration from *in Vitro* Leaf Culture of Several Gerbera Species", Plant Cell,Tissue and Organ Culture . 33 (1993) , 203 – 210 .

Selvapandiyan , A. ; Subramani , J. ; Bhatt , P.N. and Mehta , A.R. 1988 . "A simple method for direct transplantation of cultured plants to the field", Plant Science . 56(1988) , 81 – 83 .

van Altvorst , A.C. ; Koehorst , H.J.J. ; Bruinsma , T. and Dons , J.J.M. 1994 . "Improvement of Adventitious Shoot Formation from Carnation Leaf Explants", Plant Cell,Tissue and Organ Culture. 37 (1994) , 87 – 90.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มก/ล)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3	6.2
$MnSO_4.H_2O$	6.9
$ZnSO_4.H_2O$	6.14
KI	0.83
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Na_2EDTA	37.25
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
Glycine	4.0
Nicotinic acid	1.0
Pyridoxine – HCl	1.0
Thiamine – HCl	0.2
Myo - inositol	100
Sucrose	30,000
Agar	6,700

ตารางภาคผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดแคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนใบ , ไฮโปคอทิล , ข้อ และปล้อง ของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง , พันธุ์ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และพันธุ์วานิลลา สีขาว

	ซอฟเวอร์เรน				ดิสโคพเวอรี่				วานิลลา			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
df treatment	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
df error	60	61	61	57	55	47	60	58	54	58	46	52
F - ratio	** 4.1163	** 7.5403	** 4.8705	** 2.3654	ns 1.2313	** 10.2119	* 2.2151	** 4.8949	* 2.0316	** 5.5493	* 1.8741	** 4.1353

A = ชิ้นส่วนใบ , B = ชิ้นส่วนไฮโปคอทิล , C = ชิ้นส่วนข้อ , D = ชิ้นส่วนปล้อง

* แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน จำนวนยอดที่ได้จากแคลลัสและชิ้นส่วนใบและข้อ ของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง , พันธุ์ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และพันธุ์วานิลลา สีขาว

	ซอฟเวอร์เรน	ดิสโคพเวอรี่		วานิลลา
	ชิ้นส่วนใบ	ชิ้นส่วนใบ	ชิ้นส่วนข้อ	ชิ้นส่วนข้อ
df treatment	5	6	13	6
df error	16	20	33	16
F - ratio	3.9673 *	3.8206 **	14.3333 **	1.6094 ns

* แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง
ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวน จำนวนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเดี่ยว ๆ ที่มาจากแคลลัสและชิ้นส่วนของใบ และ ข้อ ของดาวเรืองพันธุ์ซอฟเวอร์เรน สีทอง , พันธุ์ดิสโคพเวอรี่ สีเหลือง และพันธุ์วานิลลา สีขาว

	ซอฟเวอร์เรน	ดิสโคพเวอรี่		วานิลลา
	ชิ้นส่วนใบ	ชิ้นส่วนใบ	ชิ้นส่วนข้อ	ชิ้นส่วนข้อ
df treatment	5	6	10	5
df error	18	24	224	16
F - ratio	1.2857 ns	3.7053 **	3.5027 **	40.9910 **

* แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง
ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวปิยรัตน์ บุษบงก์ไพฑูรย์

วัน เดือน ปีเกิด 23 ตุลาคม 2514

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ศึกษาศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี	2535