รายงานสหกิจศึกษา

เรื่อง อิทธิพลของฮอร์โมน BA และ NAA ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้น *Campanumoea celebica* Blume จากอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ ในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of BA and NAA on the growth of *Campanumoea celebica* Blume from Chiang Dao District, Chiang Mai Province *In Vitro*

นางสาวจุฑามาศ นามะลัง รหัส 5940202110

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

ภาคเรียนที่ 2 ปีการศึกษา 2562

กิตติกรรมประกาศ

นักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยา ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ตามที่ได้มาฝึกประสบการณ์วิชาชีพสหกิจศึกษา ณ สถานีวิจัยลำตะคอง วว. ระหว่างวันที่ 18 พฤศจิกายน 2562 ถึง วันที่ 6 มีนาคม 2563 ทำให้ได้รับความรู้ใหม่ๆและประสบการณ์ที่มีคุณค่าที่สามารถนำไปปรับใช้ในการทำงานได้อย่างยิ่ง

ขอขอบคุณ นายไมตรี มัณยานนท์ กลุ่มวิจัยด้านการผลิตพืชและสรีรวิทยาของพืช ที่ได้มอบโอกาส ได้ชี้แนะแนวและอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานครั้งนี้

ขอขอบคุณ นายจักรกฤษณ์ ศรีแสง นักวิจัยกลุ่มวิจัยด้านปรับปรุงพันธุ์พืชและเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำปรึกษา ช่วยเหลือ ชี้แนะแนวทางแก้ไข สอนวิธีการทำงานที่แตกต่างไปจากเดิม และดูแลตลอดการปฏิบัติงานครั้งนี้

ขอขอบคุณ นางสาวบัณฑิตา เพ็ญสุริยะ ผู้ช่วยนักวิจัย กลุ่มวิจัยด้านปรับปรุงพันธุ์พืชและเทคโนโลยีชีวภาพ พนักงานที่ปรึกษา ที่ได้ให้คำปรึกษา ช่วยเหลือ ชี้แนะแนวทางแก้ไข สอนวิธีการทำงานที่แตกต่างไปจากเดิม และดูแลตลอดการปฏิบัติงานครั้งนี้

ขอขอบคุณ บุคลากร ณ สถานีวิจัยลำตะคอง วว. ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ แนะนำ ดูแลตลอดการปฏิบัติงานเป็นอย่างดี ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ ผศ. ดร. แววดาว ดาทอง อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา ที่ได้ให้คำปรึกษา ช่วยเหลือและดูแลตลอดการปฏิบัติงานครั้งนี้

มีนาคม 2563

จุฑามาศ นามะลัง

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	**ก**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	**ข**
กิตติกรรมประกาศ	**ค**
สารบัญตาราง	**ง**
สารบัญรูปภาพ	**จ**
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	3
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยเกี่ยวข้อง	
2.1 อุทยานแห่งชาติเชียงดาว	4
2.2 ระฆังแก้ว	5
2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	6
2.3.1 เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	6
2.4 สารควบคุมการเติบโตของพืช (Plant Growth Regulator, P.G.R.)	8
2.4.1 ออกซิน (auxins)	9
2.4.2 จิบเบอเรลลิน (gibberellins)	9
2.4.3 ไซโตไคนิน (cytokinins)	9
2.4.4 เอทิลีนและสารปลดปล่อยเอทิลีน (ethylene and ethylene relasing compounds)	10
2.4.5 สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช (plant growth retardants)	10
2.4.6 สารยับยั้งการเจริญเติบโต (plant growth inhibitors)	10

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.4.7 สารอื่นๆ (miscellaneous)	11
2.5 การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD)	12
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง	
3.1.3 วัสดุ /อุปกรณ์	17
3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร	17
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อพืช	17
3.2 วิธีการดำเนินงาน	18
3.2.1 ทดสอบอัตราการงอกของต้นระฆังแก้ว	18
3.2.1.1 การชักนำเมล็ดให้งอก	19
3.2.2 ทดสอบอัตราการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว	20
3.2.2.1 การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว	20
บทที่ 4 ผลการศึกษา	
4.1 ทดสอบอัตราการงอกของต้นระฆังแก้ว	22
4.1.1 ผลการชักนำเมล็ดให้งอก	22
4.1.1.1 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 1	22
4.1.1.2 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 2	24
4.1.1.3 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 3	27
4.1.1.4 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 4	31
4.2 ทดสอบอัตราการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว	35
4.2.1 การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช	35
4.2.1.1 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 1	35
4.2.1.2 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 2	40
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการศึกษา	
5.1 ทดสอบอัตราการงอกของต้นระฆังแก้ว	45
5.1.1 การชักนำเมล็ดให้งอก	45
5.2 ทดสอบอัตราการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว	46
5.2.1 การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช	46

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้าที่**

ตารางที่ 1 ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียม stock ในปริมาตร 1 ลิตร 7

ตารางที่ 2 อัตราการเกิดและจำนวนต้นระฆังแก้วภายหลังที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้งหมด 15 สูตร อาหาร ระยะเวลา 1 สัปดาห์ 23

ตารางที่ 3 อัตราการเกิดและอัตราการปนเปื้อนของต้นระฆังแก้วภายหลังที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้งหมด 15 สูตรอาหาร ระยะเวลา 2 สัปดาห์ 25

ตารางที่ 4 อัตราการรอดชีวิตและอัตราการปนเปื้อนของต้นระฆังแก้วภายหลังที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้งหมด 15 สูตรอาหาร ระยะเวลา 3 สัปดาห์ 29

ตารางที่ 5 อัตราการรอดชีวิตและอัตราการปนเปื้อนของต้นระฆังแก้วภายหลังที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้งหมด 15 สูตรอาหาร ระยะเวลา 4 สัปดาห์ 33

ตารางที่ 6 ตารางบันทึกผลการเจริญเติบโต จำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอด จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ และความยาวต้น ในสัปดาห์ที่ 1 37

ตารางที่ 7 ตารางบันทึกผลการเจริญเติบโต จำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอด จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ และความยาวต้น ในสัปดาห์ที่ 2 42

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้าที่**

ภาพที่ 1 ระฆังแก้ว 5
ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 7
ภาพที่ 3 สูตรอาหารในจานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 15 สูตร 19
ภาพที่ 4 ชักนำเมล็ดระฆังแก้วให้เกิดเป็นต้นอ่อนในอาหารสูตร MS โดยเทคนิคการฟอกเมล็ด 19
ภาพที่ 5 ย้ายต้นอ่อนระฆังแก้วลงขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 21
ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วในสัปดาห์ที่ 2 แต่ละความเข้มข้น 26
ภาพที่ 7 การเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วในสัปดาห์ที่ 3 แต่ละความเข้มข้น 30
ภาพที่ 8 การเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วในสัปดาห์ที่ 4 แต่ละความเข้มข้น 34
ภาพที่ 9 การเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วสัปดาห์ที่ 1 ในขวดที่มีอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ NAA แต่ละความเข้มข้น 38
ภาพที่ 10 การเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วสัปดาห์ที่ 2 ในขวดที่มีอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ NAA แต่ละความเข้มข้น 43

กิตติกรรมประกาศ

นักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยา ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ตามที่ได้มาฝึกประสบการณ์วิชาชีพสหกิจศึกษา ณ สถานีวิจัยลำตะคอง วว. ระหว่างวันที่ 18 พฤศจิกายน 2562 ถึง วันที่ 6 มีนาคม 2563 ทำให้ได้รับความรู้ใหม่ๆและประสบการณ์ที่มีคุณค่าที่สามารถนำไปปรับใช้ในการทำงานได้อย่างยิ่ง

ขอขอบคุณ นายไมตรี มัณยานนท์ กลุ่มวิจัยด้านการผลิตพืชและสรีรวิทยาของพืช ที่ได้มอบโอกาสได้ ชี้แนะแนวและอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานครั้งนี้

ขอขอบคุณ นายจักรกฤษณ์ ศรีแสง นักวิจัยกลุ่มวิจัยด้านปรับปรุงพันธุ์พืชและเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำปรึกษา ช่วยเหลือ ชี้แนะแนวทางแก้ไข สอนวิธีการทำงานที่แตกต่างไปจากเดิม และดูแลตลอดการปฏิบัติงานครั้งนี้

ขอขอบคุณ นางสาวบัณฑิตา เพ็ญสุริยะ ผู้ช่วยนักวิจัย กลุ่มวิจัยด้านปรับปรุงพันธุ์พืชและเทคโนโลยีชีวภาพ พนักงานที่ปรึกษา ที่ได้ให้คำปรึกษา ช่วยเหลือ ชี้แนะแนวทางแก้ไข สอนวิธีการทำงานที่แตกต่างไปจากเดิม และดูแลตลอดการปฏิบัติงานครั้งนี้

ขอขอบคุณ บุคลากร ณ สถานีวิจัยลำตะคอง วว. ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ แนะนำ ดูแลตลอดการปฏิบัติงานเป็นอย่างดี ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ ผศ. ดร. แววดาว ดาทอง อาจารย์นิเทศก์สหกิจศึกษา ที่ได้ให้คำปรึกษา ช่วยเหลือและดูแลตลอดการปฏิบัติงานครั้งนี้

จุฑามาศ นามะลัง

มีนาคม 2563

ก

เรื่อง : อิทธิพลของฮอร์โมน BA และ NAA ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้น *Campanumoea celebica* Blume จากอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ ในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of BA and NAA on the growth of *Campanumoea celebica* Blume from Chiang Dao District, Chiang Mai Province *In Vitro*

ชื่อนางสาวจุฑามาศ นามะลัง รหัสประจำตัว 5940202110
หลักสูตร วท.บ.ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

บทคัดย่อ

Campanumoea celebica Blume หรือ ระฆังแก้ว อยู่ในวงศ์พระจันทร์ครึ่งซีก CAMPANULACEAE เป็นไม้เถา มีหัวใต้ดิน ขึ้นตามชายป่าดิบเขาหรือป่าสน ความสูง 1000-2000 เมตร พืชชนิดนี้จัดเป็นพืชหายากในระดับกลางของไทย จึงมีความสนใจที่จะนำมาศึกษาเพื่ออนุรักษ์ โดยเก็บเมล็ดตัวอย่าง จากอุทยานแห่งชาติเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศึกษาผลของ benzyladenine (BA) ร่วมกับ naphthalene acetic acid (NAA) ที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยนำเมล็ดระฆังแก้วฟอกฆ่าเชื้อ แล้วนำมาวางเลี้ยงบนอาหาร 15 สูตร เป็นอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่ปราศจากการเติมฮอร์โมน อาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่า อาหารวุ้นสูตร MS ที่ เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำเมล็ดให้งอกได้สูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำการงอกของเมล็ดระฆังแก้วได้ดีที่สุด และในการทดสอบอัตราการเจริญเติบโตโดยหาค่าเฉลี่ยของ จำนวนราก ,ความยาวราก,จำนวนยอด,จำนวนใบ,ความยาวใบ,ความกว้างใบ และความสูงต้นระฆังแก้ว สูตรอาหารที่มีการชักนำให้เกิดการเจริญ คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร, BA 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร, NAA 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร, NAA 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร, อาหารสูตร MS (ชุดควบคุม), BA 1 มิลลิลิตรต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ : วงศ์ CAMPANULACEAE, ฮอร์โมนพืช, ความเข้มข้น, การเจริญเติบโต, อัตราการงอก

Abstract

Campanumoea celebica Blume is in the CAMPANULACEAE family is a vine with tubers growing up in the evergreen forest or pine forest, height 1000-2000 meters above sea level. This plant is considered a middle rare plant in Thailand. Therefore there is interest to be studied for conservation By collecting seed samples from Chiang Dao National Park Chiang Mai Province By tissue culture, study the effect of benzyladenine (BA) with naphthalene acetic acid (NAA) that are suitable for growth. by using *Campanumoea celebica* Blume seeds were surface sterilized and cultured on MS medium with on 15 media as Murashige and Skoog (MS) without hormones. MS supplemented with 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 ml/L^{-1} of MS added 0.5 and 1.0 milliliters of NAA. and MS formula containing 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 ml/L^{-1} of BA and 0.5 and 1.0 ml/L^{-1} of NAA, it was found that MS media with 0.5 ml/L^{-1} of NAA in combination with BA 2.0 ml/L-1, can induce seed to germinate up to 70 percent. The best seedlings can be induced and the growth rate finding the mean number of roots, root length, number of shoots, number of leaves, leaf length, leaf width and the height. 0.5 ml/L^{-1} of NAA, 1.0 ml/L^{-1} of BA, 1.0 ml/L^{-1} in combination with BA 2.0 ml/L^{-1}, 1.0 ml/L^{-1} of NAA media. MS (control), BA 1 ml/L^{-1}, NAA 0.5 ml/L^{-1} respectively.

Keywords: CAMPANULACEAE, Plant growth regulators: PGRs , Concentration, Growth, Germination rate

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อุทยานแห่งชาติเชียงดาว เป็นแนวเทือกเขาติดต่อจากดอยเชียงดาวและดอยผาแดง เป็นป่าผืนเดียวกันกับเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเชียงดาวมีลักษณะภูมิประเทศเป็นเทือกเขาสลับซับซ้อน สภาพป่ามีความอุดมสมบูรณ์ มีจุดเด่นทางธรรมชาติที่น่าสนใจ เนื่องจากลักษณะภูมิประเทศเป็นเทือกเขาสลับซับซ้อน สภาพป่าอุดมสมบูรณ์ และเป็นแหล่งต้นน้ำลำธารหลายชนิด ชนิดป่าประกอบด้วย ป่าไม่ผลัดใบ ได้แก่ ป่าดงดิบแล้ง ป่าดงดิบเขา ป่าสนเขา พันธุ์ไม้ที่สำคัญคือ จำปีป่า ยาง ตะเคียน สมอพิเภก อบเชย ทะโล้ ไม้สนเขา ไม้เหียง ไม้พลวง ป่าผลัดใบ ได้แก่ เบญจพรรณ ป่าเต็งรัง พันธุ์ไม้ที่สำคัญคือ ประดู่ แดง ตะแบก ยอป่า เสลา ยมหิน ไผ่เวก ไผ่ป่า หญ้าชนิดต่างๆ เต็ง รัง ติ้ว แต้ว สมอไทย กระโดน รวมถึงต้นระฆังแก้ว ที่นำมาศึกษาในงานวิจัยนี้ด้วย

ระฆังแก้วมีชื่อวิทยาศาสตร์ ว่า *Campanumoea celebica* Blume Hook. f. & Thomson อยู่ในวงศ์ พระจันทร์ครึ่งซีก CAMPANULACEAE เป็นไม้เถา มีหัวใต้ดิน พืชวงศ์นี้มีสรรพคุณ ลดไข้ แก้หอบหืด บำรุงปอด แก้อาเจียนเป็นเลือด วัณโรค ปอดอักเสบ ทอนซิลอักเสบ เจ็บคอ ตาแดง ไส้ติ่งอักเสบ ลำไส้อักเสบ บิด ขับปัสสาวะ (เพื่อลดอาการบวมจากไตอักเสบ) ท้องมาน (เนื่องจากพยาธิใบไม้ในเลือดและดีซ่าน) ยาแก้มะเร็ง กระเพาะอาหาร หรือที่ทวารหนัก แก้ข้ออักเสบ เคล็ดขัดยอก บวมเจ็บ ฝี แผลเปื่อย บาดแผล กลากเกลื้อน ผื่นคัน และแก้คัดจมูก หรือโรคแพ้ เนื่องจากการใช้ยา เนื่องจากมีสารสำคัญคือ Lobeline, Flavone และ Inulin (นิจศิริ เรืองรังษี.,มปป.) ในจีนได้มีการศึกษาคุณสมบัติในการต่อต้าน hyperinsulinemia และต้านอนุมูลอิสระ จากสารสกัดของราก *javanica* กับหนู Chen et.al.(2013) แต่ยังไม่มีการค้นพบในประเทศไทย พบที่อินเดีย ภูฏาน เนปาล จีนตอนใต้ พม่า ลาว เวียดนาม ชวา ในไทยพบกระจายทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกที่ชัยภูมิ ขึ้นตามชายป่าดิบเขาหรือป่าสน ความสูง 1000-2000 เมตร (สุคนธ์ทิพย์ ศิริมงคล,มปป.)

พืชชนิดนี้จัดเป็นพืชหายากในระดับกลางของไทย จึงมีความสนใจที่จะนำมาศึกษาเพื่ออนุรักษ์ โดยเก็บเมล็ดตัวอย่าง จากอุทยานแห่งชาติเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งเป็นการขยายพันธุ์พืชอีกวิธีหนึ่ง วิธีนี้สามารถขยายพันธุ์ได้เร็ว และจำนวนมาก โดยนำชิ้นส่วนของพืชมาเพาะเลี้ยงลงบน อาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อที่มีการควบคุม สภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ โดยชิ้นส่วนของพืชนั้นสามารถ เจริญเติบโตและพัฒนาไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ ซึ่งมีทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ (เพชรรัตน์ จันทรทิณ,2556) อาหารสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้น เพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ต้องมีความเหมาะสม สามารถส่งเสริมการเจริญของเซลล์และเนื้อเยื่อพืชได้ รวมถึงฮอร์โมนพืช

ที่นิยมใช้ ได้แก่ ออกซิน และไซโทไคนิน เนื่องจากจะช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ การเจริญเติบโต และการเกิดเป็นโครงสร้างต่างๆ ของเนื้อเยื่อพืชในขวดทดลอง โดยที่ออกซิน และไซโทไคนิน ที่ใส่ในอาหารสังเคราะห์ จะช่วยเสริมฮอร์โมนที่เซลล์พืชสร้างขึ้นเองให้พัฒนา จากรายงานการศึกษาโดยเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของสตรอเบอร์รี่โดยใช้ฮอร์โมน BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส คือ 2 mg/l NAA + 1.5 mg/ lBA จากนั้น จึงนำแคลลัสมาชักนำให้เกิดยอด (มงคล ศิริจันทร์,2559) ต่อมา วนัญญา รู้ทวีผล (2554) ได้ศึกษาผลของ NAA และ BA ต่อต้นบล็อกซีเนีย พบว่า เมื่อเติม BA ร่วมกับ NAA แม้ว่าจะให้ผลดีกว่าการใช้ BA เพียงอย่างเดียว แต่มีแนวโน้มในทำนองเดียวกันคือ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA ขึ้นการเกิดยอดกลับลดลง โดยการใช้ BA 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดมากถึง 6 ยอดต่อชิ้น ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือปริมาณฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นระฆังแก้ว

1.2 วัตถุประสงค์

1.เพื่อศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของฮอร์โมน BA และ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นระฆังแก้ว (Campanumoea celebica Blume Hook. f. & Thomson) ที่เก็บรวบรวมได้จาก พื้นที่อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่

2.เพื่ออนุรักษ์พรรณไม้หายาก จากพื้นที่อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่

1.3 สมมุติฐานงานวิจัย

ฮอร์โมน BA และ NAA แต่ละความเข้มข้นมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วในสภาพปลอดเชื้อ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงอิทธิพลของความเข้มข้นของฮอร์โมน BA และ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อของต้นระฆังแก้ว

1.5 ขอบเขตของการศึกษา

เริ่มทำการวิจัยตั้งแต่วันที่ 9 มกราคม พ.ศ.2562 ถึงเดือน 29 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2563 เป็นระยะเวลา 3 เดือน

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.6.1 วงศ์ CAMPANULACEAE

CAMPANULACEAE หรือ วงศ์พระจันทร์ครึ่งซีก เป็นวงศ์อยู่ในอันดับ En:Asterales มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Campanumoea celebica* Blume ประกอบด้วย 2400 สปีชีส์ใน 84 สกุล ส่วนใหญ่เป็นพืชล้มลุก ไม้พุ่ม ส่วนน้อยเป็นไม้ยืนต้น มักมียางสีขาวที่ไม่มีพิษ

1.6.2 ฮอร์โมนพืช

คือ เป็นสารที่พืช หรือต้นไม้ผลิตมาเองตามธรรมชาติ ผลิตขึ้น ณ จุดใดจุดหนึ่ง แล้วเคลื่อนย้ายไปยังส่วนต่างๆ และมีอิทธิพลต่อขบวนการเติบโต การติดดอกออกผล การพัฒนาของผล การสุกแก่ไปจนสิ้นอายุไขของต้นไม้ 1-naphthaleneacetic (NAA), 6-benzyladenine (BAP)

1.6.3 ความเข้มข้น

คือ การวัดปริมาณของสสารที่กำหนดซึ่งผสมอยู่ในสสารอีกชนิดหนึ่ง ใช้วัดสารผสมทางเคมีชนิดต่าง ๆ แต่บ่อยครั้งแนวคิดนี้ก็ใช้จำกัดแต่เฉพาะสารละลาย ซึ่งหมายถึงปริมาณของตัวถูกละลายในตัวทำละลาย

1.6.4 การเจริญเติบโต

คือ การเพิ่มจำนวนของเซลล์การขยายขนาดจำนวนของเซลล์มีการ เปลี่ยนแปลงลักษณะของโครงสร้าง จากโครงสร้างหนึ่งไปเป็นอีกโครงสร้างหนึ่ง เช่นการเจริญเติบโตทางลำต้น หรือใบไปเป็นดอก ดอกเกิดเป็นผลเป็นต้น

1.6.5 อัตราการงอก

คือ การหาอัตราของเมล็ดที่งอกตอจำนวนเมล็ด ที่นำมาทดสอบ สามารถคำนวณไดจากจำนวนของเมล็ดที่มีการงอกหารดวยจำนวนเมล็ดทั้งหมด เมล็ดพันธุที่มีอัตราการงอกสูงจะเปนเมล็ดที่มีคุณภาพสูงเมื่อปลูกแลวมีโอกาสที่เมล็ดจะงอกสูง รวมถึงมีอัตราการอยูรอดสูง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อุทยานแห่งชาติเชียงดาว

เป็นแนวเทือกเขาติดต่อจากดอยเชียงดาวและดอยผาแดง เป็นป่าผืนเดียวกันกับเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเชียงดาว และอุทยานแห่งชาติศรีลานนา ซึ่งรวมเรียกว่า ป่าทางด้านเหนือของประเทศ เป็นต้นน้ำลำธารของแม่น้ำปิงและแม่แตง เรียกว่า ขุนน้ำปิงและขุนน้ำแม่แตง อยู่ในป่าสงวนแห่งชาติ ป่าเชียงดาว ท้องที่อำเภอเวียงแหง อำเภอเชียงดาว และป่าสงวนแห่งชาติป่าลุ่มน้ำแม่ฝาง ท้องที่อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ มีลักษณะภูมิประเทศเป็นเทือกเขาสลับซับซ้อน สภาพป่ามีความอุดมสมบูรณ์ มีจุดเด่นทางธรรมชาติที่น่าสนใจ คือ น้ำตกศรีสังวาลย์ น้ำตกปางตอง น้ำรูนิเวศน์ ถ้ำแกลบ ถ้ำตับเตา บ่อน้ำร้อนโป่งอาง ดอยผาตั้ง ดอยผาแดง จุดชมทิวทัศน์ยอดดอย นอกจากนี้ยังมีหลักฐานทางประวัติศาสตร์ที่น่าสนใจ มีเนื้อที่ทั้งหมดประมาณ 721,825 ไร่ หรือ 1,154.92 ตารางกิโลเมตรสภาพโดยทั่วไปเป็นเทือกเขาสลับซับซ้อน ภูเขาทางด้านตะวันออกส่วนใหญ่เป็นภูเขาหินชั้น มีดอยที่สำคัญได้แก่ ดอยถ้ำแกลบ ดอยหัวโท ดอยขุนห้วยไซ ดอยผาแดง ดอยถ้ำงอบ ดอยด่านฟาก เป็นต้น ภูเขาทางด้านตะวันตกส่วนใหญ่ เป็นเขตที่มีผืนป่าใหญ่ปกคลุมอยู่มีดอยที่สำคัญได้แก่ ดอยกำพร้า ดอยปุกผักกา ดอยเหล็กจี ดอยสันกิ่วคมพร้า ดอยกิ่วฮูลม ดอยถ้วย ดอยยางกลอ เทือกเขาตอนกลางระหว่างห้วยแม่จกถึง บ้านหนองเขียวแนวเหนือ-ใต้ เป็นที่ราบลุ่มที่มีความสูงไม่มาก มีดอยถ้ำยุง ดอยขุนเป้า เป็นต้น พื้นที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลระหว่าง 400-1,800 เมตร มียอดเขาทางทิศตะวันตกเฉียงใต้ที่มีความสูงสุดของพื้นที่ได้แก่ ดอยปุกผักกา มีความสูง 1,794 เมตรจากระดับน้ำทะเลปานกลาง เนื่องจากลักษณะภูมิประเทศเป็นเทือกเขาสลับซับซ้อน สภาพป่าอุดมสมบูรณ์ และเป็นแหล่งต้นน้ำลำธารหลายชนิด ชนิดป่าประกอบด้วย ป่าไม่ผลัดใบ ได้แก่ ป่าดงดิบแล้ง ป่าดงดิบเขา ป่าสนเขา พันธุ์ไม้ที่สำคัญคือ จำปีป่า ยาง ตะเคียน สมอพิเภก อบเชย ทะโล้ ไม้สนเขา ไม้เหียง ไม้พลวง ป่าผลัดใบ ได้แก่ เบญจพรรณ ป่าเต็งรัง พันธุ์ไม้ที่สำคัญคือ ประดู่ แดง ตะแบก ยอป่า เสลา ยมหิน ไผ่เวก ไผ่ป่า หญ้าชนิดต่างๆ เต็ง รัง ติ้ว แต้ว สมอไทย กระโดน รวมถึงต้นระฆังแก้ว ด้วย (สำนักงานพัฒนาชุมชนอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่,2559)

2.2 ระฆังแก้ว

เป็นพืชในวงศ์พระจันทร์ครึ่งซีก หรือ CAMPANULACEAE เป็นวงศ์อยู่ในอันดับ En:Asterales มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Campanumoea celebica* Blume ประกอบด้วย 2400 สปีชีส์ใน 84 สกุล ไม้เถา มีหัวใต้ดิน ลำต้นเกลี้ยง ใบเรียงตรงข้ามหรือเกือบตรงข้าม รูปไข่หรือรูปหัวใจ ยาว 2.5-8 ซม. โคนเว้าตื้น ขอบเรียบหรือจักฟันเลื่อยห่าง ๆ แผ่นใบเกลี้ยงหรือมีขนประปรายด้านล่าง ก้านใบยาว 1.5-6 ซม. ดอกออกเดี่ยว ๆ ตามซอกใบ ก้านดอกยาว 1-5 ซม. กลีบเลี้ยงอยู่ใต้รังไข่ ไม่เชื่อมติดรังไข่ ติดทน มี 5 กลีบ แฉกลึกเกือบจรดโคน กลีบรูปไข่แกมรูปขอบขนาน ยาว 1-2 ซม. ดอกสีขาวอมเขียว ด้านในมีลายสีม่วงอ่อน รูประฆังคว่ำ ยาว 1.5-3.5 ซม. ปลายแยก 5 แฉก ลึกประมาณกึ่งหนึ่ง เกสรเพศผู้ 5 อัน ก้านชูอับเรณูรูปเส้นด้าย ติดใต้รังไข่ ไม่ยื่นพ้นหลอดกลีบดอก รังไข่ใต้กลีบดอก มี 5 ช่อง ก้านเกสรเพศเมียยาวประมาณ 1 ซม. ยอดเกสรจัก 3 พู ผลสด เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-2.5 ซม. ผลแก่สีม่วง เมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก (สุคนธ์ทิพย์ ศิริมงคล, มปป.)

ภาพที่ 1 ระฆังแก้ว

ที่มาภาพ : สุคนธ์ทิพย์ ศิริมงคล (มปป.)

สกุล *Campanumoea* Blume มีเพียงชนิดเดียว แยกเป็น subsp. japonica (Makino) D. Y. Hong พบที่จีน ไต้หวัน และญี่ปุ่น ชื่อสกุลมาจากภาษาละติน “ampana” หมายถึงคล้ายระฆัง ตามลักษณะดอก

ชื่อพ้อง: *Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. & Thomson

ชื่ออื่น: พวงชวา, ระฆังแก้ว

พบที่อินเดีย ภูฏาน เนปาล จีนตอนใต้ พม่า ลาว เวียดนาม ชวา ในไทยพบกระจายทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกที่ชัยภูมิ ขึ้นตามชายป่าดิบเขาหรือป่าสน ความสูง 1000-2000 เมตร (สุคนธ์ทิพย์ ศิริมงคล, มปป.)

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่ง เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ปริมาณมาก ได้ต้นพันธุ์ที่ตรงตามพันธุ์ในเวลารวดเร็ว นอกเหนือจากใช้ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ ซึ่งผลิตต้นพันธุ์เพื่อการส่งออกมาเป็นเวลานานแล้ว ปัจจุบันมีเอกชนนำเทคนิคนี้ไปใช้เพื่อประโยชน์ทางการค้ากับพืชหลายชนิด เช่น ขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับจำนวนมากเพื่อการส่งออก เช่น ปทุมมา ไม้น้ำ หรือ ในการผลิตต้นพันธุ์พืชใช้ในการเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร เช่น สับปะรด หน่อไม้ฝรั่ง กล้วย นอกจากนั้นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังเป็นเทคนิคพื้นฐานซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการวิจัยได้หลายสาขา เช่น การปรับปรุงพันธุ์พืช การคัดพันธุ์พืช การขยายพันธุ์พืช การผลิตพืชสมุนไพรเพื่อการสกัดสารสำคัญทางยา (เพชรรัตน์ จันทรทิณ, 2556) ชิ้นส่วนของพืชที่เพาะเลี้ยงจะเจริญได้ 3 รูปแบบ

1. เจริญเป็นต้นที่มีรากหรือบางทีก็มีดอก เรียกว่าเกิด organogenesis

2. เจริญเป็นแคลลัส (callus) ซึ่งเป็นกลุ่มของเซลล์ ส่วนใหญ่จะเป็น parenchyma cell ที่ยังไม่เปลี่ยน แปลงไปเป็นต้นหรือรากแต่ก็สามารถเป็นต้นได้

3. เจริญไปเป็น embryoid ซึ่งมีลักษณะเหมือน embryo ที่ได้จาก zygote แต่ embryoid ได้มาจาก somatic cell จะเจริญเติบโตเป็นต้นที่มีรากต่อไป

2.3.1.เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มี 5 ขั้นตอน

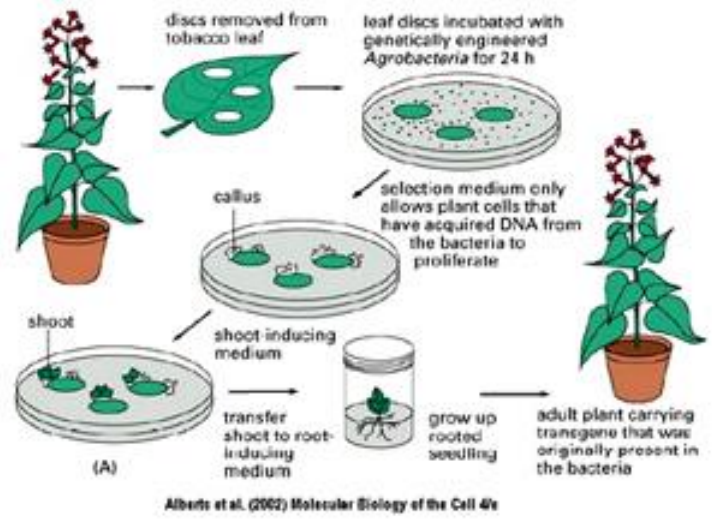
2.3.1.1 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เตรียม stock อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) (ตารางที่ 1.1)

2.3.1.2 การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช

2.3.1.3 การนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชลงขวด

2.3.1.4 การนำขวดเนื้อเยื่อพืชไปเลี้ยง

2.3.1.5 การย้ายเอาพืชออกจากขวดปลูกลงดิน



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ที่มาภาพ: เพชรรัตน์ จันทรทิณ (2556)

ตารางที่ 1 ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียม stock ในปริมาตร 1 ลิตร

ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียม stock ในปริมาตร 1 ลิตร		
Stock MS1 ความเข้มข้น 50 เท่า 20ml / L		น้ำหนักสารเคมี (กรัม)
(กรัม) KNO_3	Potassium nitrate	95
NH_4 NO	Ammonium nitrate	82. 5
stock MS2 ความเข้มข้น 50 เท่า 20ml / L		น้ำหนักสารเคมี (กรัม)
$CaCl_2 2H_2O$	Calcium chloride anhydrous	22
Stock MS3 ความเข้มข้น 50 เท่า 20ml / L		น้ำหนักสารเคมี (กรัม)
$MgSO_4 7H_2O$	Magnesium sulfate	18.5
Stock MS4 ความเข้มข้น 50 เท่า 20ml / L		น้ำหนักสารเคมี (กรัม)
KH_2PO_4	Potassium dihydrogen phosphats	8. 5
H_2O		1000 ml
Stock MS5 ความเข้มข้น 100 เท่า 10ml / L		น้ำหนักสารเคมี (กรัม)
$MnSO_4 H_2O$	Manganese sulfate. H_2O	1. 69
$CoCl_2 6H_2O$	Cobalt chloride. 6H O	0. 0025
$ZaSO_2 7H_2O$	Zinc sulfate $7H_2O$	0. 86
$CuSO_4 5H_2O$	Cupric sulfate	0. 0025
H_3BO	Boric acid	0. 62
$Na_2MoO_4 2H_2O$	Molybdic acid (sodium salt)	0. 025

Kl	Potassium iodide	0. 083
HO		1000 ml
stock MS6 ความเข้มข้น 100 เท่า 10ml / L		น้ำหนักสารเคมี (กรัม)
$FeSO_4 7H_2O$	Ferrous sulfate. $7H_2O$	2.78
Na_2- EDTA	Sodium – EDTA	3.72
H. O		1000 ml
Stock MS7 ความเข้มข้น 100 เท่า 10ml / L		น้ำหนักสารเคมี (กรัม)
Nicotinic acid		0.05
Pyridoxine-HCl		0.05
Thiamine-HCl		0.01
Myo-inositol		10
Glycine		0. 2
H_2O		1000 ml

2.4 สารควบคุมการเติบโตของพืช (Plant Growth Regulator, P.G.R.)

พืชทุกชนิดที่เจริญเติบโตขึ้นมา นอกจากต้องการปัจจัยสิ่งแวดล้อมและธาตุอาหารต่างๆ ซึ่งได้แก่ น้ำ ดิน ธาตุอาหารต่างๆ เช่น P, K, N และอื่นๆ แสง อุณหภูมิ และกิจกรรมต่างๆ ที่เป็นปฏิกิริยาทางชีวเคมีภายในเซลล์แล้ว พืชยังต้องการสารอินทรีย์ที่ท้าหน้าที่ควบคุมกิจกรรมต่างๆ เหล่านั้น ซึ่งได้แก่ ฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นมาควบคุมการเจริญเติบโตของพืช จึงเรียกสารอินทรีย์เหล่านี้ว่า สารควบคุมการเติบโตของพืช (plant growth regulator, PGR) ฮอร์โมนพืชสามารถเคลื่อนย้ายภายในต้นพืชได้และมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพและการพัฒนาของเนื้อเยื่อ และอวัยวะของพืชซึ่งได้รับฮอร์โมนนั้น ๆ คำว่า ฮอร์โมน นั้นเริ่มใช้โดยนักสรีรวิทยาของสัตว์ ซึ่งต่อมานักสรีรวิทยาของพืชได้นำมาใช้กับสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งสามารถมีผลกระทบในปริมาณที่น้อยมาก โดยพืชจะสังเคราะห์ที่ส่วนหนึ่งแล้วเคลื่อนย้ายไปยังอีกส่วนหนึ่ง และมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาที่ค่อนข้างเฉพาะเจาะจง ดังนั้นในการศึกษาทางด้านฮอร์โมนจึงมักศึกษาในแง่ของแหล่งและกระบวนการสังเคราะห์ การเคลื่อนที่และเคลื่อนย้าย และปฏิกิริยาของฮอร์โมนที่มีต่อพืช สารควบคุมาการเจริญเติบโตแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยได้ 7 กลุ่มด้วยกันคือ

2.4.1 ออกซิน (auxins) เป็นกลุ่มของสารที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ (cell enlargement) การแบ่งตัวของเซลล์ในแคมเบียม การขยายขนาดของใบ การเกิดราก การขยายขนาด

ของผลป้องกันการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล ยับยั้งการแตกตาข้าง ฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นก็คือ ไอเอเอ (IAA) โดยสร้างมากที่บริเวณปลายยอดปลายราก ผลอ่อน และบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) อยู่มากปริมาณไอเอเอภายในเนื้อเยื่อพืชแต่ละส่วนมีมากน้อยแตกต่างกันไปโดยจะมีอยู่มากในส่วนที่กำลังเจริญเติบโต การรักษาระดับปริมาณภายในเนื้อเยื่อพืชถูกควบคุมโดย ระบบการสร้างและการทำลายพร้อมๆกันถ้าเป็นเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตจะมีการสร้างมากกว่าการทำลาย และในทางตรงกันข้าม ในเนื้อเยื่อที่มีอายุมากขึ้นจะมีการทำลายมากกว่าการสร้าง สารสังเคราะห์ที่จัดอยู่ในกลุ่มออกซินที่ใช้กันมาก ได้แก่ เอ็นเอเอ (NAA) ไอบีเอ (IBA) 4-ซีพีเอ (4-CPA) 24-ดี (24-D)

2.4.2 จิบเบอเรลลิน (gibberellins) เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการยืดตัวของเซลล์ (cell elongation) ทำลายการพักตัวของพืชกระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิดและยับยั้งการออกดอกของพืชบางชนิดสารกลุ่มนี้มีทั้งที่พืชสร้างขึ้นเองและเชื้อราบางชนิดสร้างขึ้นในปัจจุบันพบจิบเบอเรลินทั้งหมด 102 ชนิดโดยที่ทุกชนิดเรียกชื่อเหมือนกันคือจิบเบอเรลลินเอหรือจีเอ (gibberelin A) (GA) แต่มีหมายเลขตามหลังตั้งแต่ 1 ถึง 71 เช่น GA3, GA4, GA7 สาร GA 3 เป็นจิบเบอเรลลินที่นำมาใช้มากทางการเกษตร โดยมีชื่อเรียกเฉพาะของสารจีเอ 3 ว่าจิบเบอเรลลิก แอซิค (gibberellic acid) พืชสามารถสร้างจีเอ 3 ได้โดยมีปริมาณน้อยมากซึ่งจีเอ 3 ที่นำมาใช้ทางการเกษตรนั้นได้มาจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราบางชนิดแล้วสกัดจีเอ 3 ออกมาเนื่องจากปัจจุบันยังไม่สามารถสังเคราะห์จีเอได้ด้วยวิธีทางเคมี

2.4.3 ไซโตไคนิน (cytokinins) เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืชชะลอการแก่ชราและกระตุ้นการแตกตาข้างพบมากในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญและในคัพภะ (embryo) ส่วนใหญ่แล้วไซโตไคนินมีการเคลื่อนย้ายน้อยแต่มีคุณสมบัติสำคัญในการดึงสารอาหารต่างๆมายังแหล่งที่มีไซโตไคนินสะสมอยู่ (cytokinin-induced translocation) ฮอร์โมนที่พบในพืช ได้แก่ ซีอาติน (zeatin) ส่วนสารสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ บีเอพี (BAP) และไคเนติน (Kinetin)

2.4.4 เอทิลีนและสารปลดปล่อยเอทิลีน (ethylene and ethylene relasing compounds) เอทิลีนเป็นก๊าซชนิดหนึ่งและจัดเป็นฮอร์โมนพืชเนื่องจากพืชสร้างขึ้นมาได้โดยมีผลควบคุมการแก่ชราการสุกรวมทั้งการออกดอกของพืชบางชนิดและเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของใบดอกผลการเหลืองของใบการงอกของหัวพืชและเมล็ดพืชบางชนิด เอทิลีนจะสร้างมากในส่วนของพืชที่กำลังเข้าสู่ระยะชราภาพ (senescence) เช่นในผลแก่หรือใบแก่ใกล้หลุดร่วงเนื่องจากเอทิลีนเป็นก๊าซ ดังนั้นจึงฟังกระจายไปได้ทั่วจึงไม่มีการเคลื่อนย้ายเหมือนกับฮอร์โมนในกลุ่มอื่นๆสารอินทรีย์บางชนิดมีคุณสมบัติคล้ายเอทิลีน เช่น อะเซทิลีน (acetylene) โปรปิลีน (propylene) ดังนั้นจึงอาจนำสารเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ทางการเกษตรได้เช่นกันยกตัวอย่างได้แก่การใช้อะเซทิลีนในการบ่มผลไม้และเร่งการออกดอกของสับปะรดเป็นต้นแต่เนื่องจากว่าสารที่กล่าวมานี้เป็นก๊าซจึงมีความยุ่งยากในการใช้และไม่สามารถควบคุมความเข้มข้นได้

แน่นอนโดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในแปลงปลูกพืชดังนั้นจึงได้มีการสังเคราะห์สารบางชนิดซึ่งเป็นของเหลว แต่สามารถปลดปล่อยหรือสลายตัวได้ก๊าซเอทิลีนซึ่งได้แก่ เอทีฟอน (ethephon)

2.4.5 สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช (plant growth retardants) สารกลุ่มนี้ไม่จัดเป็นฮอร์โมนพืชแต่เป็นสารสังเคราะห์ทั้งหมดมีคุณสมบัติสำคัญคือยับยั้งการสร้างหรือยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนจิบเบอร์เรลลินในพืช จึงมีผลลดการยืดตัวของเซลล์ทำให้ปล้องสั้น ใบหนาเขียวเข้ม กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิดและมีคุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่ ทำให้พืชทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเช่น ร้อนจัดเย็นจัดดินแห้งดินเกลือเพิ่มผลผลิตพืชบางชนิดเพิ่มการติดผลของพืชบางชนิดสารชะลอการเจริญเติบโตที่สำคัญได้แก่แอนซิมิคอล (ancymidol) คลอมีควอท (chlormequat) แพกโคลบิวทราโซล (paclobutrazol) เมพิควอทคลอไรด์ (mepiquat chloride)

2.4.6 สารยับยั้งการเจริญเติบโต (plant growth inhibitors) สารกลุ่มนี้มีหน้าที่ในการถ่วงดุลกับสารเร่งการเติบโตพวกออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโตไคนิน เพื่อให้การเติบโตเป็นไปอย่างพอเหมาะพอดี ส่วนใหญ่มีหน้าที่ยับยั้งการแบ่งเซลล์และการเติบโตของเซลล์ทำให้เกิดการพักตัว (dormancy) และเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของอวัยวะพืช ฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีพบในพืชมีกว่า 200 ชนิด แต่ที่สำคัญที่สุดและรู้จักกันดีคือ เอบีเอ (ABA) (abscisic acid) ในทางการเกษตรมีการใช้ประโยชน์จากสารกลุ่มนี้น้อยมาก อย่างไรก็ตามมีการใช้สารสังเคราะห์เพื่อประโยชน์บางอย่าง เช่นยับยั้งการงอกของหัวมันฝรั่งและหอมหัวใหญ่ ระหว่างการเก็บรักษาใช้แทนการเด็ดยอด (pinching) เพื่อกระตุ้นให้แตกตาข้างรวมทั้งยับยั้งการเติบโตทางกิ่งในซึ่งมีผลในการกระตุ้นดอกได้ในพืชบางชนิดสารสังเคราะห์ที่สำคัญ ได้แก่ คลอฟรีนอล (chlorilurenol)ไดกูแลกโซเดียม (dikegulac sodium) มาเถอีกไฮคราไซด์ (maleic hydrazide) ที่ไอบีเอ (TIB)

2.4.7 สารอื่นๆ (miscellaneous) เป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติแตกต่างจากทั้ง 6 กลุ่มที่กล่าวมาข้างต้นส่วนใหญ่ใช้เพื่อประโยชน์เฉพาะอย่างเช่นเพิ่มผลผลิตขยายขนาดผลป้องกันผลร่วงช่วยในการแบ่งเซลล์อย่างไรก็ตามยังจัดว่ามีประโยชน์ค่อนข้างน้อยและการใช้ยังไม่กว้างขวางยกตัวอย่างสารเหล่านี้ได้แก่ เออร์โกสติมอโทนิก เป็นต้น

สารควบคุมาการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ออกซิน ไซโตไคนิน จิบเบอเรลลิน

ไซโตไคนิน คุณสมบัติในการช่วยแบ่งเซลล์ของไซโตไคนิน มีประโยชน์ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นอย่างมาก โดยใช้ผสมเข้าไปในสูตรอาหารเพื่อช่วยการเติบโตของแคลลัส และกระตุ้นให้ก้อนแคลลัสพัฒนากลายเป็นต้นได้ ประโยชน์ทางด้านอื่นของไซโตไคนินมีค่อนข้างจำกัดนอกจากการนำมาใช้เร่งการแตกตาของพืช ซึ่งมีประโยชน์ในด้านการควบคุมทรงพุ่ม และเร่งการแตกตาของพืชที่ขยายพันธุ์

ด้วยการติดตาแล้ว ไซโตไคนินยังมีคุณสมบัติชะลอการแก่ชราของพืชได้ จึงสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผักกินใบและผลไม้รวมทั้งดอกไม้หลายชนิด แต่อย่างไรก็ตามเรื่องนี้เป็นเพียงงานทดลองเท่านั้นยังไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้จริงจัง

ออกซิน คุณสมบัติที่สำคัญของออกซิน คือความสามารถในการกระตุ้นการเกิดรากและการเจริญของราก จึงได้มีการนำออกซินมาใช้กับกิ่งปักชำหรือกิ่งตอนของพืชทั่วๆไป เพื่อเร่งให้เกิดรากเร็วขึ้นและมากขึ้น นอกจากนี้พืชบางชนิดออกรากได้ยาก แต่ถ้ามีการใช้ออกซินเข้าช่วยก็จะทำให้ออกรากได้ง่ายขึ้น สารที่นิยมใช้ในการเร่งราก คือเอ็นเอเอ (NAA) และไอบีเอ (IBA) ซึ่งทั้ง 2 ชนิดนี้จัดว่าเป็นออกซินอย่างอ่อนมีพิษต่อพืชน้อยรากที่เกิดขึ้นจากการใช้สาร 2 ชนิดนี้จึงมักไม่มีอาการผิดปกติแต่ถ้าใช้สารพวก 2, 4-ดี หรือ 4-ซี พีเอ ซึ่งมีฤทธิ์ของออกซินสูงจะทำให้รากผิดปกติ คือ กุดสั้น รากหนา เป็นกระจุก ประโยชน์ของออกซินอีกข้อหนึ่ง คือ ใช้ป้องกันผลร่วงได้ในพืชหลายชนิด เช่น มะม่วง มะนาว ส้ม ลางสาด ขนุน มะละกอ เนื่องจากออกซินมีคุณสมบัติยับยั้งการสร้างรอยแยก (abscission layer) ในบริเวณขั้วผลได้ อย่างไรก็ตาม ออกซินไม่สามารถยับยั้งการร่วงของผลได้ ในบางกรณี เช่น การร่วงเนื่องจากโรคและแมลงเข้าทำลายการร่วงของผลที่ไม่มีการปฏิสนธิเกิดขึ้นหรือ การร่วงเนื่องจากความผิดปกติของผล ออกซินที่นิยมใช้ในการป้องกันการร่วงของผลคือเอ็นเอเอ 2, 4-ดีและ 4-ซีพีเอแต่จะไม่ใช้ไอบีเอเนื่องจากไอบีเอก่อให้เกิดพิษกับใบพืช (พีรเดช ทองอำไพ, 2529)

2.5 การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD)

แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์บางครั้งเรียกว่า แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เป็นแผนการทดลองที่ใช้เมื่อหน่วยทดลอง (experimental unit) มีความสม่ำเสมอ คือ เป็นหน่วยทดลองที่มีความคล้ายคลึงกัน (Homogeneous) หรือเหมือนกันมากที่สุด โดยจัดทรีทเมนท์ให้กับหน่วยทดลองอย่างสุ่ม นั้นคือ หน่วยทดลองแต่ละหน่วยจะมีโอกาสเท่าๆ กันที่จะได้รับทรีทเมนต์ใดทรีทเมนท์หนึ่ง โดยมีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบว่าค่าเฉลี่ยของประชากรหรือทรีทเมนท์ตั้งแต่ 2 ทรีทเมนท์ขึ้นไปเท่ากันหรือไม่ สามารถใช้ได้กับการทดลองที่ทรีทเมนท์มีจำนวนมากๆ ได้ ซึ่งในแต่ละทรีทเมนท์อาจจะมีจำนวนซ้ำเท่ากันหรือไม่เท่ากันก็ได้ แต่ปกติมักจะใช้จำนวนซ้ำเท่ากันเพื่อง่ายในการวิเคราะห์ผลการทดลอง แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์นี้จึงจัดเป็นแผนการทดลองที่ง่ายที่สุด กล่าวคือ ง่ายในการดำเนินการทดลอง การเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ และการแปลผลการทดลอง แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์สามารถจำแนกได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้ 1.การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์เมื่อจำนวนซ้ำเท่ากัน 2. การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์เมื่อซ้ำในแต่ละทรีทเมนท์ไม่เท่ากัน ในการทดลองเริ่มต้นผู้วิจัยอาจจัดให้ทรีทเมนท์แต่ละทรีทเมนท์มีจำนวนซ้ำเท่ากัน แต่เมื่อทดลองไปแล้วอาจเกิดความเสียหายกับหน่วยทดลองจนไม่สามารถเก็บข้อมูลจากหน่วยทดลองนั้นได้ เช่น หน่วยทดลองอาจตายในระหว่างการทดลอง ทำให้แต่ละทรีทเมนท์มีจำนวนซ้ำไม่

เท่ากัน หรือในบางการทดลองจำนวนซ้ำในแต่ละทรีทเมนท์อาจไม่เท่ากันตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองก็ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากจำนวนหน่วยทดลองมีไม่เพียงพอตั้งแต่เริ่มต้น ขาดงบประมาณ พื้นที่มีจำกัด หรือเมล็ดพันธุ์มีจำกัด เป็นต้น ในกรณีนี้การวิเคราะห์ผลการทดลองยังคงเหมือนเดิม เพียงแต่จำนวนซ้ำของแต่ละทรีทเมนท์จะไม่เท่ากัน 3. การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์เมื่อมีตัวอย่างย่อย (CRD with sub-samples) ในบางครั้งการเก็บตัวอย่างอาจต้องมีจำนวนซ้ำย่อยลงไปในหน่วยทดลองที่เรากำหนดไว้ เช่น ในการทดลองเราได้กำหนดให้หน่วยทดลองของเรามีมากกว่า 1 ต้น เช่น การทดสอบปุ๋ยสูตรต่างๆ กับการออกดอกของต้นทานตะวัน เราอาจใช้ต้นทานตะวัน 5 ต้น ต่อหน่วยการทดลองของเรา อาจกำหนดซ้ำจำนวน 10 ซ้ำในแต่ละสูตรปุ๋ยที่ใช้ในการทดลอง หรือต้องการบันทึกจำนวนดอกต่อต้นของส้มโอ แต่เราไม่สามารถนับจำนวนดอกได้ทั้งหมด จึงทำการสุ่มเลือกจำนวนดอกที่นับได้มาเพียงบางส่วน เป็นต้น การเก็บข้อมูลแบบนี้สามารถนำข้อมูลมาจัดเรียงใหม่ได้ 2 แบบ คือ ใช้ค่าเฉลี่ย เพื่อเป็นตัวแทนของหน่วยทดลอง หรือซ้ำของเรา และใช้ข้อมูลดิบที่บันทึกไว้ และดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ CRD ที่มีตัวอย่างย่อย (ชูศักดิ์ จอมพุก , 2552)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มงคล ศิริจันทร์ (2559) นำเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด จากบริเวณปลายไหลของสตรอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มาขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ที่ระดับความเข้มข้น 3% ระยะเวลา 20 นาทีจากนั้นวางเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า สูตร อาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส คือ 2 mg/lNAA + 1.5 mg/lBA จากนั้น จึงนำแคลลัสมาชักนำให้เกิดยอด บนอาหารที่มีการเติม สารควบคุมการเจริญเติบโต BA 4 ระดับ ดังนี้ 0 1 1.5 และ 2 mg/l และนำยอดมาชักนำให้เกิดราก บนอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 6 ระดับ ดังนี้ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 mg/l โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์[completely randomize designed (CRD)] จำนวน 20 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ผลการทดลองพบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 mg/l BAประสิทธิภาพสูงสุดในการชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอด โดยมีจำนวนยอดเท่ากับ 38.95 ยอด และความสูงยอดเท่ากับ 7.24 เซนติเมตร จากนั้นนำยอดจากสูตรอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 mg/l BA มาชักนำให้เกิดราก พบว่าสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติม NAA มี ประสิทธิภาพในการชักนำให้ยอดพัฒนาเป็นรากได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนรากเท่ากับ 16.93 ราก และความยาวรากเท่ากับ 4.31 เซนติเมตร ดังนั้น สูตรอาหาร MS ที่เติมสาร

ควบคุมการเจริญเติบโต 2 mg/l BA และสูตรอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มีความเหมาะสมในการชักนำ ให้เกิดยอดและรากสตรอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มากที่สุด

วนัญญา รู้ทวีผล (2554) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากส่วนของ ก้านใบ ฐานใบ และปลายใบของบล็อกซิเนียทำ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งดัดแปลงโดยการเติม NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตรร่วมกับ BA 0, 1, 3 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนก้านใบที่เพาะเลี้ยงมีการตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยงทุกสูตรที่ทดลองต่ำมาก แต่การใช้ส่วนของฐานใบพบว่า การเติม BA เพียงอย่างเดียวสามารถเกิดยอดได้มากที่สุด 5.3 ยอดต่อชิ้น ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร และการเติม NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถเกิดยอดได้มากที่สุด 4 ยอดต่อชิ้น แต่เมื่อเติม BA ร่วมกับ NAA พบว่า ช่วยกระตุ้นการเกิดยอดมากขึ้น โดยจำนวนยอดมากขึ้นตามความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้นซึ่งสูตรที่ดีที่สุดคือสูตรที่เติม BA 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร สำหรับการใช้ชิ้นส่วนปลายใบนั้น พบว่ามีการตอบสนองที่ต่างกัน กล่าวคือ ในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีการเกิดยอดได้มากถึง 2.7 ยอดต่อชิ้น แต่อาหารที่เติม NAA เพียงอย่างเดียวไม่มีการเกิดยอด ส่วนการใช้ BA เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้นต่ำคือ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถกระตุ้นการเกิดยอดได้มากถึง 5.3 ยอดต่อชิ้น แต่การเกิดยอดกลับลดลงเมื่อความเข้มข้นของ BA สูงขึ้น และเมื่อเติมBA ร่วมกับ NAA แม้ว่าจะให้ผลดีกว่าการใช้ BA เพียงอย่างเดียว แต่มีแนวโน้มในทำนองเดียวกันคือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BAขึ้นการเกิดยอดกลับลดลง โดยการใช้ BA 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดมากถึง 6 ยอดต่อชิ้น

YANG Da-song et.al.(2015) วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของ *Campanumoea javanica* และกิจกรรมการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย วิธีการได้ทำการแยกสารประกอบและทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคโครมาโตกราฟีต่าง ๆ และโครงสร้างของพวกมันถูกอธิบายโดยการวิเคราะห์สเปกตรัมกิจกรรมการกำจัดเชื้อแบคทีเรียของสารที่แยกได้ถูกประเมินโดยใช้แบบจำลองซีเบริช ผลลัพธ์ที่แยกได้สิบสี่สารประกอบถูกระบุและแยกจากเอทิลอะซิเตทฟิวชั่นของ 90% เอธานอลสารสกัดจากรากของ C. *javanica* รวมถึง campanumoside (1), lobetyol (2), tetradeca-4E, 8E, 12E-triene-10-yne-1 6, 7-triol (3), 9 (tetrahydropyran-2-yl) -non-trans-8-ene-4, 6-diyn-3-ol (4), 9-(tetrahydropyran-2-yl) - ไม่มี -trans, trans-2, 8-diene-4, 6-diyn-1-ol (5), lobetyolinin (6), (Z) -3-hexenyl-O-αL-arabinopyranosyl- (1 $\longrightarrow$ 6) -β -D-glucopyranoside (7), 3, 4-dihydroxybenzoic acid (8), tangshenoside II (9), zanthocapensol (10), ampelopsin (11), agathisflavone (12), β-ecdysterone (13) 14) สรุปสารประกอบ 1 เป็นโพลีอะเซทีลีนกลูโคไซด์ตัวใหม่ที่ชื่อว่าแคมพานูมอส สารประกอบ 2–14 แยกได้จากพืชของ *Campanumoea* Bl สำหรับครั้งแรก.

สารประกอบ 3 และ 4 แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่แน่นอนในการประเมินทางเภสัชวิทยาด้วยแบบจำลอง zebrafish

สกุลรัตน์ หาญศึกและคณะ (2561) ศึกษาผลของ benzyladenine (BA) ร่วมกับ naphthalene acetic acid (NAA) ต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ของส้มฟรีมองต์และส้มโชกุน โดยนำเมล็ดส้มฟรีมองต์และส้มโชกุนมาฟอกฆ่าเชื้อ แล้วนำมาวางเลี้ยงบนอาหาร 13 สูตร เป็นอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม BA ความเข้มข้น 0-2 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 0-2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความ เข้มข้น 0.5-1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ จากการศึกษา พบว่า อาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความงอกมากที่สุดเฉลี่ย 78.33 เปอร์เซ็นต์ และ อาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร มีจำนวนต้นสูงสุดเฉลี่ย 2.90 ต้นต่อเมล็ด ในขณะที่อาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มีจำนวนรากสูงสุดเฉลี่ย 2.07 รากต่อชิ้นส่วน และมีความยาวรากสูงสุดเฉลี่ย 3.43 เซนติเมตร โดยชนิดส้มและสูตรอาหารที่วางเลี้ยงมีผลร่วมกันต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่

Chen et.al.(2013) ในจีนโบราณ Codonopsis javanica ได้ถูกใช้เป็นยา จึงมีการศึกษาและตรวจสอบคุณสมบัติในการต่อต้าน hyperinsulinemia และต้านอนุมูลอิสระ จากสารสกัดของราก javanica ในหนู ความต้านทานอินซูลิน (IR), โดยให้อาหารฟรักโทส หนูแรทสายพันธุ์ Sprague-Dawley ยี่สิบสี่ตัว ถูกสุ่มเข้าไปในการควบคุม พบว่า javanica ทำให้ภาวะ hyperinsulinemia ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการรักษา ด้วยสารสกัดจากราก javanica ปรับปรุงกิจกรรมเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึง superoxide dismutase, กลูตาไธโอน peroxidase และกลูตาไธโอน reductase ในตับ.

Seglie et.al.(2011) ศึกษาเกี่ยวกับการงอกของเมล็ดแก้วและวิธีการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนเพื่อการอนุรักษ์และแนะนำสายพันธุ์ Campanula ที่มีคุณค่าจากธรรมชาติสู่ตลาด ได้ทำการศึกษาประชากรของ *Campanula barbata* L. , *Campanula latifolia* L. , *Campanula rapunculoides* L. , *Campanula spicata* L. และ *Campanula trachelium* L. จากสถานที่ต่างๆในอิตาลีตอนเหนือ นำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม 1-naphthaleneacetic (NAA) 0.02 mg/L^{-1}, 6-benzyladenine (BAP) 1 mg/L^{-1} และ kinetin พบว่ามีเปอร์เซ็นการงอก (FGP) อยู่ที่ 50% (T 50) ถูกวัด *C. rapunculoides* แสดงให้เห็นว่าเปอร์เซ็นการงอก ที่สูงที่สุดหลังจาก 2 สัปดาห์ทั้งในที่ที่มี (53%) และไม่มี (56%) ของฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ในสายพันธุ์อื่น ๆ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมการเจริญเติบโตยกเว้น *C. barbata* ซึ่ง เปอร์เซ็นการงอก เกือบ 0% ในกรณีที่ไม่มีฮอร์โมนพืชการงอกของเมล็ดใน *C. spicata* สูงกว่าสถิติ (34%) เมื่อเทียบกับ *C. barbata* (0%)

และทั้ง *C. latifolia* และ *C. trachelium* (ประมาณ 19%) หลังจาก 4 เดือนได้ย้ายต้นกล้าลงในอาหารสูตร MS โดยมีหรือไม่มี NAA และ BAP ในทุกสปีชีส์ *Campanula* พบการเกิดยอดและรากบนอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุ /อุปกรณ์

3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

3.1.1.1 ช้อนตักสารเคมี (spatula)

3.1.1.2 เครื่องชั่ง (balance)

3.1.1.3 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH mcter)

3.1.1.4 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)

3.1.1.5 ตู้เย็น

3.1.1.6 เครื่องแก้วได้แก่ กระบอกตวง (cylinder) ขวดรูปชมพู่ (flask) แท่งแก้วคนสาร (stirring rod) บีกเกอร์ (beaker)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อพืช

3.1.2.1 ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar air flow cabinet)

3.1.2.2 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.2.3 มีดผ่าตัดที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

3.1.2.4 ปากคลีบ (forceps) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

3.1.2.5 กระดาษที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

3.2 วิธีการดำเนินงาน

3.2.1 ทดสอบอัตราการงอกของต้นระฆังแก้ว

3.2.1.1 การชักนำเมล็ดให้งอก

ชักนำเมล็ดระฆังแก้วให้เกิดเป็นต้นอ่อนในอาหารสูตร MS อาหารสูตร MS ร่วมกับ BA อาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA และ อาหารสูตร MS ร่วมกับ BA และ NAA ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

ทำการฟอกเมล็ดระฆังแก้วที่เก็บรวบรวมได้จากพื้นที่อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ ด้วยคลอรอกซ์ 2 ครั้งที่ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ และ ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำกลั่น 50 มิลิลิตร เติมสารจับใบ (Tween 20) จำนวน 1-2 หยด เป็นเวลา 5 นาที และ 10 นาที ตามลำดับ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ภายในตู้ย้ายเลี้ยง จากนั้นนำเมล็ดต้น ระฆังแก้วไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA สูตรอาหารมีทั้งหมด 15 สูตรๆ (ภาพที่ 2) ละ 10 เพรทๆละ 10 เมล็ด ดังนี้

อาหารสูตรที่ 1 : MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

อาหารสูตรที่ 2: MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 3: MS เติม BA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 4: MS เติม BA เข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 5: MS เติม BA เข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 6: MS เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 7: MS เติม NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 8: MS เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 9: MS เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 10: MS เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 11: MS เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

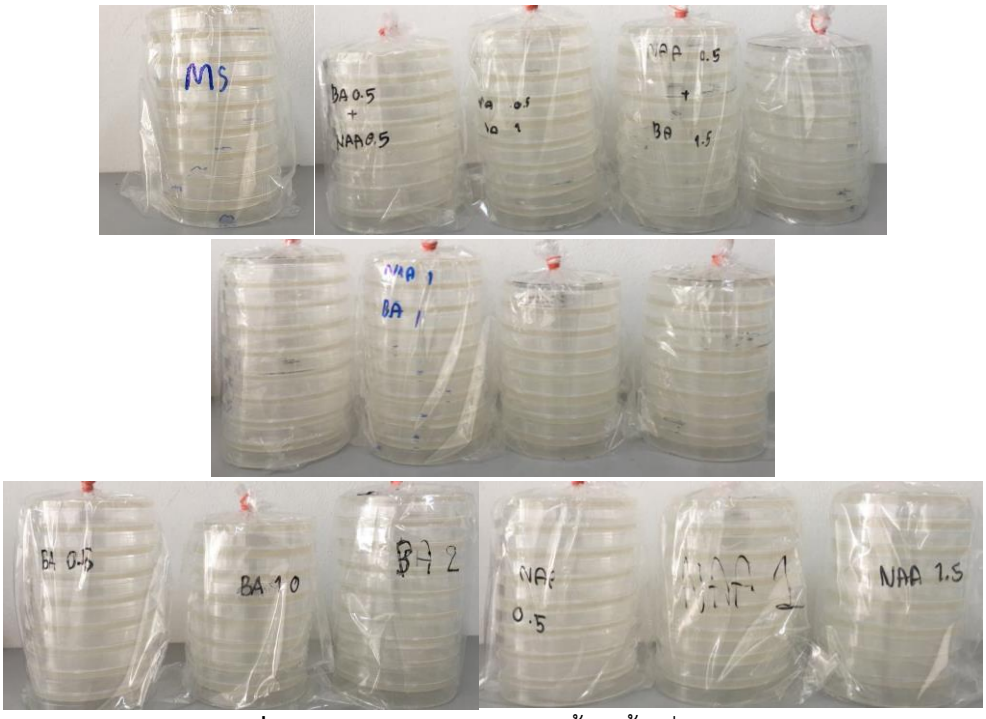
อาหารสูตรที่ 12: MS เติม NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 13: MS เติม NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

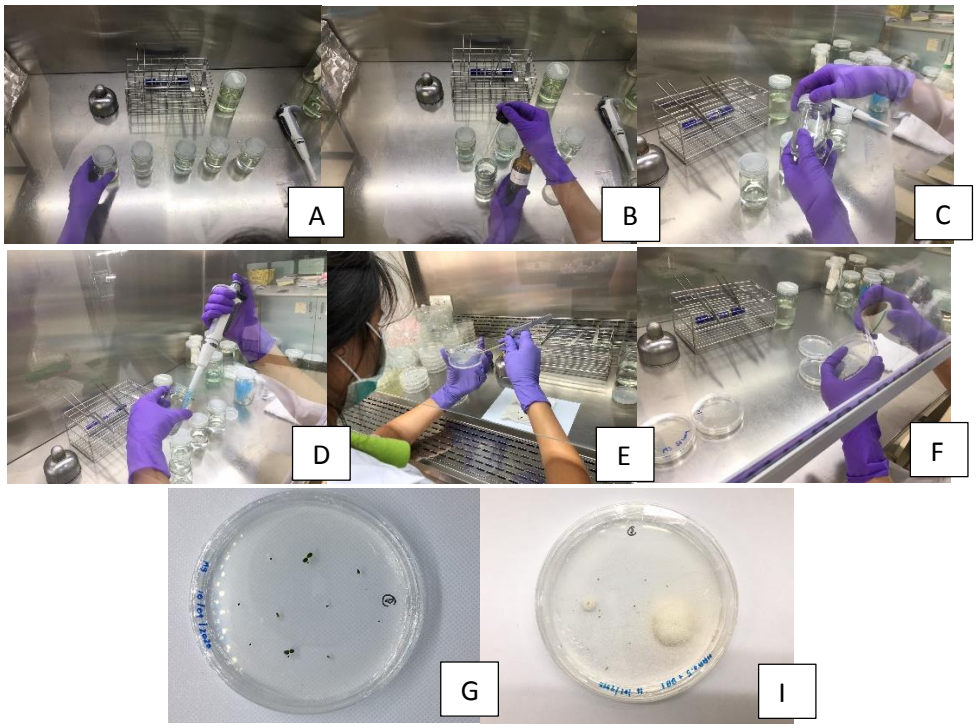
อาหารสูตรที่ 14: MS เติม NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 15: MS เติม NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

ทุกสูตรข้างต้นเติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.7 วางเลี้ยงในที่มีแสง 14 ชั่วโมง ต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์บันทึกการเจริญเติบโตทั้งหมด บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอกและเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 สูตรอาหารในจานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 15 สูตร



ภาพที่ 4 ชักนำเมล็ดระฆังแก้วให้เกิดเป็นต้นอ่อนในอาหารสูตร MS โดยเทคนิคการฟอกเมล็ด A.เตรียม Clorox และน้ำสำหรับล้าง B.เติมสารจับใบ (Tween 20) C.ฟอกเมล็ดระฆังแก้ว D.ใช้ไมโครปิเปตในการช่วยดูดเมล็ด E.นำเมล็ดลงเพรท F.แลปเพรท G.I. บันทึกผลการทดลอง

3.2.2 ทดสอบอัตราการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว

3.2.2.1 การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว

ต้นอ่อนระฆังแก้ว ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA และ NAA ที่เกิดราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอด ย้ายไปเพาะเลี้ยงในขวดที่มีอาหารสูตร MS ที่เติม ฮอร์โมน BA และ NAA ที่ความเข้มข้น ดังนี้

อาหารสูตรที่ 1 : MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

อาหารสูตรที่ 2: MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 3: MS เติม BA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 4: MS เติม BA เข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 5: MS เติม BA เข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 6: MS เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 7: MS เติม NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 8: MS เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 9: MS เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 10: MS เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 11: MS เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

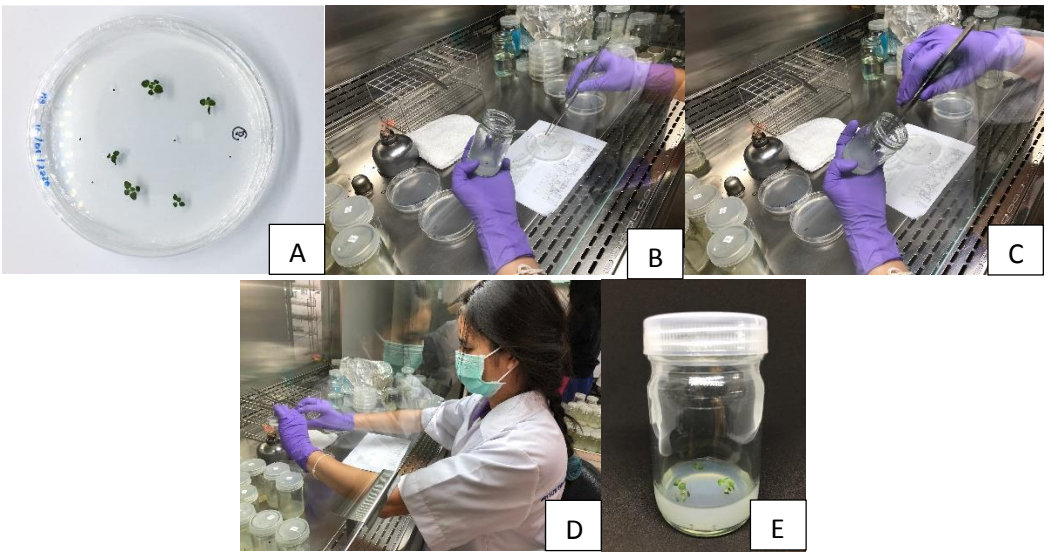
อาหารสูตรที่ 12: MS เติม NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 13: MS เติม NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 14: MS เติม NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 15: MS เติม NAA เข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

ทำการทดลองความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ทุกสูตรข้างต้นเติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.7 วางเลี้ยงในที่มีแสง 14 ชั่วโมง ต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยใส่พืชขวดละ 3 ต้น จากนั้นบันทึกการเจริญเติบโต



ภาพที่ 5 ย้ายต้นอ่อนระฆังแก้วลงขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ A. ต้นอ่อนจากจานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ B.C.D.นำต้นอ่อนจากจานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายลงขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ E.ต้นอ่อนที่ย้ายลงขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.2.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การบันทึกผลการทดลองการเจริญของต้นระฆังแก้ว ได้แก่ ความยาวต้น จำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอด จำนวนใบ ความกว้างของใบ และ ความยาวของใบ โดยข้อมูลในการทดลองมีจำนวน 10 ซ้ำ ต่อหน่วยการทดลอง ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ [completely randomize designed (CRD)] วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS (Statistics Package For The Social Sciences)

บทที่ 4
ผลการวิจัย

เปรียบเทียบความเข้มข้นของฮอร์โมน BA และ NAA แต่ละความเข้มข้น โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ [completely randomize designed (CRD)] 1 ต้นทำเครื่องหมายไว้ที่ข้างขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำการวัดขนาด ความกว้างของใบ ความยาวของใบ จำนวนยอดที่เกิด ความสูงของยอดที่เกิด การเกิดรากและลักษณะของราก ความยาวของราก จำนวนยอดที่เกิด ความสูงของยอดที่เกิด การเกิดรากและลักษณะของราก ความยาวของราก ดังนี้

4.1 ทดสอบอัตราการงอกของต้นระฆังแก้ว

4.1.1 ผลการชักนำเมล็ดให้งอก

4.1.1.1 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 1

ผลการชักนำเมล็ดระฆังแก้วให้เกิดเป็นต้นอ่อนโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 มก/ล. NAA 0.5 และ 1 และ BA ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 มก/ล.ร่วมกับฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อตรวจนับจำนวนเมล็ดที่เกิดการเจริญเติบโตและคำนวณด้วยโปรแกรม SPSS พบว่า ในสัปดาห์ที่ 1 อัตราการเกิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบอัตราการปนเปื้อนในทรีทเม้นท์ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร อัตราการปนเปื้อนอยู่ที่ 10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 อัตราการเกิดและจำนวนต้นระฆังแก้วภายหลังที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้งหมด 15 สูตรอาหาร ระยะเวลา 1 สัปดาห์

ทรีทเม้นท์ (มิลลิลิตรต่อลิตร)	อัตราการเกิด (%)	อัตราการปนเปื้อน (%)
MS	0	0
BA 0.5	0	0
BA 1.0	0	0
BA 1.5	0	0
BA 2.0	0	0
NAA 0.5	0	0
NAA 1.0	0	0
NAA 0.5+BA 0.5	0	0
NAA 0.5+BA 1.0	0	0
NAA 0.5+BA 1.5	0	0
NAA 0.5+BA 2.0	0	10
NAA 1.0+BA 0.5	0	10
NAA 1.0+BA 1.0	0	0
NAA 1.0+BA 1.5	0	0
NAA 1.0+BA 2.0	0	0
F-test	*	-
C.V.(%)	0	-

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.1.1.2 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 2

ในสัปดาห์ที่ 2 เมื่อตรวจนับจำนวนเมล็ดที่เกิดการเจริญเติบโตและคำนวณด้วยโปรแกรม SPSS พบว่า อัตราการเกิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบอัตราการปนเปื้อนในทรีทเม้นท์ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร อัตราการปนเปื้อนอยู่ที่ 10 เปอร์เซ็นต์ ทรีทเม้นท์ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร อัตราการปนเปื้อนอยู่ที่ 20 เปอร์เซ็นต์ ทรีทเม้นท์ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร อัตตราการปนเปื้อนอยู่ที่ 30 เปอร์เซ็นต์ และ ทรีทเม้นท์ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร อัตตราการปนเปื้อนอยู่ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 6)

ตารางที่ 3 อัตราการเกิดและอัตราการปนเปื้อนของต้นระฆังแก้วภายหลังที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้งหมด 15 สูตรอาหาร ระยะเวลา 2 สัปดาห์

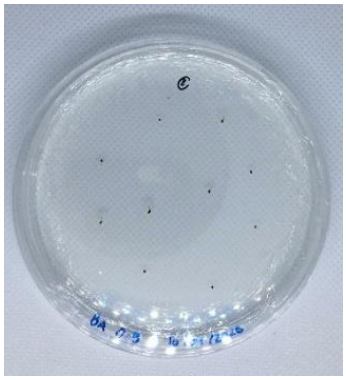
ทรีทเม้นท์ (มิลลิลิตรต่อลิตร)	**อัตราการเกิด (%)**	**อัตราการปนเปื้อน (%)**
MS	35.71	0
BA 0.5	35.00	10
BA 1.0	16.67	20
BA 1.5	26.67	0
BA 2.0	24.00	30
NAA 0.5	20.63	0
NAA 1.0	33.33	10
NAA 0.5+BA 0.5	13.33	10
NAA 0.5+BA 1.0	36.67	20
NAA 0.5+BA 1.5	16.67	0
NAA 0.5+BA 2.0	20.00	50
NAA 1.0+BA 0.5	16.67	10
NAA 1.0+BA 1.0	20.00	0
NAA 1.0+BA 1.5	22.50	10
NAA 1.0+BA 2.0	28.33	0
F-test	ns	-
C.V.(%)	65.89	-

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test

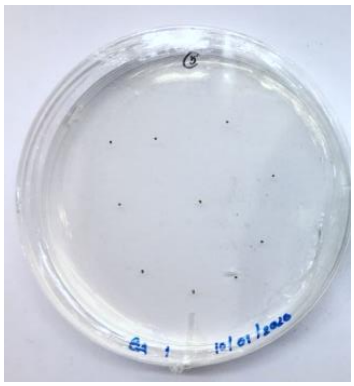
* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

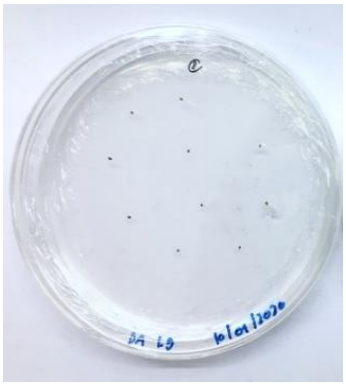
T1



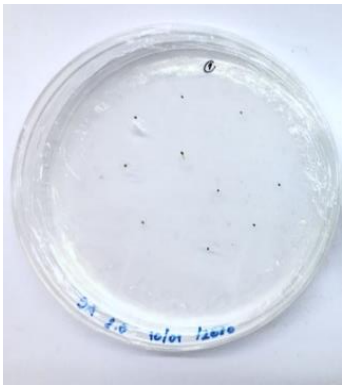
T2



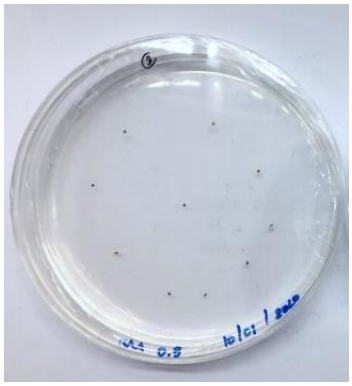
T3



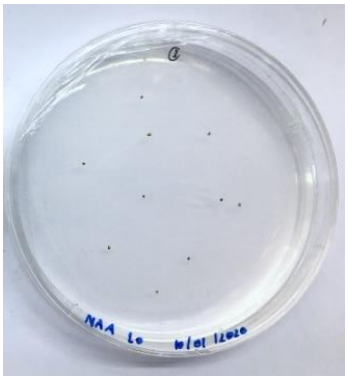
T4



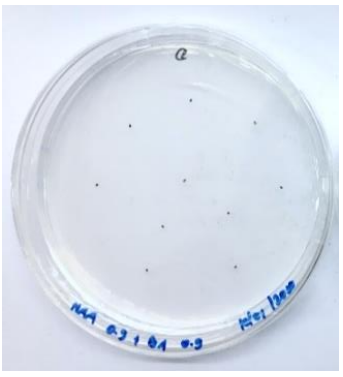
T5



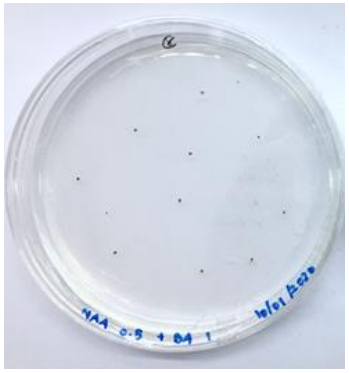
T6



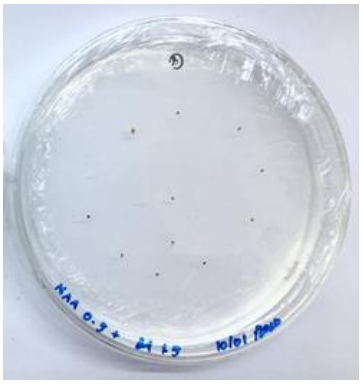
T7



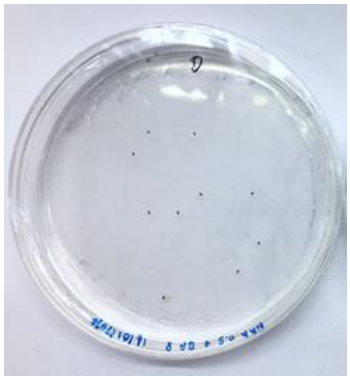
T8



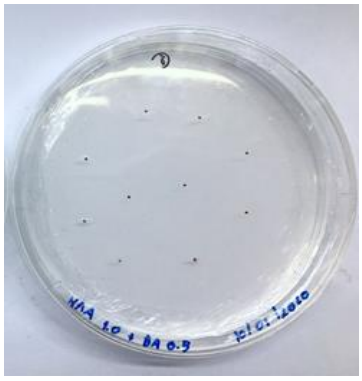
T9



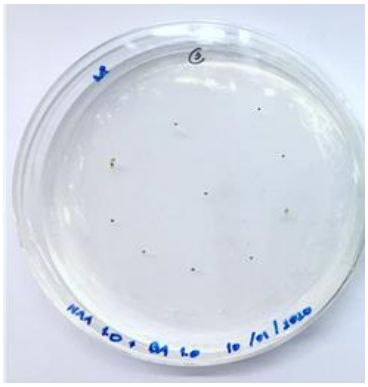
T10



T11



T12



T13

T14

T15

ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วในสัปดาห์ที่ 2 แต่ละความเข้มข้น (T1) MS, (T2) BA 0.5, (T3) BA 1.0, (T4) BA 1.5, (T5) BA 2.0, (T6) NAA 0.5, (T7) NAA 1.0, (T8) NAA 0.5+BA 0.5, (T9) NAA 0.5+BA 1.0, (T10) NAA 0.5+BA 1.5,(T11) NAA 0.5+BA 2.0, (T12) NAA 1.0+BA 0.5, (T13) NAA 1.0+BA 1.0, (T14) NAA 1.0+BA 1.5 และ (T15) NAA 1.0+BA 2.0

4.1.1.3 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 3

ในสัปดาห์ที่ 3 เมื่อตรวจนับจำนวนเมล็ดที่เกิดการเจริญเติบโตและคำนวณด้วยโปรแกรม SPSS พบว่า สูตรอาหารที่มีการชักนำเมล็ดให้งอกมากที่สุด คือ สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร มีอัตราการงอกมากที่สุดอยู่ที่ 66.00 เปอร์เซ็นต์ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น

1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร มีอัตราการเกิด (%) อยู่ที่ 58.00 56.67 54.00 53.00 52.00 51.11 48.00 และ 45.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหารความเข้มข้นอื่น ๆ และไม่พบอัตราการปนเปื้อน (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 7)

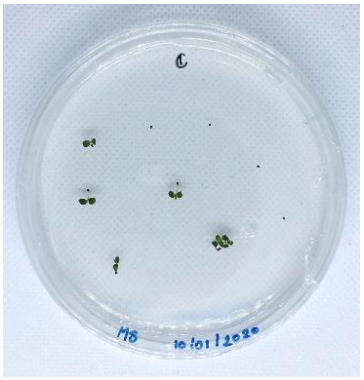
ตารางที่ 4 อัตราการรอดชีวิตและอัตราการปนเปื้อนของต้นระฆังแก้วภายหลังที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้งหมด 15 สูตรอาหาร ระยะเวลา 3 สัปดาห์

ทรีทเม้นท์ (มิลลิลิตรต่อลิตร)	อัตราการเกิด (%)	อัตราการปนเปื้อน (%)
MS	37.78[b]	0
BA 0.5	58.00[ab]	0
BA 1.0	42.86[b]	0
BA 1.5	48.00[ab]	0
BA 2.0	42.86[b]	0
NAA 0.5	56.67[ab]	0
NAA 1.0	45.56[ab]	0
NAA 0.5+BA 0.5	51.11[ab]	0
NAA 0.5+BA 1.0	45.00[b]	0
NAA 0.5+BA 1.5	52.00[ab]	0
NAA 0.5+BA 2.0	66.00[a]	0
NAA 1.0+BA 0.5	43.33[b]	0
NAA 1.0+BA 1.0	54.00[ab]	0
NAA 1.0+BA 1.5	44.44[b]	0
NAA 1.0+BA 2.0	53.00[ab]	0
F-test	*	-
C.V.(%)	37.79	-

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

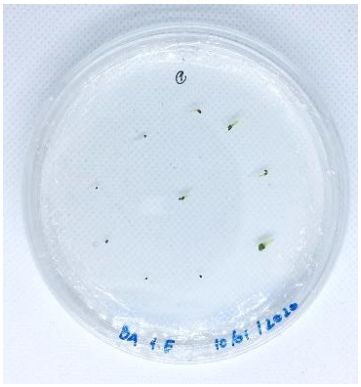
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



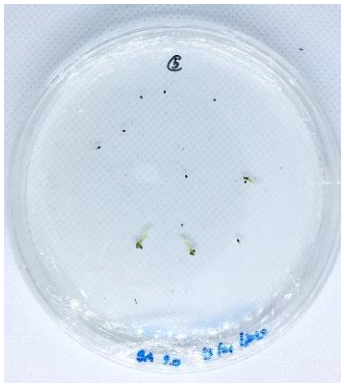
T1

T2

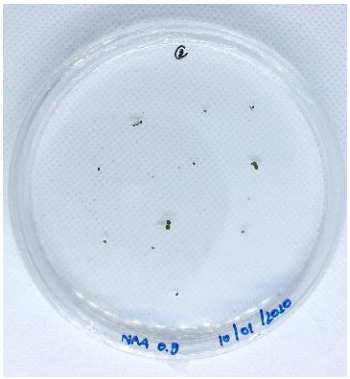
T3



T4

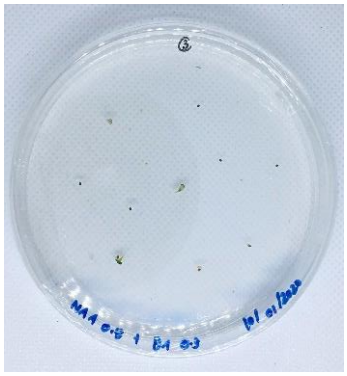


T5



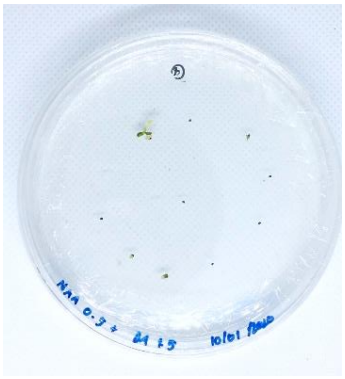
T6

T7

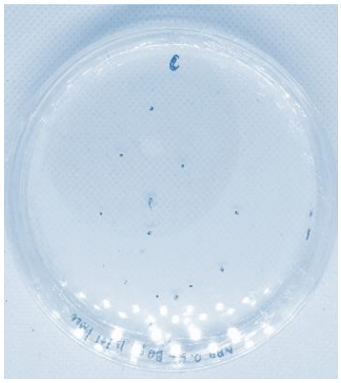


T8

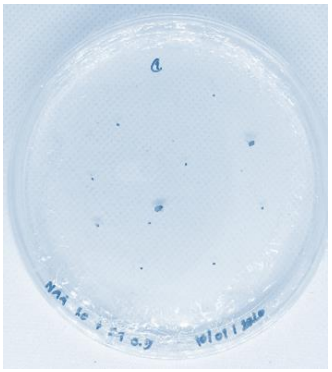
T9



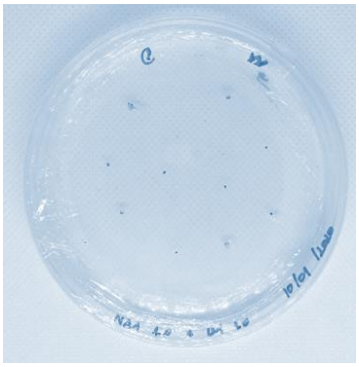
T10



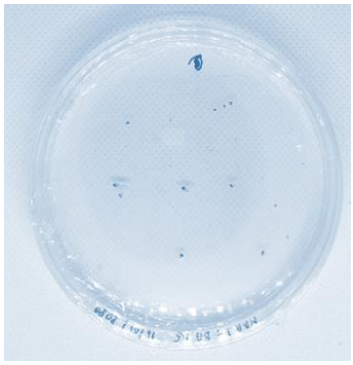
T11



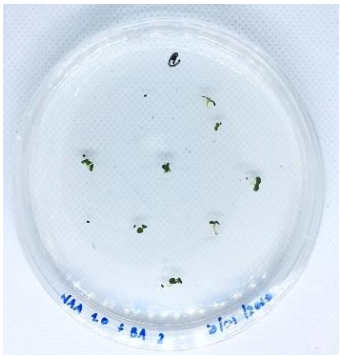
T12



T13



T14



T15

ภาพที่ 7 การเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วในสัปดาห์ที่ 3แต่ละความเข้มข้น (T1) MS, (T2) BA 0.5, (T3) BA 1.0, (T4) BA 1.5, (T5) BA 2.0, (T6) NAA 0.5, (T7) NAA 1.0, (T8) NAA 0.5+BA 0.5, (T9) NAA 0.5+BA 1.0, (T10) NAA 0.5+BA 1.5,(T11) NAA 0.5+BA 2.0, (T12) NAA 1.0+BA 0.5, (T13) NAA 1.0+BA 1.0, (T14) NAA 1.0+BA 1.5 และ (T15) NAA 1.0+BA 2.0

4.1.1.4 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 4

ในสัปดาห์ที่ 4 เมื่อตรวจนับจำนวนเมล็ดที่เกิดการเจริญเติบโตและคำนวณด้วยโปรแกรม SPSS พบว่า สูตรอาหารที่มีการชักนำเมล็ดให้งอกมากที่สุด คือ สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร มีอัตราการงอกมากที่สุดอยู่ที่ 70.00 เปอร์เซ็นต์ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความ

เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร มีอัตราการเกิด (%) อยู่ที่ 58.00 57.78 54.00 52.22 52.00 50.00 48.89 48.57 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหารความเข้มข้นอื่น ๆ และไม่พบอัตราการปนเปื้อน (ตารางที่ 5 และ ภาพที่ 8)

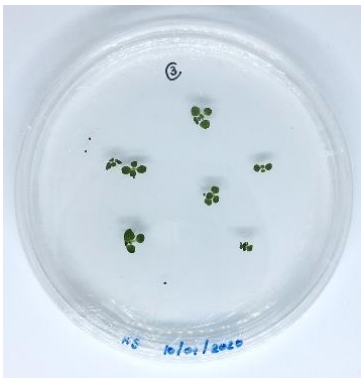
ตารางที่ 5 อัตราการรอดชีวิตและอัตราการปนเปื้อนของต้นระฆังแก้วภายหลังที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้งหมด 15 สูตรอาหาร ระยะเวลา 4 สัปดาห์

ทรีทเม้นท์ (มิลลิลิตรต่อลิตร)	**อัตราการเกิด (%)**	**การปนเปื้อน (%)**
MS	41.11[b]	0
BA 0.5	58.00[ab]	0
BA 1.0	50.00[ab]	0
BA 1.5	47.00[b]	0
BA 2.0	48.57[ab]	0
NAA 0.5	57.78[ab]	0
NAA 1.0	48.89[ab]	0
NAA 0.5+BA 0.5	52.22[ab]	0
NAA 0.5+BA 1.0	47.50[b]	0
NAA 0.5+BA 1.5	54.00[ab]	0
NAA 0.5+BA 2.0	70.00[a]	0
NAA 1.0+BA 0.5	48.89[ab]	0
NAA 1.0+BA 1.0	52.00[ab]	0
NAA 1.0+BA 1.5	46.67[b]	0
NAA 1.0+BA 2.0	54.00[ab]	0
F-test	*	-
C.V.(%)	36.33	-

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

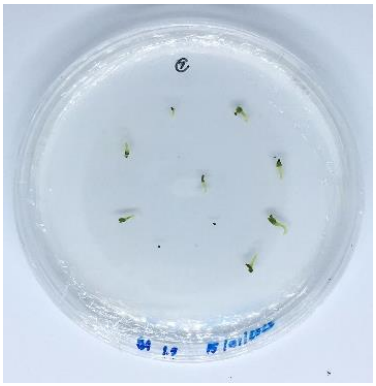
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



T1

T2

T3



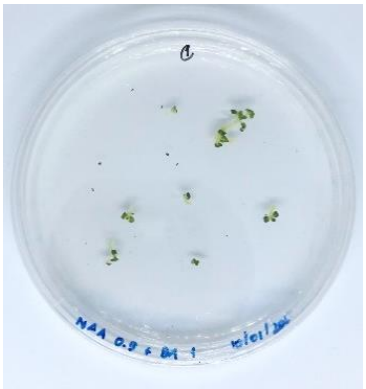
T4

T5

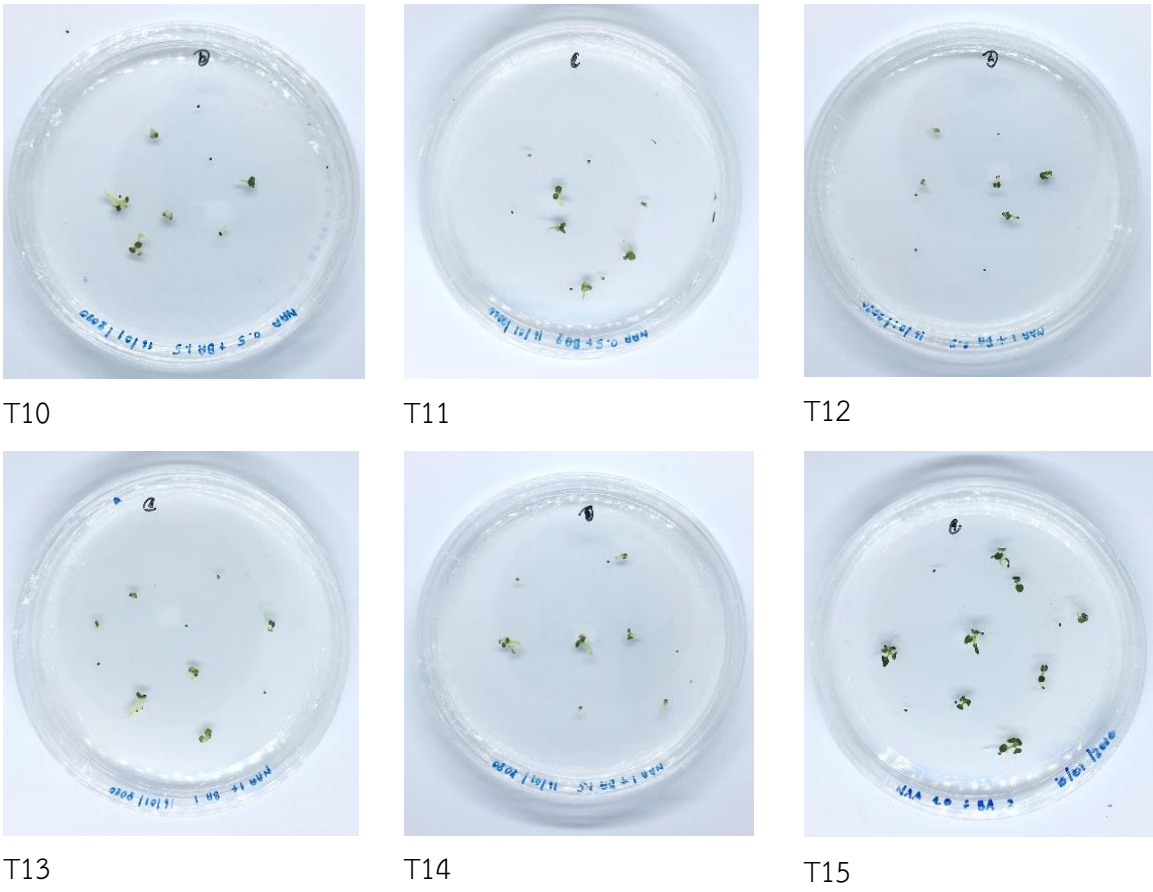
T6

T7

T8



T9



T10 T11 T12

T13 T14 T15

ภาพที่ 8 การเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วในสัปดาห์ที่ 4 แต่ละความเข้มข้น (T1) MS, (T2) BA 0.5, (T3) BA 1.0, (T4) BA 1.5, (T5) BA 2.0, (T6) NAA 0.5, (T7) NAA 1.0, (T8) NAA 0.5+BA 0.5, (T9) NAA 0.5+BA 1.0, (T10) NAA 0.5+BA 1.5,(T11) NAA 0.5+BA 2.0, (T12) NAA 1.0+BA 0.5, (T13) NAA 1.0+BA 1.0, (T14) NAA 1.0+BA 1.5 และ (T15) NAA 1.0+BA 2.0

4.2 ทดสอบอัตราการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว

4.2.1 การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช

4.2.1.1 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 1

การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว โดยต้นอ่อนระฆังแก้ว ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) เติม BA ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 26±2

องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่เกิด ราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอด ย้ายไปเพาะเลี้ยงในขวด 4 ออนซ์ ที่มีอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม BA ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่ความเข้มข้นเดิม ทั้งหมด 15 สูตรอาหาร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 ความยาวใบ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่จำนวนราก,ความยาวราก,จำนวนยอด,จำนวนใบ,ความกว้างใบ และความสูงต้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในสูตรอาหารทุกสูตรมีการพัฒนาของราก พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้รากพัฒนาได้มากที่สุด โดยมีจำนวนรากเฉลี่ย 10.60 ราก สูตรอาหาร MS และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ย 5.00 และ 4.20 ราก ตามลำดับ สูตรอาหารที่มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ความยาวรากเฉลี่ยอยู่ที่ 0.95 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับสูตรอาหารอื่นๆ สูตรอาหารที่มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด คือ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.78 ยอด ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับ สูตรอาหาร NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร จำนวนยอดเฉลี่ยอยู่ที่ 2.33 2.13 1.90 ยอด ตามลำดับ สูตรอาหารที่มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร จำนวนใบเฉลี่ยอยู่ที่ 7.80 สูตรอาหาร MS จำนวนใบเฉลี่ยอยู่ที่ 7.00 ใบ สูตรอาหารที่มีความกว้างใบเฉลี่ยสูงสุด คือ NAA ความเข้มข้น 0.5 มีความกว้างเฉลี่ยอยู่ที่ 0.42 เซนติเมตร สูตรอาหาร MS NAA ความเข้มข้น 1.0 ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA มิลลิลิตรต่อลิตร ความเข้มข้น 2.0 NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร มีความกว้างเฉลี่ยอยู่ที่ 0.26 0.24 0.22 0.21 0.20 ตามลำดับ สูตรอาหารที่มีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด คือ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ความสูงเฉลี่ยอยู่ที่ 1.93 เซนติเมตร สูตรอาหาร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ความสูงเฉลี่ยอยู่ที่ 1.73 เซนติเมตร (ตารางที่ 6 ภาพที่ 9)

ตารางที่ 6 ตารางบันทึกผลการเจริญเติบโต จำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอด จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ และความยาวต้น ในสัปดาห์ที่ 1

ทรีทเม้นท์ (มิลลิลิตรต่อลิตร)	จำนวนราก	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนยอด	จำนวนใบ	ความยาวใบ (ซม.)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความสูงต้น (ซม.)
MS	5.00^{a}	0.45^{bcd}	1.00^{d}	7.00^{ab}	0.59	0.26^{a,b}	1.48^{b}
BA 0.5	2.43^{b}	0.48^{bc}	1.13^{cd}	3.90^{cde}	0.15	0.13^{b}	0.81^{c}
BA 1.0	1.00^{b}	0.95^{a}	1.00^{d}	4.00^{cde}	0.15	0.13^{b}	0.56^{cd}
BA 1.5	1.00^{b}	0.32^{cde}	1.90^{abcd}	3.40^{de}	0.17	0.15^{b}	0.39^{d}
BA 2.0	1.25^{b}	0.21^{de}	1.29^{bcd}	2.78^{e}	0.20	0.18^{b}	0.46^{d}
NAA 0.5	10.60^{a}	0.28^{cde}	1.60^{bcd}	6.20^{b}	0.24	0.42^{a}	1.73^{ab}
NAA 1.0	1.70^{b}	0.21^{de}	1.00^{d}	3.80^{cde}	0.12	0.11^{b}	0.55^{cd}
NAA 0.5 + BA 0.5	1.30^{b}	0.24^{cde}	1.38^{bcd}	4.00^{cde}	0.19	0.20^{a,b}	0.66^{cd}
NAA 0.5 + BA 1.0	1.38^{b}	0.17^{e}	2.13^{abc}	4.90^{c}	0.19	0.21^{a,b}	0.70^{cd}
NAA 0.5 + BA 1.5	1.00^{b}	0.24^{cde}	1.60^{bcd}	4.30^{dc}	0.18	0.17^{b}	0.63^{cd}
NAA 0.5 + BA 2.0	1.00^{b}	0.27^{cde}	1.50 ^{bcd}	4.20^{dc}	0.18	0.22^{a,b}	0.60^{cd}
NAA 1.0 + BA 0.5	1.89^{b}	0.24^{cde}	2.33^{ab}	5.00^{c}	0.17	0.13^{b}	0.69^{cd}
NAA 1.0 + BA 1.0	1.22^{b}	0.22^{de}	1.70 ^{bcd}	4.30^{cd}	0.18	0.14^{b}	0.63^{cd}
NAA 1.0 + BA 1.5	1.00^{b}	0.24^{cde}	2.78^{a}	3.50^{de}	0.20	0.17^{b}	0.60^{cd}
NAA 1.0 + BA 2.0	4.20^{a}	0.59^{b}	1.40 ^{bcd}	7.80^{a}	0.24	0.24^{a,b}	1.93^{a}
F-test	*	*	*	*	ns	*	*
C.V.(%)	125.636	105.752	64.773	39.036	131.764	117.501	66.547

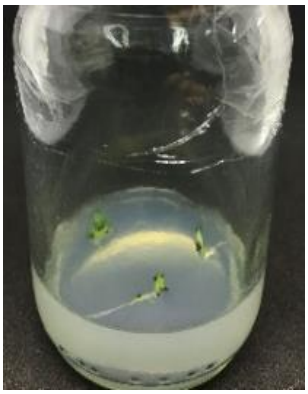
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

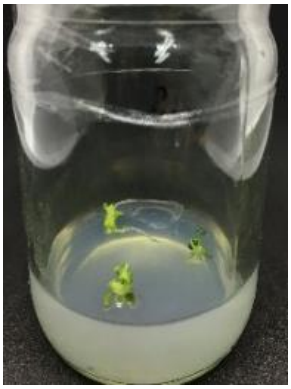
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

T1

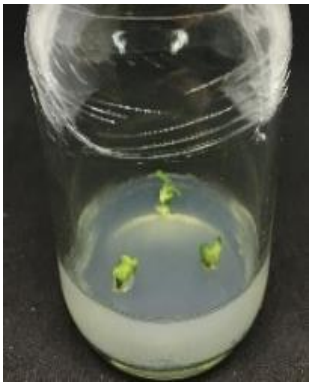
T2



T3



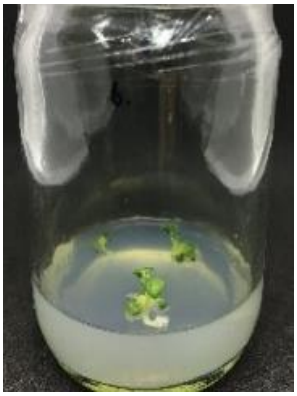
T4



T5

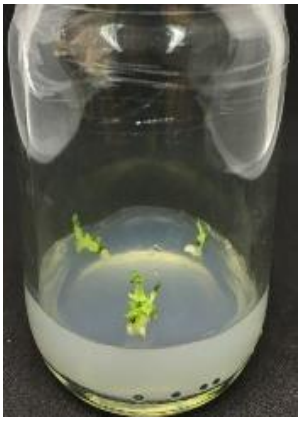
T6

T7

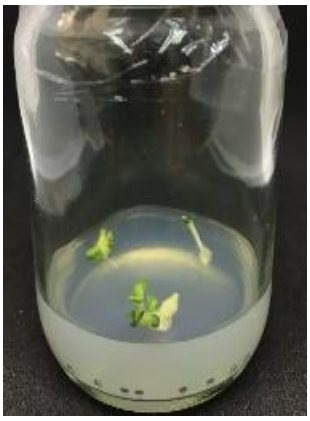


T8

T9

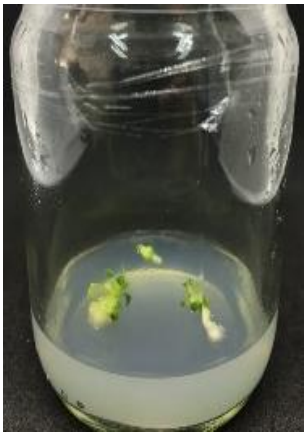


T10



T11

T12



T13

T14

T15

ภาพที่ 9 การเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วสัปดาห์ที่ 1 ในขวดที่มีอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ NAA แต่ละความเข้มข้น (T1) MS, (T2) BA 0.5, (T3) BA 1.0, (T4) BA 1.5, (T5) BA 2.0, (T6) NAA 0.5, (T7) NAA 1.0, (T8) NAA 0.5+BA 0.5, (T9) NAA 0.5+BA 1.0, (T10) NAA 0.5+BA 1.5,(T11) NAA 0.5+BA 2.0, (T12) NAA 1.0+BA 0.5, (T13) NAA 1.0+BA 1.0, (T14) NAA 1.0+BA 1.5 และ (T15) NAA 1.0+BA 2.0

4.2.1.2 ผลการทดลองสัปดาห์ที่ 2

การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว โดยต้นอ่อนระฆังแก้ว ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA และ NAA ที่เกิด ราก ใบ ใบเลี้ยงและปลายยอด ย้ายไปเพาะเลี้ยงในขวด 4 ออนซ์ ที่มีอาหารสูตร MS ที่เติม ฮอร์โมน BA และ NAA ที่ความเข้มข้นเดิม ทั้งหมด 15 สูตรอาหาร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ความกว้างใบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ จำนวนราก,ความยาวราก,จำนวนยอด,จำนวนใบ,ความยาวใบ,ความยาวใบและความสูงต้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สูตรอาหารทุกสูตร มีการพัฒนาของราก พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้รากพัฒนาได้มากที่สุด โดยมีจำนวนรากเฉลี่ย 23.30 ราก ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับ สูตรอาหารอื่นๆ สูตรอาหารที่มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ความยาวรากเฉลี่ยอยู่ที่ 1.25 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับ สูตรอาหารอื่นๆ สูตรอาหารที่มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด คือ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยอยู่ที่ 3.20 สูตรอาหาร NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยอยู่ที่ 2.78 ยอด สูตรอาหารที่มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร จำนวนใบเฉลี่ยอยู่ที่ 11.20 ใบ สูตรอาหาร NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร MS NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร จำนวนใบเฉลี่ยอยู่ที่ 9.40 8.44 5.80 5.20 ใบ ตามลำดับ สูตรอาหารที่มีความยาวเฉลี่ยใบสูงสุด คือ อาหารสูตร MS ความยาวเฉลี่ยอยู่ที่ 0.32 เซนติเมตร สูตรอาหาร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และNAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร มีความยาวเฉลี่ยอยู่ที่ 0.29 0.27 และ 0.26 เซนติเมตร ตามลำดับ สูตรอาหารที่มีความกว้างใบเฉลี่ยสูงสุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ความกว้างเฉลี่ยอยู่ที่ 0.62 เซนติเมตร สูตรอาหาร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร MS NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร

ต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA มิลลิลิตรต่อลิตร ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ความกว้างเฉลี่ยอยู่ที่ 0.34 0.28 0.25 0.22 0.20 และ0.18 เซนติเมตร ตามลำดับ สูตรอาหารที่มีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ความสูงเฉลี่ยอยู่ที่ 3.03 เซนติเมตร สูตรอาหาร MS และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ความสูงเฉลี่ยอยู่ที่ 2.51 และ 2.30 ตามลำดับ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 10)

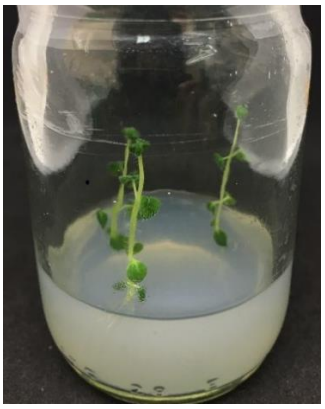
ตารางที่ 7 ตารางบันทึกผลการเจริญเติบโต จำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอด จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ และความยาวต้น ในสัปดาห์ที่ 2

ทรีทเม้นท์ (มิลลิลิตรต่อลิตร)	จำนวนราก	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนยอด	จำนวนใบ	ความยาวใบ (ซม.)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวต้น (ซม.)
MS	5.89^{c}	0.73^{b}	1.00^{d}	8.44^{abcd}	0.32^{a}	0.28^{ab}	2.51^{ab}
BA 0.5	2.50^{cd}	0.69^{b}	1.22^{d}	4.60^{bcd}	0.14^{g}	0.12^{b}	0.87^{def}
BA 1.0	1.30^{d}	1.25^{a}	1.00^{d}	4.10^{bcd}	0.15^{g}	0.62^{a}	0.62^{ef}
BA 1.5	1.00^{d}	0.49^{bcd}	1.00^{d}	3.30^{d}	0.16^{fg}	0.14^{b}	0.57^{f}
BA 2.0	1.20^{d}	0.18^{d}	1.00^{d}	3.80^{cd}	0.15^{g}	0.13^{b}	0.61^{ef}
NAA 0.5	23.30^{a}	0.31^{bd}	1.40^{d}	9.40^{ab}	0.29^{ab}	0.34^{ab}	3.03^{a}
NAA 1.0	2.80^{cd}	0.26^{bd}	1.00^{d}	11.20^{a}	0.13^{g}	0.12^{b}	1.07^{cde}
NAA 0.5+BA 0.5	5.60^{c}	0.25^{bd}	1.67^{cd}	5.80^{abcd}	0.27^{abc}	0.22^{ab}	1.24^{dc}
NAA 0.5+BA 1.0	3.70^{cd}	0.28^{bd}	2.22^{bcd}	6.30^{abcd}	0.25^{bcdef}	0.25^{ab}	1.41^{e}
NAA 0.5+BA 1.5	1.22^{d}	0.25^{bd}	2.20^{bcd}	4.10^{bcd}	0.23^{cdef}	0.20^{ab}	0.87^{def}
NAA 0.5+BA 2.0	1.90^{cd}	0.33^{bd}	1.00^{d}	5.20^{bcd}	0.19^{efg}	0.17^{b}	0.96^{cdef}
NAA 1.0+BA 0.5	4.13^{cd}	0.25^{bd}	1.33^{d}	4.89^{bcd}	0.20^{cdefg}	0.18^{ab}	1.37^{c}
NAA 1.0+BA 1.0	1.20^{d}	0.32^{bd}	1.60^{cd}	4.40^{bcd}	0.19^{defg}	0.15^{b}	0.96^{cdef}
NAA 1.0+BA 1.5	1.14^{d}	0.46^{bcd}	2.78^{ab}	4.44^{bcd}	0.23^{bcdef}	0.16^{b}	0.95^{cdef}
NAA 1.0+BA 2.0	14.00^{b}	0.58^{cb}	3.20^{a}	9.40 ^{ab}	0.26^{abc}	0.28^{ab}	2.30^{ab}
F-test	*	*	*	*	*	ns	*
C.V.(%)	139.69	92.16	89.93	43.84	45.26	70.31	65.30

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test

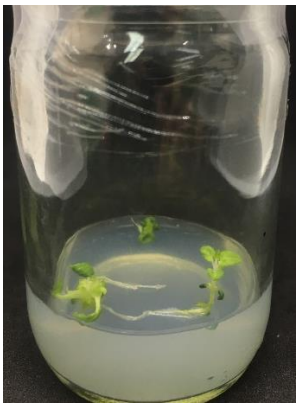
* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



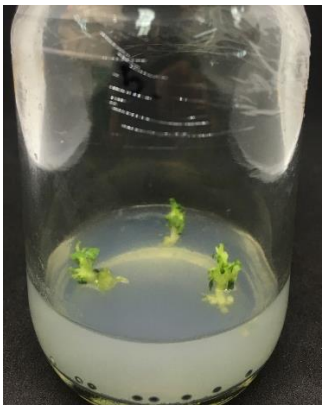
T1

T2



T3

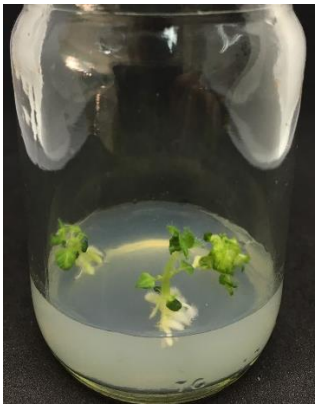
T4



T5

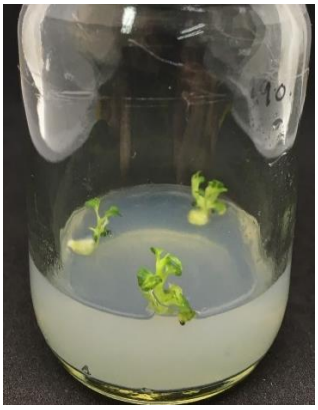
T6

T7



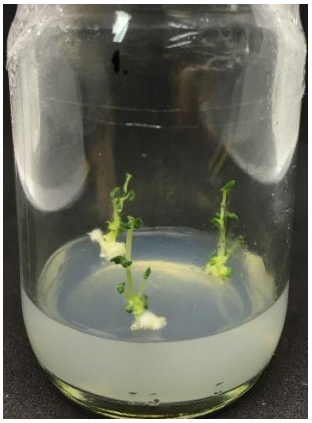
T8

T9

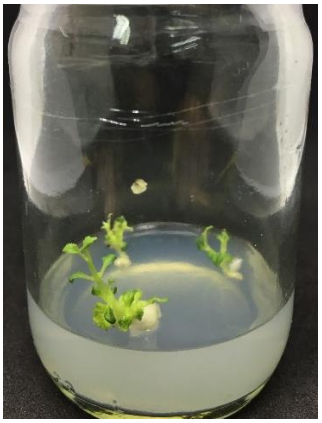


T10

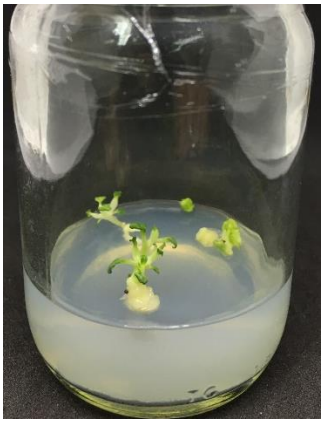
T11



T12



T13



T14

T15

ภาพที่ 10 การเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้วสัปดาห์ที่ 2 ในขวดที่มีอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ NAA แต่ละความเข้มข้น (T1) MS, (T2) BA 0.5, (T3) BA 1.0, (T4) BA 1.5, (T5) BA 2.0, (T6) NAA 0.5, (T7) NAA 1.0, (T8) NAA 0.5+BA 0.5, (T9) NAA 0.5+BA 1.0, (T10) NAA 0.5+BA 1.5,(T11) NAA 0.5+BA 2.0, (T12) NAA 1.0+BA 0.5, (T13) NAA 1.0+BA 1.0, (T14) NAA 1.0+BA 1.5 และ (T15) NAA 1.0+BA 2.0

บทที่ 5
สรุปและอภิปลายผล

จากการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของฮอร์โมน BA และ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อของต้นระฆังแก้ว (*Campanumoea celebica* Blume Hook. f. & Thomson) เพื่ออนุรักษ์พรรณไม้หายาก ที่เก็บรวบรวมได้จากพื้นที่อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่

5.1 ทดสอบอัตราการงอกของต้นระฆังแก้ว

5.1.1 การชักนำเมล็ดให้งอก

ผลการชักนำเมล็ดระฆังแก้วให้เกิดเป็นต้นอ่อนโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม BA ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อตรวจนับจำนวนเมล็ดที่เกิดการเจริญเติบโต พบว่า อาหารที่มีความเหมาะสมต่อการชักนำเมล็ดให้งอกในการทดลองนี้ คืออาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำเมล็ดให้งอกได้สูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Seglie,L. *et.al*.,(2011) ศึกษาเกี่ยวกับการงอกของเมล็ด *Campanula spp.* ทำการศึกษาประชากรของ *Campanula barbata* L. , *Campanula latifolia* L. , *Campanula rapunculoides* L. , *Campanula spicata* L. และ *Campanula trachelium* L.นำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม 1-naphthaleneacetic (NAA) 0.02 mg/L^{-1}, 6-benzyladenine (BAP) 1 mg/L^{-1} และ kinetin ไม่พบความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมการเจริญเติบโตยกเว้น *C. barbata* ซึ่ง เปอร์เซ็นการงอก เกือบ 0% ในกรณีที่ไม่มีฮอร์โมนพืชการงอกของเมล็ดใน *C. spicata* สูงกว่าสถิติ (34%) เมื่อเทียบกับ *C. barbata* (0%) และทั้ง *C. latifolia* และ *C. trachelium* (ประมาณ 19%) พบการเกิดยอดและรากบนอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

5.2 ทดสอบอัตราการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว

5.2.1 การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช

การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว โดยต้นอ่อนระฆังแก้ว ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในสูตรอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม BA ความเข้มข้น 0-2 มิลลิลิตรต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.50 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความ เข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหารที่มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร จำนวนใบเฉลี่ยอยู่ที่ 11.20 ใบ สูตรอาหารที่มีความยาวเฉลี่ยใบสูงสุด คือ อาหารสูตร MS (ชุดควบคุม) ความยาวเฉลี่ยอยู่ที่ 0.32 เซนติเมตร สูตรอาหารที่มีความกว้างใบเฉลี่ยสูงสุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ความกว้างเฉลี่ยอยู่ที่ 0.62 เซนติเมตร สูตรอาหารที่มีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ความสูงเฉลี่ยอยู่ที่ 3.03 เซนติเมตร สูตรอาหารที่มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ความยาวรากเฉลี่ยอยู่ที่ 1.25 เซนติเมตร สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้รากพัฒนาได้มากที่สุด NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร โดยมีจำนวนราก เฉลี่ย 23.30 ราก และสูตรอาหารที่มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด คือ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.20 ยอด และสูตรอาหารที่ชักนำการเจริญของต้นสูงสุด คือ MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ความสูงเฉลี่ยอยู่ที่ 3.03 เซนติเมตร ดังนั้นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นระฆังแก้ว คือ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และ NAA 0.5 เนื่องจากมีแนวโน้มของจำนวนรากและยอดสูงสุด เหมาะแก่การขยายพันธุ์ต่อไป แต่ไม่สอดคล้องกับงานของ มงคล ศิริจันทร์ (2559) นำเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด จากบริเวณปลายไหลของสตรอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 มาขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหาร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 6 ระดับ ดังนี้ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 4 ระดับ ดังนี้ 0 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติม NAA มี ประสิทธิภาพในการชักนำให้ยอดพัฒนาเป็นรากได้ดีที่สุด และสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ประสิทธิภาพสูงสุดในการชักนำให้เกิดยอดดีที่สุด

เอกสารอ้างอิง

นิจศิริ เรืองรังษี. 2559. **พระจันทร์ครึ่งซีก (Phra Chan Khrueng Sik).**
เข้าถึงได้จาก:http://www.fca16mr.com/webblog/blog.php?id=1530.
สืบค้นเมื่อ, 20 มกราคม 2563.

สุคนธ์ทิพย์ ศิริมงคล. มปป. **ระฆังแก้ว.** เข้าถึงได้จาก: http://www.dnp.go.th/botany/mindexdictdetail.
สืบค้นเมื่อ, 20 มกราคม 2563.

สำนักงานพัฒนาชุมชนอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่. 2559. **อุทยานแห่งชาติดอยเชียงดาว**.
เข้าถึงได้จาก:http://district.cdd.go.th/chiangdao/about. สืบค้นเมื่อ, 20 มกราคม 2563.

รังสฤษฏ์ กาวีต๊ะ. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช:หลักการและเทคนิค**. กรุงเทพฯ: ภาคพืชไร่นา คณะเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
สืบค้นเมื่อ, 20 มกราคม 2563.

ดนัย บุณยเกียรติ. 2547. **สรีระวิทยาพืช ฮอร์โมนพืช.**
เข้าถึงได้จาก:http://web.agri.cmu.ac.th/hort/course/359311/PPHY10_hormone.htm.
สืบค้นเมื่อ, 20 มกราคม 2563.

ชูศักดิ์ จอมพุก. 2552. **สถิติ: การวางแผนการทดลอง และการวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัยด้านพืชด้วย "R".** เข้าถึงได้จาก:file:///C:/Users/Administrator/Downloads/KU0368001%20(1).
สืบค้นเมื่อ, 20 มกราคม 2563

พีรเดช ทองอำไพ. 2529. **ฮอรโมนพืชและสารสังเคราะห แนวทางการใชประโยชนในประเทศไทย.**
เข้าถึงได้จาก: http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/other/other37.
สืบค้นเมื่อ, 20 มกราคม 2563

เพชรรัตน์ จันทรทิณ. 2556. **ความหมาย ประวัติ และความสำคัญ ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.**
สาขาเทคโนโลยีการเกษตรคณะเทคโนโลยีและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี.

มงคล ศิริจันทร์. 2559. **ผลของ BA และ NAA ต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากของสตรอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 80 ในสภาพปลอดเชื้อ**.
เข้าถึงได้จาก:http://www.natres.psu.ac.th/nhc15/abstract_download/OT02403.
สืบค้นเมื่อ, 20 มกราคม

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

วนัญญา รู้ทวีผล. 2554. **ผลของสาร BA และ NAA ต่อการเกิดยอดของเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของใบกล็อกซิเนีย**.เข้าถึงได้จาก: http://www.lib.kps.ku.ac.th/SpecialProject/Horticulture. สืบค้นเมื่อ ,23 มกราคม

สกุลรัตน์ หาญศึกและคณะ. 2561. **ผลของ BA และ NAA ต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ของส้มฟรีมองต์และส้มโชกุน**. เข้าถึงได้จาก:http://www.natres.psu.ac.th/Department/PlantScience. สืบค้นเมื่อ, 23 มกราคม

YANG Da-song et.al. 2015. **Chemical constituents from roots of Campanumoea javanica and their antiangiogeneic activities.** Available Source: https://www.researchgate.net/publication/279194755. February 25, 2020.

Ludovica Seglie , Valentina Scariot, Federica Larcher, Marco Devecchi & Paola Maria Chiavazza (2011) . **In vitro seed germination and seedling propagation in *Campanula* spp**. 15-23

Bewley JD, Black M. 1994. **Hormones in the developing seed**. In:Seeds: Physiology of development and germination. 2nd ed.New York: Plenum Press. pp. 99–100.

Kun-Ning Chen, H. Wen, W. Chien, C. Chung, C. Hwei, K. Chia, K.Mallikarjuna (2013). **Codonopsis javanica root extracts attenuate hyperinsulinemia and lipid peroxidation in fructose-fed insulin resistant rats**. Available Source: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii. February 25, 2020.