การผลิตหัวย่อยของแกลดิโอลัสโดยการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน*

GLADIOLUS CORMEL PRODUCTION BY YOUNG FLOWER STALK CULTURE

สอาด ร่มรื่นสุขารมย์
Sa-ard Romroensukarom

ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Department of Horticulture, Kasetsart University

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสในอาหารแข็ง ซึ่งประกอบด้วย macronutrient และ micronutrient ของ Murashige และ Skoog ร่วมกับ organic addenda ของ Nitsch & Nitsch พบว่าการวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนบนอาหารตั้งขึ้นตามทิศทางของช่อดอก จะทำให้เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตสูงกว่าการวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนในแนวนอน หรือกลับทิศทางในแนวตั้งและก้านช่อดอกอ่อนส่วนปลายช่อสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าก้านช่อดอกอ่อนส่วนโคนช่อ เมื่อนำเนื้อเยื่อที่ได้จากการเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อนมาเลี้ยงในอาหารที่เติม 6-benzylamino purine (BA) ตั้งแต่ 1.0–2.0 มก./ล. หรือใช้ร่วมกับ α-naphthalene acetic acid (NAA) 0.1 มก./ล. เนื้อเยื่อจะมีการเจริญเติบโต สร้างตายอดและต้นแขนงจำนวนมาก และการเพิ่มปริมาณน้ำตาลจาก 30 เป็น 45 ก./ล. จะช่วยให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตเร็วขึ้นสร้างตายอดและต้นแขนงมากขึ้น อาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมคือ 0.4–0.8% จะทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโต สร้างต้นแขนงเป็นจำนวนมาก อาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นต่ำจะไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแขนง แต่การสร้างตายอดและต้นแขนงจะลดลง และอาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นสูงจะทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตและการเกิดต้นแขนงลดลง

เมื่อย้ายเนื้อเยื่อที่มีตายอดและต้นแขนงจำนวนมากไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม BA หรือเติม BA ความเข้มข้นต่ำ จะทำให้ตายอดและต้นแขนงขนาดเล็กเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมาก เมื่อย้ายต้นแขนงเหล่านี้ไปเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. จะมีรากเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก สามารถย้ายออกมาปลูกเลี้ยงภายนอกได้ภายใน 8 สัปดาห์ ต้นแขนงที่ย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดรากจะสร้างหัวย่อย (cormel) และสามารถเก็บหัวย่อยได้ภายใน 4–5 เดือน การเปลี่ยนอาหารจำเป็นสำหรับการสร้างหัวย่อยที่มีขนาดใหญ่ขึ้น จำนวนหัวย่อยที่เกิดขึ้นจำนวนมาก มีผลทำให้ขนาดหัวย่อยลดลง อย่างไรก็ตาม การเพิ่มปริมาณน้ำตาลในอาหารให้สูงขึ้นจะทำให้ต้นแขนงสามารถสร้างหัวย่อยได้เร็วขึ้นและขนาดใหญ่ขึ้น

---

* เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2526

โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร สามารถเก็บหัวย่อยได้ภายใน 3 เดือน จากการขยายพันธุ์โดยวิธีนี้สามารถผลิตหัวย่อยแกลดิโอลัสได้ 50,000–80,000 หัวย่อยต่อช่อดอกอ่อน 1 ช่อ ภายในเวลา 7–9 เดือน

ABSTRACT

Young flower stalk discs of gladiolus were aseptically cultured on a solid medium of Murashige and Skoog's macro-micronutrient and Nitsch & Nitsch's organic addenda. The discs of young flower stalk which were placed according to polarity on an agar medium grew better than those placed on a horizontal or reverse polarity. Tissues thus obtained produced callus, buds and adventitious shoots. They could be multiplied by subculturing them in a similar agar medium containing 1.0-2.0 mg/l, 6-benzylamino purine (BA) or BA with 0.1 α-naphthalene acetic acid (NAA). Increasing sucrose concentration from 30 g/l to 45 g/l promoted growth, number of shoot buds and adventitious shoots. Also the optimum agar concentration (0.4-0.8%) in the medium increased number of shoot buds and shoot formation. A low agar concentration promoted shoot growth only, but reduced number of shoot buds and shoot formation. A high agar concentration decreased both shoot proliferation and shoot growth.

After transferring shoot buds and small shoots to a basal or a low-BA medium, the elongation of buds and small shoots occurred and grew uniformly. When shoots were transferred to a rooting medium containing 0.1 mg/l NAA, roots developed and plantlets could be transplanted within 8 weeks. Development of a small size cormel occurred and could be harvested within 4-5 months after a shoot was cultured on a rooting medium. Subculturing plantlets to a fresh medium was necessary to obtain cormels of larger size. Increasing sugar concentrations in the medium could promote larger cormel within 3 months without subculturing. By this propagating method, 50,000-80,000 cormels could be produced per flower stalk within 7-9 months.

คำนำ

แกลดิโอลัส (*Gladiolus hybrida*) เป็นไม้ดอกที่ให้ความสวยงามชนิดหนึ่ง มีถิ่นกำเนิดแถบเมดิเตอร์เรเนียนและอัฟริกาใต้[25] มีผู้นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายทั้งในยุโรปและอเมริกา โดยเฉพาะที่มลรัฐฟลอริดาประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นแหล่งผลิตใหญ่ที่สุด[1] ปัจจุบันแกลดิโอลัสเป็นไม้ดอกที่กำลังได้รับความนิยมในประเทศไทย ไม่ว่าจะใช้เป็นไม้ตัดดอกหรือไม้ดอกประดับแปลงและตกแต่งสถานที่ ทั้งนี้เนื่องมาจากดอกสวยงามมีหลายสี และมีอายุการบานได้นานหลายวัน ช่อดอกยาวเหมาะสำหรับปักแจกัน จึงมีแนวโน้มว่าไม้ดอกชนิดนี้จะได้รับความนิยมมากขึ้นในอนาคต

สำหรับแกลดิโอลัสพันธุ์ลูกผสมต่างประเทศนั้น ทางภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้สั่งเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อทำการคัดเลือกพันธุ์ รวมทั้งผสมพันธุ์เพื่อให้เกิดพันธุ์ใหม่ที่เหมาะสำหรับปลูกในประเทศไทย และขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณที่เพียงพอเพื่อส่งเสริมให้มีผู้นิยมปลูกมากขึ้น แต่ในปีหนึ่ง ๆ พันธุ์ที่สั่งเข้ามาซึ่งมีราคาค่อนข้างแพง ตลอดจนปริมาณก็ยังไม่เพียงพอ การขยายพันธุ์ด้วยวิธี

ธรรมชาติ เพื่อให้ได้ปริมาณมากต้องใช้เวลานาน ดังนั้นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการขยายพันธุ์แกลดิโอลัสให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาสั้น ตลอดจนได้ต้นที่ตรงตามพันธุ์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสมีแนวโน้มว่าจะเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่สามารถเพิ่มปริมาณหัวได้อย่างรวดเร็วและประหยัด เพราะเนื้อเยื่อส่วนของหัว (corm) เมื่อนำไปเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจะทำให้สูญเสียหัวพันธุ์ไป รวมทั้งโอกาสที่จะได้เนื้อเยื่อที่ปราศจากเชื้อโรคก็มีน้อยกว่าการใช้เนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อน ดังนั้นการผลิตหัวย่อยของแกลดิโอลัสโดยการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อนจึงน่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีความยาวประมาณ 15–30 ซม. พันธุ์ละ 1–3 ช่อ
2. สารละลายที่ใช้ทำความสะอาดเนื้อเยื่อได้แก่ คลอรอกซ์ (Chlorox) และทีโพล (Teepol)
3. สารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหารซึ่งประกอบด้วย macro- และ micronutrient ของ Murashige และ Skoog[14] และ organic addenda ของ Nitsch & Nitsch
4. สารเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่ α-naphthalene acetic acid (NAA) และ 6-benzylamino purine (BA)

วิธีการ

1. การเตรียมอาหาร เตรียมอาหารแข็งโดยมีองค์ประกอบของ macro-และ micronutrient ของ Murashige และ Skoog[14] และ organic addenda ของ Nitsch & Nitsch เติมน้ำตาล (sucrose) 3% เติม BA และ/หรือ NAA ความเข้มข้นต่างกันไปตามการทดลอง ปรับ pH ให้ได้ 5.6±0.1 โดยใช้ 1 N NaOH และ 1N H_2SO_4 ใส่วุ้น (Difco-bacto agar) 0.8% เคี่ยวจนวุ้นละลายหมดแล้วจึงบรรจุอาหารลงในขวด เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปิดฝาด้วยกระดาษตะกั่ว (aluminum foil) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว นาน 20 นาที

2. การทำความสะอาดเนื้อเยื่อ นำช่อดอกอ่อนแกลดิโอลัสที่มีความยาว 15–30 ซม. พันธุ์ละ 1–3 ช่อ มาลอกใบ ปลิดกาบหุ้มดอกและดอกออก แล้วตัดเป็นท่อนยาวท่อนละประมาณ 10 ซม. โดยแยกเป็นส่วนปลายช่อ (ช่วง 10 ซม. จากปลายช่อ) และส่วนโคนช่อ (ส่วนที่ต่ำกว่า 10 ซม. จากปลายช่อ) นำไปแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ 10% เติมทีโพล 2–3 หยด เขย่าบนเครื่องเขย่านาน 10 นาที แล้วจึงย้ายไปแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ 1% เติมทีโพล 2–3 หยด เขย่าบนเครื่องเขย่านาน 30 นาที ล้างส่วนของช่อดอกอ่อนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในตู้ถ่ายเชื้อ 3 ครั้ง

3. การตัดและการเลี้ยงเนื้อเยื่อ นำส่วนของช่อดอกที่ปลอดเชื้อแล้วมาตัดตามขวาง แต่ละชิ้นหนา 5–7 มม. ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ นำชิ้นก้านช่อดอกอ่อนไปเลี้ยงในอาหารที่เตรียมไว้ แล้วจึงย้ายไปเลี้ยงในห้อง

ที่มีอุณหภูมิ 25±3°ซ. ได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ นาน 24 ชม.

การวางแผนการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของก้านช่อดอกอ่อนส่วนโคนช่อและส่วนปลายช่อที่วางในทิศทางต่าง ๆ กัน

ศึกษาการเจริญเติบโตไปเป็นแคลลัสและต้นแขนงของก้านช่อดอกอ่อนส่วนปลายช่อและส่วนโคนช่อ โดยเปรียบเทียบการวางในแนวตั้ง แนวราบ และกลับทิศทางในแนวตั้ง อย่างละ 1 ช่อ (11 พันธุ์) เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 2 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 2 ศึกษาระดับความเข้มข้นของ BA และ NAA ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ

นำเนื้อเยื่อที่เจริญดีจากการทดลองที่ 1 มา 5 พันธุ์ เพื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA และ NAA ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันตั้งแต่ 0–3.0 มก./ล. และ 0–2.0 มก./ล. ตามลำดับ โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial Experiment in Completely Randomized Design (CRD) การทดลองนี้มี 30 ชุด (treatment) แต่ละชุดมี 5 ซ้ำ ใช้เวลาทดลอง 6 สัปดาห์

การทดลองที่ 3 ศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ

นำเนื้อเยื่อจาก 3 พันธุ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของน้ำตาลตั้งแต่ 0–6.0% โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD การทดลองมี 5 ชุดแต่ละชุดมี 5 ซ้ำ ใช้เวลาทดลอง 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 4 ศึกษาระดับความเข้มข้นของวุ้น (Difco-bacto agar) ต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ

นำเนื้อเยื่อจาก 3 พันธุ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของวุ้นตั้งแต่ 0–1.2% โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD การทดลองนี้มี 7 ชุด แต่ละชุดมี 5 ซ้ำ ใช้เวลาทดลอง 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 5 การเร่งให้ตายอดและต้นแขนงขนาดเล็กเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงขนาดสม่ำเสมอจำนวนมากเพื่อนำไปใช้ในการชักนำให้เกิดรากต่อไป

นำเนื้อเยื่อที่มีตายอดและต้นแขนงจำนวนมากมาเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นต่ำตั้งแต่ 0, 0.5 และ 1.0 มก./ล. เพื่อชักนำให้เกิดต้นแขนงขนาดสม่ำเสมอจำนวนมากใช้เวลาทดลอง 3 สัปดาห์

การทดลองที่ 6 การชักนำให้ต้นแขนงสร้างรากจำนวนมาก และเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์เพื่อย้ายต้นมาปลูกเลี้ยงภายนอก

แยกต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจากการทดลองที่ 5 มาเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ กันโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD การทดลองนี้มี 10 ชุด แต่ละชุดมี 14 ซ้ำ ใช้เวลาทดลอง 6 สัปดาห์

การทดลองที่ 7 ศึกษาจำนวนครั้งในการเปลี่ยนอาหารที่มีผลต่อการสร้างขนาดและน้ำหนักสดของ

หัวย่อย การเจริญเติบโตของต้นแขนง จำนวนใบ ความยาวใบ รวมทั้งศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างหัวย่อยของต้นแขนงใช้เวลาทดลอง 5 เดือน

ผล

การทดลองที่ 1

จากการทดลองพบว่า การวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนตั้งขึ้นตามทิศทางของช่อดอกโดยให้ส่วนโคน (proximal end) ติดกับอาหาร จะทำให้ชิ้นก้านช่อดอกมีการเจริญเติบโตไปเป็นแคลลัส และต้นแขนงได้ดีกว่าการวางในแนวราบหรือกลับทิศทางและชิ้นก้านช่อดอกส่วนปลายช่อสามารถเจริญเติบโตไปเป็นแคลลัสและต้นแขนงได้ดีกว่าส่วนโคนช่อ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตแตกต่างกันไปตามพันธุ์ พันธุ์ Formality มีการเจริญเติบโตดีที่สุด คือ 91.89% รองลงมาคือพันธุ์ Wine & Rose 89.74% และพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตต่ำสุดคือพันธุ์ Golden Shown 60.53% (ตารางที่ 1)

การทดลองที่ 2

จากการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน 5 พันธุ์ในอาหารแข็งที่เติม BA ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0–3.0 มก./ล. และ NAA 0–2.0 มก./ล. พบว่าพันธุ์ Formality จะมีเนื้อเยื่อที่เจริญเติบโตได้ดีที่สุด ในอาหารที่เติม BA 1.5–2.0 มก./ล. และสร้างรากได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. (ตารางที่ 2) พันธุ์ Wine & Rose เนื้อเยื่อเจริญดีที่สุดในอาหารที่เติม BA 1.5 มก./ล. และสร้างรากได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. (ตารางที่ 3) สำหรับพันธุ์ Dottee Dee, Violetta x True Love และ Violetta x Mardigras ก็จะมีผลการทดลองใกล้เคียงกัน ซึ่งระดับความเข้มข้นของ BA และ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อแตกต่างกันไปตามพันธุ์ (ตารางที่ 4,5,6)

การทดลองที่ 3

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 3 พันธุ์ ในอาหารที่เติม BA 1.0 มก./ล. และความเข้มข้นของน้ำตาลจาก 0, 1.5, 2.0, 4.5 และ 6.0% พบว่าเนื้อเยื่อจะมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปตามพันธุ์และความเข้มข้นของน้ำตาล สำหรับพันธุ์ Dottee Dee ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลจะขาวซีดตายภายใน 2 สัปดาห์ และมีน้ำหนักสดเฉลี่ยน้อยมาก เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมน้ำตาลด้วยน้ำหนักสดเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น การเกิดตายอดและต้นแขนงจะเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 6.0% เนื้อเยื่อจะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 10.27 ก. และมีจำนวนต้นแขนงที่ยาวกว่า 1 ซม. 17.0 ต้น ส่วนที่ความเข้มข้นน้ำตาล 4.5% มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 8.28 ก. แต่มีจำนวนต้นแขนงที่ยาวกว่า 1 ซม. มากที่สุดคือ 32.8 ต้น (ตารางที่ 7) ส่วนพันธุ์ Violetta x True Love และพันธุ์ Violetta x Mardigras ก็พบว่ามีการตอบสนองคล้ายคลึงกับพันธุ์ Dottee Dee อย่างไรก็ตาม จากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลให้สูงขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตของต้นแขนงลดลง จากการเปรียบเทียบพันธุ์ Dottee Dee กับพันธุ์ Violetta x True Love พบว่าการสร้างต้นแขนงที่มีขนาดมากกว่า 1 ซม. ได้ดีที่สุดในอาหารที่เติมน้ำตาล 4.5% และเมื่อระดับความเข้มข้นของน้ำตาลเกินกว่านี้การสร้างต้นแขนงที่มีขนาดยาวกว่า 1 ซม. จะเริ่มลดลง

การทดลองที่ 4

จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ 3 พันธุ์ในอาหารที่เติม BA 1.0 มก./ล. และมีระดับความเข้มข้นของวุ้นต่าง ๆ กันคือ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2% พบว่าอาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นสูงจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อและการสร้างต้นแขนง อาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นต่ำจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแขนง เนื้อเยื่อพันธุ์ Dottee Dee จะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 8.58 ก. เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมวุ้น 0.6% และจะเริ่มลดลงเมื่อความเข้มข้นของวุ้นมากขึ้น การเกิดตายอดและต้นแขนงมีมากที่สุดในอาหารที่เติมวุ้น 0.4% และจะเริ่มลดลงเมื่อความเข้มข้นของวุ้นมากขึ้น พันธุ์ Violetta x True Love จะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 7.68 ก. เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีวุ้น 0.8% การเกิดตายอดและต้นแขนงดีที่สุดในอาหารที่เติมวุ้น 0.4% ส่วนพันธุ์ Violetta x Mardigras จะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 7.39 ก. ในอาหารที่เติมวุ้น 0.6% และมีต้นแขนงมากที่สุดในอาหารที่เติมวุ้น 0% (ตารางที่ 8)

การทดลองที่ 5

จากการทดลองย้ายเนื้อเยื่อ 3 พันธุ์จากขั้นตอนที่ 2 และ 3 มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรเดียวกันที่มี BA 0, 0.05 และ 0.1 มก./ล. พบว่าพันธุ์ Dottee Dee มีต้นแขนงขนาด 5 ซม.ขึ้นไป ซึ่งเหมาะต่อการแยกไปชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดในอาหารที่ไม่เติม BA ส่วนพันธุ์ Violetta x True Love จะเกิดต้นแขนงที่มีขนาด 5 ซม.ได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม BA 0.1 มก./ล. และพันธุ์ Violetta x Mardigras จะเกิดต้นแขนงที่มีขนาด 5 ซม.ขึ้นไปได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม BA 0–0.05 มก./ล. (ตารางที่ 9) เนื้อเยื่อทั้ง 3 พันธุ์เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ BA ให้สูงขึ้นมีแนวโน้มที่จะทำให้ต้นแขนงที่มีขนาด 5 ซม.ขึ้นไปลดลง ขณะที่ต้นแขนงที่มีขนาดเล็กกว่า 5 ซม.เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA ขึ้นไปถึง 0.1 มก./ล. เนื้อเยื่อจะมีการเจริญเติบโตและแตกแขนงเพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันการเจริญเติบโตของต้นแขนงจะลดลง

การทดลองที่ 6

จากการทดลองย้ายต้นแขนง 3 พันธุ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ที่เติม NAA หรือใช้ NAA ร่วมกับ ผงถ่าน (activated charcoal) พบว่าต้นแขนงพันธุ์ Dottee Dee และพันธุ์ Violetta x True Love มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากจำนวนมากคือ 92.86% และ 92.88% ตามลำดับ ตลอดจนมีการเจริญเติบโตของต้นแขนงได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. ส่วนพันธุ์ Violetta x Mardigras มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและสร้างรากจำนวนมากคือ 92.86% ในอาหารที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่งและเติม NAA 0.1 มก./ล. (ตารางที่ 10,11,12)

การทดลองที่ 7

หลังจากย้ายต้นแขนงที่มีขนาดเหมาะสมมาเลี้ยงในอาหารที่เติมสารเร่งการเจริญเติบโต หรือเติม NAA ในปริมาณน้อย ๆ เพื่อให้การเจริญเติบโตของรากดีขึ้น การสร้างหัวขนาดเล็กจะเกิดขึ้นภายในเวลา 1–2 เดือน ขนาดของหัวย่อยขึ้นอยู่กับความแข็งแรง ขนาดของต้น การเปลี่ยนอาหาร ตลอดจนสภาพแวดล้อม และสามารถเก็บเกี่ยวหัวย่อยได้ในเวลา 4–5 เดือน จากการเปรียบเทียบต้นที่มีการเปลี่ยนอาหารกับต้นที่ไม่มีการเปลี่ยนอาหาร พบว่าต้นที่มีการเปลี่ยนอาหารจะมีจำนวนใบต่อต้น ความยาวใบ ขนาดหัวย่อย และน้ำหนัก

สดของหัวย่อย สูงกว่าต้นที่ไม่เปลี่ยนอาหาร อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนอาหารควรอยู่ในช่วงที่ต้นยังไม่เกิดรากหรือมีรากน้อยและสั้น เพราะการเปลี่ยนอาหารในช่วงที่มีรากมากและยาว จะทำให้รากกระทบกระเทือน ต้นจะชะงักการเจริญเติบโต การสร้างหัวย่อยจะช้าและมีขนาดเล็กลงด้วย และยังพบว่าชิ้นส่วนใดมีการสร้างหัวย่อยน้อย หัวย่อยจะมีขนาดใหญ่กว่าหัวย่อยที่เกิดจากชิ้นส่วนที่มีจำนวนหัวย่อยมาก (ตารางที่ 13,14)

จากการทดลองผลของความเข้มข้นน้ำตาลต่อการสร้างหัวย่อยของพันธุ์ Dottee Dee, Violetta x True Love และ Violetta x Mardigras พบว่าทั้ง 3 พันธุ์จะมีการสร้างรากเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นจาก 3,6 และ 9% (ตารางที่ 15) และเมื่อใช้ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล. ต้นแขนงจะสร้างรากจำนวนมาก แต่ปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตของต้นแขนงช้าลง และการเลี้ยงต้นแขนงในอาหารเป็นเวลา 3 เดือน โดยไม่มีการเปลี่ยนอาหารพบว่า ต้นแขนงที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลจะไม่มีการสร้างรากและหัวย่อยเกิดขึ้นเลย ส่วนต้นแขนงที่เลี้ยงในอาหารผสมน้ำตาลจะมีการเจริญเติบโตสร้างรากและหัวย่อย ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวย่อยและน้ำหนักสดของหัวย่อยจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น และสามารถเก็บหัวย่อยได้เร็วขึ้น 2 เดือน แต่ปริมาณน้ำตาลที่สูงขึ้นจะทำให้จำนวนหัวย่อยลดลง

วิจารณ์

การศึกษาและทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนเพื่อผลิตหัวย่อยของแกลดิโอลัส ได้แบ่งขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเป็นหลายขั้นตอน การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อในแต่ละขั้นตอนก็แตกต่างกันไป ซึ่งมีผลมาจากปัจจัยต่าง ๆ คือ

การชักนำให้ชิ้นก้านช่อดอกอ่อนมีการเจริญเติบโตเป็นแคลลัส ตายอด และต้นแขนงจำนวนมากเพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณต่อไป มีปัจจัยบางชนิดที่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนคือ

โพลาริตี

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสในอาหารแข็งที่ประกอบด้วย macro-และ micronutrient ของ Murashige และ Skoog[14] ร่วมกับ organic addenda ของ Nitsch & Nitsch เติม BA 2.0 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. พบว่าการวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนบนอาหารในลักษณะที่ตั้งขึ้นตามทิศทางของช่อดอกและวางในแนวนอนทำให้เปอร์เซ็นต์ของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนมีการเจริญเติบโตสูงกว่าการวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนในลักษณะกลับทิศทางในแนวตั้ง การเกิดแคลลัสและต้นแขนง จะเกิดที่ด้านปลายด้านใดด้านหนึ่งของชิ้นก้านช่อดอกอ่อน ส่วนใหญ่มักเกิดทางด้านปลาย ส่วนด้านโคนเป็นส่วนที่สัมผัสกับอาหาร การกลับทิศทางของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนในแนวตั้งจะทำให้เปอร์เซ็นต์ของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนมีการเจริญเติบโตน้อยมาก เพราะว่าโพลาริตีเป็นลักษณะประจำในการบักชำ ส่วนโคนมักเกิดราก การเกิดตาและยอดใหม่มักอยู่ทางด้านปลาย[6] การกลับทิศทางในลักษณะตรงข้ามจะทำให้ลักษณะของโพลาริตีเปลี่ยนไป จากการเพาะเลี้ยงชิ้นก้านช่อดอกอ่อนเมื่อกลับชิ้นส่วนเอาส่วนปลายไปฝังในอาหาร อาจทำให้เนื้อเยื่อส่วนนี้ซึ่งมีความสามารถที่จะเจริญเติบโตขาดอากาศ โอกาสที่ชิ้นก้านช่อดอกอ่อนจะมีการเจริญเติบโตจึงลดลง ชิ้นส่วนที่ไม่มีการสร้างแคลลัสและต้นแขนงจะตายไป แม้ว่าบริเวณรอยตัดทางด้านโคนจะมีการเจริญเติบโตในระยะแรกก็

ตาม อย่างไรก็ตาม งานทดลองนี้แตกต่างจากงานทดลองของ Ziv et al.[27] ซึ่งได้ทดลองเพาะเลี้ยงช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัส พบว่ารากมักเกิดขึ้นทางด้านฐาน และตาเกิดขึ้นทางด้านบน โดยไม่คำนึงถึงตำแหน่งเริ่มต้นของชิ้นส่วนของช่อดอกอ่อน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างในด้านอาหาร สภาพแวดล้อม และระดับของสารเร่งการเจริญเติบโต

เนื้อเยื่อก้านช่อดอกอ่อนส่วนปลายช่อและส่วนโคนช่อ

จากการทดลองเปรียบเทียบพบว่าก้านช่อดอกอ่อนส่วนปลายช่อมีแนวโน้มที่จะเจริญเติบโตสร้างแคลลัสและต้นแขนงได้ดีกว่าก้านช่อดอกอ่อนส่วนโคนช่อ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากบริเวณส่วนปลายช่อมีเนื้อเยื่อเจริญและสารเร่งการเจริญเติบโตบางอย่างมากกว่าในเนื้อเยื่อพืชส่วนโคนช่อ ซึ่งเนื้อเยื่อบริเวณนี้ส่วนใหญ่ได้เปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อถาวรแล้ว ผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับงานทดลองของ Bajaj et al.[2], Meyer et al.[12] และ Hosoki และ Asahira[7] เนื้อเยื่อส่วนที่อ่อนอาจจะมีเนื้อเยื่อเจริญกระจายอยู่ทั่วไป จึงทำให้เนื้อเยื่อส่วนที่อ่อนสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าเนื้อเยื่อส่วนที่แก่ [3]

ระดับของสารเร่งการเจริญเติบโตและพันธุ์

ชิ้นก้านช่อดอกอ่อนสามารถสร้างแคลลัส ตายอด และต้นแขนง ภายใน 2-3 สัปดาห์ จำนวนของตายอดและต้นแขนงเกิดขึ้นจำนวนมากภายใน 4-8 สัปดาห์ การสร้างตายอดและต้นแขนงของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตและพันธุ์ของแกลดิโอลัส จากการทดลองเลี้ยงชิ้นก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัส 11 พันธุ์ พบว่าพันธุ์ Formality, Wine & Rose, Cardinal และ Corel สามารถเจริญเติบโต สร้างตายอดและต้นแขนงจำนวนมากในอาหารที่เติม BA 2.0 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. พันธุ์ Virgo, Departing Sun, Adagio, Deimos และ Angel Eye เจริญเติบโตสร้างตายอดและต้นแขนงได้ดีรองลงมา ขณะที่พันธุ์Golden Shown และ Sabre มีการสร้างต้นแขนงน้อยมากในอาหารสูตรเดียวกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระดับของสารเรงการเจริญเติบโตที่เหมาะสมกับแกลดิโอลัสพันธุ์ต่าง ๆ แตกต่างกันไป ซึ่งมีส่วนสอดคล้องกับงานทดลองของ Hussey[10] และ Ziv et al.[27]

การเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นก้านช่อดอกอ่อน การชักนำให้เกิดตายอด และต้นแขนงจำนวนมาก ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ คือ

ผลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

เนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์ Formality, Wine & Rose, Dottee Dee, Violetta x True Love และ Violetta x Mardigras เมื่อย้ายมาเลี้ยงในอาหารที่เติม BA และ NAA ระดับต่าง ๆ กัน พบว่าระดับของสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Wang และ Huang[24] และ BA มีผลต่อการเจริญเติบโต การสร้างตายอดและต้นแขนงของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัส กล่าวคือ BA ความเข้มข้นต่ำจะส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแขนง BA ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจะส่งเสริมการเจริญเติบโต การเกิดตายอดและต้นแขนง

ของเนื้อเยื่อ ส่วน BA ที่ระดับความเข้มข้นสูงจะไปยับยั้งการเจริญเติบโต การเกิดตายอดและต้นแขนงของเนื้อเยื่อ ตายอดและต้นแขนงบิดงอจนทำให้ลักษณะของเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยตายอดและต้นแขนงคล้ายกับลักษณะของแคลลัส ส่วน BA ที่ใช้ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสามารถช่วยให้เนื้อเยื่อของแกลดิโอลัสบางพันธุ์สร้างตายอดและต้นแขนงได้ดีขึ้น แต่เมื่อมีการใช้ NAA ที่ระดับความเข้มข้นสูงร่วมกับ BA จะทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตลดลงและเจริญไปเป็นแคลลัส มีการสร้างตายอดและต้นแขนงน้อยมากหรือไม่เกิดขึ้นเลย การใช้ NAA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อสร้างรากได้แต่จะไปยับยั้งการเจริญเติบโต การเกิดตายอดและต้นแขนงของเนื้อเยื่อซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hussey[8,9] การใช้ไซโตไคนิน (cytokinin) เพียงอย่างเดียวจะให้ผลดีและควรหลีกเลี่ยงการใช้ออกซิน (auxin) เพื่อมิให้เนื้อเยื่อนั้นสร้างแคลลัสขึ้น ซึ่งจะทำให้โอกาสที่จะเกิดการกลายพันธุ์ลดลง นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนอันเนื่องมาจากการใช้ BA หรือ NAA ที่ระดับความเข้มข้นสูงหรือเกิดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเดิมเป็นเวลานาน ๆ โดยไม่มีการเปลี่ยนอาหาร พบว่าเมื่อนำแคลลัสเหล่านี้มาเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 1.0–3.0 มก./ล. ไม่สามารถทำให้เกิดตายอดและต้นแขนงได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Wilfret[25], Hussey[8] และ Bajaj et al.[2]

ผลของน้ำตาลที่มีต่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

จากการทดลองเพิ่มปริมาณน้ำตาลจาก 3% เป็น 4.5% สามารถทำให้เนื้อเยื่อของแกลดิโอลัสพันธุ์ Dottee Dee, Violetta x True Love และ Violetta x Mardigras เจริญเติบโต สร้างตายอดและต้นแขนงได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มน้ำตาลเป็น 6% การเจริญเติบโตของต้นแขนงจะลดลง แต่น้ำหนักสดของเนื้อเยื่อยังคงเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่เพิ่มสูงขึ้นนั้นไปส่งเสริมกิจกรรมทางสรีระของเนื้อเยื่อให้สูงขึ้น แต่ขณะเดียวกันก็ทำให้สภาพของ osmotic potential ภายในเซลล์ของเนื้อเยื่อเปลี่ยนไป จะเห็นได้ว่าเนื้อเยื่อยังคงมีการเจริญเติบโตได้ดี แต่ลักษณะการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อผิดปกติไป กล่าวคือลักษณะของเนื้อเยื่อมีลักษณะเป็นก้อนแน่น การเกิดตายอดและต้นแขนงลดลง ตายอดและต้นแขนงมีลักษณะบิดงอ อย่างไรก็ตามถ้ามีการเพิ่มปริมาณน้ำตาลให้สูงขึ้นเกิน 6% ก็มีแนวโน้มที่จะทำให้การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อลดลง เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อของแกลดิโอลัสพันธุ์ Violetta x Mardigras ซึ่งเมื่อเพิ่มน้ำตาลเกิน 4.5% การเจริญเติบโตและการเกิดต้นแขนงของเนื้อเยื่อจะลดลง ส่วนเนื้อเยื่อช่อดอกอ่อนที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลมีการเจริญเติบโตช้าและตายไปอย่างรวดเร็ว ดังเช่นงานทดลองของ Niimi และ Onozawa[15], Papachtzi et al.[16], Takayama และ Misawa[20,21,22] และอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงจะมีผลยับยั้งการทำงานของไซโตไคนิน[13] ขณะที่อาหารที่มีน้ำตาลพอเหมาะช่วยส่งเสริมการทำงานของไซโตไคนินในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการแตกแขนงของเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ตาม ผลที่เกิดจากน้ำตาลยังไม่แน่ชัด แต่กลไกที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่ออาจเนื่องมาจากเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลให้สูงขึ้นทำให้ค่า osmotic potential เปลี่ยนแปลงไปจนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อได้

ผลของวุ้นที่มีต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

จากการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสในอาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้น

แตกต่างกัน พบว่าเนื้อเยื่อสามารถเจริญเติบโต สร้างตายอดและต้นแขนงได้ดีในอาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้น 0.4-0.8% สอดคล้องกับงานทดลองของ Singha[18], Dutcher และ Powell[5], Snir และ Erez[19] และ Kusey et al.[11] พบว่าการเจริญเติบโตของต้นแขนงในอาหารเหลวเป็นไปได้ดีกว่าในอาหารแข็ง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการดูดซึมและความเป็นประโยชน์ ตลอดจนการกระจายตัวของสารเร่งการเจริญเติบโตในอาหารเหลวเป็นไปได้ดีกว่านั่นเอง อย่างไรก็ตาม ขณะที่อาหารเหลวมีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแขนงของแกลดิโอลัส แต่จะทำให้การแตกแขนงของเนื้อเยื่อลดลง อาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อรวมทั้งการสร้างตายอดและต้นแขนงและอาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นสูงเกินไปมีผลทำให้การเจริญเติบโต การเกิดตายอด และต้นแขนงลดลงเพราะมักมีสารยับยั้งการเจริญเติบโตอยู่ในวุ้น[17] ดังนั้นอาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นสูงจึงมีสารยับยั้งการเจริญเติบโตมากขึ้นด้วย จึงทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตลดลงรวมทั้งยับยั้งการเกิดตายอดและต้นแขนงด้วย

การเร่งการเจริญเติบโตของตายอดและต้นแขนงให้สม่ำเสมอ

เมื่อย้ายเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยตายอดและต้นแขนงขนาดเล็กมาเลี้ยงในอาหารที่มี BA ความเข้มข้นต่ำ 3 ระดับตั้งแต่ 0, 0.05 และ 0.1 มก./ล. จะทำให้ตายอดและต้นแขนงขนาดเล็กมีการยืดตัวและเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมาก อาหารที่ไม่เติม BA จะทำให้ต้นแขนงเจริญเติบโตได้ดี ขณะที่อาหารที่เติม BA สูงขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตของต้นแขนงช้าลง แต่เนื้อเยื่อจะมีการเกิดต้นแขนงมากขึ้น Debergh และ Maene[4] พบว่าการชักนำให้เกิดต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมากเพื่อย้ายไปชักนำให้เกิดราก เป็นขั้นตอนหนึ่งที่จะช่วยลดต้นทุนการผลิตโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้และพบว่าไซโตไคนินความเข้มข้นต่ำและความเข้มข้นของแสงสูงจำเป็นสำหรับขั้นตอนนี้

การชักนำให้ต้นแขนงสร้างราก

ต้นแขนงที่มีขนาดพอเหมาะเมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. จะมีรากเกิดขึ้นจำนวนมาก รากเจริญเติบโตได้ดีเรียวยาวสีขาว ขณะที่อาหารที่เติม NAA สูงขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตของรากช้าลง รากสั้นและอวบใหญ่ การใช้ผงถ่านร่วมกับ NAA มีผลทำให้จำนวนรากของต้นแขนงน้อยลง แม้ว่ารากจะมีการเจริญเติบโตดีก็ตาม นอกจากนี้ยังทำให้ต้นแขนงมีการเจริญเติบโตลดลงด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผงถ่านไปดูดซับสารเร่งการเจริญเติบโตและธาตุอาหารไว้ ทำให้ความเป็นประโยชน์ของสารเร่งการเจริญ-เติบโตคือ NAA และธาตุอาหารลดลง มีผลทำให้การเกิดราก และการเจริญเติบโตของต้นแขนงลดลง ดังเช่นงานทดลองของ Takayama และ Misawa[21]

การย้ายปลูก

การย้ายต้นแขนงที่เกิดรากและเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงออกมาปลูกเลี้ยงภายนอก โดยใช้วัสดุปลูกที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วเป็นสิ่งจำเป็นเพราะทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายของต้นแขนงสูงขึ้น สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะช่วยให้ต้นแขนงที่ย้ายปลูกมีการเจริญเติบโตและตั้งตัวได้เร็วขึ้น อย่างไรก็ตาม จากการ

สำนักบรรณสารและการพัฒนา
LIBRARY AND INFORMATION CENTER

ทดลองพบว่าต้นแขนงมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำมาก แต่ต้นที่รอดตายมักจะอ่อนแอ ปลายใบแห้ง รากมีการเจริญเติบโตช้าหรือไม่มีเลย และรากมักจะเน่า ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ziv[26] ที่พบว่ารากที่เกิดขึ้นนั้นไม่ได้เกิดจากต้นแขนงโดยตรง แต่เกิดจากส่วนของเนื้อเยื่อที่ให้กำเนิดต้นแขนง ทำให้ระบบท่อลำเลียงน้ำและอาหารไม่เชื่อมโยงกัน จึงทำให้อาหารที่ได้จากการสังเคราะห์แสงและสารบางอย่างที่จะส่งไปยังราก และการที่รากจะส่งน้ำและแร่ธาตุอาหารไปยังต้นไม่เกื้อกูลกันจึงทำให้ต้นมีโอกาสรอดตายน้อยมากและ Ziv et al.[27] ได้ศึกษาวิธีการย้ายต้นแขนงแกลดิโอลัสออกมาปลูกเลี้ยงภายนอก โดยการเตรียมต้นแขนงไปเลี้ยงในอาหารที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่งก่อนภายใต้สภาพที่มีความเข้มของแสงสูงชั่วระยะหนึ่ง เมื่อย้ายออกมาปลูกเลี้ยงภายนอกสามารถทำให้ต้นเจริญเติบโตต่อไปได้

การย้ายต้นแขนงไปปลูกเลี้ยงภายใต้กระบะพ่นหมอกชั่วระยะเวลาหนึ่ง ทำให้ต้นแขนงของแกลดิโอลัสมีการเจริญเติบโต สร้างรากใหม่ ก่อนย้ายไปปลูกเลี้ยงในเรือนเพาะชำมีแนวโน้มว่าจะให้ผลดี อย่างไรก็ตาม ก็ยังพบว่ามีต้นที่รอดตายน้อยมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไม่มีการนึ่งฆ่าเชื้อวัสดุปลูกก่อนและ Meyer[12] แนะนำว่าการย้ายต้นแขนงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและมีการชักนำให้เกิดรากแล้ว ควรมีการเตรียมต้นให้แข็งแรงภายในกระบะพ่นหมอกเป็นเวลา 10–14 วัน ก่อนที่จะย้ายไปปลูกในเรือนเพาะชำ

จากการทดลองย้ายต้นแขนงของแกลดิโอลัสออกมาปลูกเลี้ยงภายนอก ในการทดลองนี้นับว่าเป็นปัญหาสำคัญ เนื่องจากขาดอุปกรณ์ที่ช่วยในการย้ายปลูกที่ดี เช่น กระบะพ่นหมอก ดังนั้นจึงน่าจะมีการศึกษาวิธีการย้ายปลูกที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งจะทำให้ต้นแขนงเจริญเติบโตได้เร็ว สร้างหัวพันธุ์เพื่อผลิตดอกได้ภายในระยะเวลาอันสั้น

การสร้างหัวย่อย

หลังจากย้ายต้นแขนงไปเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดรากแล้ว ต้นแขนงจะสร้างหัวย่อยขึ้นภายใน $1\frac{1}{2}$ – 2 เดือน สามารถเก็บหัวย่อยได้ภายใน 4–5 เดือน การสร้างหัวย่อยจะช้าหรือเร็ว ตลอดจนขนาดของหัวย่อย ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์และขนาดของต้นแขนง การเปลี่ยนอาหาร ตลอดจนสภาพแวดล้อมที่ทำการเพาะเลี้ยง การเปลี่ยนอาหารให้กับต้นแขนงจะทำให้ขนาดของหัวย่อยใหญ่ขึ้น จำนวนต้นแขนงที่ย้ายลงมาในอาหารขวดเดียวกันก็ไม่ควรมากเกินไป จะทำให้ขนาดของหัวย่อยลดลง

การเพิ่มปริมาณของน้ำตาลให้สูงขึ้นจะทำให้ต้นแขนงสร้างรากได้ดีขึ้น ตลอดจนการเจริญเติบโตของรากเป็นไปอย่างรวดเร็ว แต่จะทำให้ต้นแขนงมีการเจริญเติบโตช้าลง ต้นแขนงที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลมากขึ้นจะสร้างหัวย่อยได้เร็วขึ้น ขนาดใหญ่ขึ้น สามารถเก็บหัวได้ภายใน 3 เดือนโดยไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนอาหารเลย แต่ขณะเดียวกันปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้จำนวนต้นแขนงลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Niimi และ Onozawa[15]

การทดลองครั้งนี้พบว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่อุณหภูมิและแสงไม่สามารถควบคุมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้เนื่องจากความเสียหายของอุปกรณ์เหล่านี้ อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อโดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 25–28°ซ. ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Tanaka และ Sakanishi[23] ที่ว่าอุณหภูมิสูงทำให้จำนวนตาที่จะเจริญเติบโตมีน้อยกว่าที่อุณหภูมิพอเหมาะ ส่วน

ปัจจัยที่เกี่ยวกับแสงนั้นพบว่าความสม่ำเสมอในการให้แสงกับเนื้อเยื่อพืชมีน้อยมาก บางตำแหน่งของห้องมีความเข้มของแสงมาก บางตำแหน่งมีความเข้มของแสงต่ำ ซึ่งทำให้ความสม่ำเสมอในการทดลองมีน้อยลงไป โดยเฉพาะขั้นตอนการชักนำต้นแขนงให้สร้างราก เพื่อการเตรียมต้นออกมาปลูกเลี้ยงภายนอก และการสร้างหัวย่อยของต้นแขนงภายใต้สภาพปลอดเชื้อนั้น จำเป็นต้องใช้ความเข้มของแสงสูง นอกจากนี้ระยะเวลาในการให้แสงกับเนื้อเยื่อในการทดลองครั้งนี้คือให้แสงตลอด 24 ชม. ขณะที่การทดลองเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยทั่วไปต้องการแสง 16 ชม. ซึ่งเหมาะสำหรับการพัฒนาและการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วไป

สรุป

จากการศึกษาการขยายพันธุ์ของแกลดิโอลัสโดยการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน พบว่าการวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนตั้งขึ้น จะทำให้เปอร์เซ็นต์ของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนมีการเจริญเติบโตสูงกว่าการวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนในลักษณะนอนหรือกลับทิศทางในแนวตั้ง และเนื้อเยื่อของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนส่วนปลายช่อสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าเนื้อเยื่อส่วนโคนช่อ

การเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน พบว่าเนื้อเยื่อสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่เติม BA 1.0–2.0 มก./ล. หรือใช้ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล. การเพิ่มปริมาณน้ำตาลในสูตรอาหารที่เหมาะสมเป็น 4.5% จะทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตได้เร็วขึ้น สร้างตายอดและต้นแขนงจำนวนมาก ความเข้มข้นของวุ้นในอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต สร้างตายอดและต้นแขนงได้ดีอยู่ในช่วง 0.4–0.8% เนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยตายอดและต้นแขนงขนาดเล็ก เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันที่ไม่เติม BA หรือเติม BA ความเข้มข้นต่ำ ตายอดและต้นแขนงจะเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมากเมื่อย้ายต้นแขนงเหล่านี้ไปเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. จะมีรากเกิดขึ้นจำนวนมาก สามารถย้ายไปปลูกได้ภายใน 6 สัปดาห์ หลังจากย้ายต้นแขนงมาเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดรากได้เป็นเวลา $1\frac{1}{2}$ – 2 เดือน ต้นแขนงจะสร้างหัวย่อยขึ้น สามารถเก็บหัวย่อยได้ภายในเวลา 4–5 เดือน การเปลี่ยนอาหารให้กับต้นแขนงจะทำให้ขนาดของหัวย่อยใหญ่ขึ้น การเพิ่มปริมาณน้ำตาลในอาหารจาก 3% เป็น 9% จะทำให้ต้นแขนงสร้างหัวย่อยที่มีขนาดใหญ่และแก่เร็วขึ้น สามารถเก็บหัวได้ภายใน 3 เดือน จากการขยายพันธุ์แกลดิโอลัสโดยวิธีนี้สามารถผลิตหัวย่อยได้ 50,000–80,000 หัว จากช่อดอกอ่อน 1 ช่อ ภายในเวลา 7–9 เดือน

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผศ.ปรานอม พฤฒพงษ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา รศ.แสงธรรม คมกฤส ศจ.อักษร ศรีเปล่ง กรรมการที่ปรึกษา และอาจารย์ยุพา มงคลสุข ที่ได้ให้คำแนะนำในการศึกษาวิจัย ตลอดจน ผศ.ดร.กฤษฎา สัมพันธารักษ์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย และ ผศ.ดร.ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา ที่ได้ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังได้รับความสนับสนุนจากศูนย์ปฏิบัติการและเครื่องมือเกษตรกลางบางเขน

เอกสารอ้างอิง

1. เกษมทรัพย์, สมเพียร. การปลูกไม้ดอก. ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟันนี่พับบลิชชิ่ง, กรุงเทพมหานคร, 2522.
2. Bajaj, Y.P.S., Sidhu, M.M.S. and Buiatti, M. Some factors effecting the *in vitro* propagation of gladiolus. *Sci. Hort.*, 1982/83, **18**, 269-275.
3. Cutter, E. Plant Anatomy: Experiment and Interpretation Part II. Edward Arnold (Publishers), Ltd., London, 1971.
4. Debergh, P.C. and Maene, L.J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Sci. Hort.*, 1981, **14**, 335-345.
5. Dutcher, R.D. and Powell, L.E. Culture of apple shoots from buds *in vitro*. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 1972, **97**, 511-514.
6. Hartmann, H.T. and Kester, D.E. Plant Propagation Principles and Practices. Prentice-Hall, Inc., New Jersey, 1964.
7. Hosoki, T. and Asahira, T. *In vitro* propagation of narcissus. *Hort. Sci.*, 1980, **15** (5), 602-603.
8. Hussey, G. Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. *J. Ex. Bot.*, 1975, **29** (91), 253-262.
9. Hussey, G. *In vitro* release of axillary shoots from apical dominance in monocotyledonous plantlets. *Ann. Bot.*, 1976, **40**, 1323-1325.
10. Hussey, G. *In vitro* propagation of gladiolus by precocious axillary shoot formation. *Sci. Hort.*, 1977, **6**, 287-296.
11. Kusey, W.E., Hammer, P.A. and Weiler, T.C. *In vitro* propagation of *Gypsophilla paniculata* L. "Bristol Fairy". *Hort. Sci.*, 1980, **15** (5), 600-601.
12. Meyer, M.M., Fuchiyami, L.H. and Roberts, A.N. Propagation of Tall Bearded Irises by tissue cultures. *Hort. Sci.*, 1975, **10** (5), 479-480.
13. Misawa, M., Sakalo, K., Tanaka, H., Hayashi, M. and Samejima, H. Production of physiologically active substanced by plant cell suspension cultures. In Street, H.E. (ed). Tissue Cultures and Plant Science. Academic Press, Inc., New York, 1974.
14. Murashige, T. and Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 1962, **15**, 473-497.
15. Niimi, Y. and Onozawa, T. *In vitro* bulblet formation from leaf, segments of lilies especially *Lilium rubellum* Baker. *Sci. Hort.*, 1979, **11**, 379-389
16. Papachatzi, M., Hammer, P.A. and Hasegawa, P.M. *In vitro* propagation of *Hosta plantaginea*. *Hort. Sci.*, 1980, **15** (4), 506-507.
17. Romberger, J.A. and Tabor, C.A. The *Picea abies* shoot apical meristem in culture I. Agar and autoclaving effects. *Am. J. Bot.*, 1971, **58**, 131-140.
18. Singha, S. Influence of agar concentration on *in vitro* shoot preliferation of *Malus* sp. "Almey" and *Pyrus communis* "Seekel." *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 1982, **107** (4), 657-660.
19. Snir, L. and Erez, A. *In vitro* propagation of Malling Merton apple rootstocks. *Hort. Sci.*, 1980, **15**, 597-598.
20. Takayama, S. and Misawa, M. Differentiation in lilium bulbscales grown *in vitro*: Effect of various cultural conditions. *Physiol. Plant*, 1979, **46**, 184-190.
21. Takayama, S. and Misawa, M. Differentiation in lilium bulbscales grown *in vitro*: Effect of activated charcoal, physiological age of bulbs and sucrose concentration on differentiation and scale leaf formation *in vitro*. *Physiol. Plant*, 1980, **48**, 121-125.
22. Takayama, S. and Misawa, M. A scheme for mass propagation of lilium *in vitro*. *Sci. Hort.*, 1982/83, **18**, 353-362.
23. Tanaka, M. and Sakanishi, Y. Factors affecting the growth of *in vitro* cultured lateral buds from phalaenopsis flower stalks. *Sci. Hort.*, 1978, **8**, 169-178.
24. Wang, T.Y. and Huang, M.C. Studies on the tissue culture in *Gladiolus hybridus* Hort. I. Shoot tip culture of vegetative lateral buds on flower stem. *J. Chinese Soc. Hort. Sci.*, 1978, **24** (4), 137-144.

25. Wilfret, G.J. Introduction to Floriculture. Academic Press Inc., New York, 1980.
26. Ziv, M. Transplanting of gladiolus plants propagated *in vitro*. 1979, **11**, 357-360.
27. Ziv, M., Halevy, A.H. and Shilo, R. Organ and plantlets regeneration of gladiolus through tissue culture. *Ann. Bot.*, 1970, **34**, 671-676.

ตารางที่ 1. เปอร์เซ็นต์ของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนที่มีการเจริญเติบโตและสร้างต้นแขนงเมื่อวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนบนอาหารในลักษณะตั้งขึ้นตามทิศทางช่อดอก แนวนอน และกลับทิศทางในแนวตั้งของแกลดิโอลัส 11 พันธุ์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 4 สัปดาห์

พันธุ์	ความยาวช่อดอก (ซม.)	โคนช่อ			ปลายช่อ		
		ตั้งขึ้น (%)	แนวนอน (%)	กลับทิศทาง (%)	ตั้งขึ้น (%)	แนวนอน (%)	กลับทิศทาง (%)
Wine & Rose	21.13	80.65	74.29	20.59	89.74	86.84	38.89
Corel	19.33	78.78	78.13	16.13	89.19	89.47	34.21
Deimos	23.00	57.14	64.29	27.27	78.95	77.50	23.53
Virgo	21.33	71.86	70.97	38.71	83.78	73.68	41.03
Adagio	20.29	65.52	52.00	28.57	67.80	76.32	18.42
Formality	20.16	80.00	69.44	34.48	91.89	81.58	42.86
Angel Eye	20.66	44.44	56.76	8.82	83.78	68.42	36.11
Golden Shown	24.00	39.47	40.54	10.53	60.53	48.65	18.42
Departing Sun	25.24	51.43	51.61	11.43	60.98	58.76	23.08
Sabre	24.33	73.53	71.43	6.90	74.36	60.53	17.95
Cardinal	20.00	78.57	82.14	22.58	89.74	80.00	37.50

ตารางที่ 2. น้ำหนักสดและลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์ Formality ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย* (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ต้นแขนง	ราก
0	0	4.27 jklmn	+	+	+
1.0	0	8.94 bcd	++	++	−
1.5	0	11.24 ab	++	++	−
2.0	0	12.16 a	++	++	−
2.5	0	8.32 cdef	+	+	−
3.0	0	6.06 fghij	+	+	−
0	0.1	4.77 ijklmn	−	+	+++
0	0.5	2.74 mno	−	−	+
0	1.0	1.58 o	−	−	−
0	2.0	1.35 o	−	−	−
1.0	0.1	8.18 cdef	++	++	−
1.5	0.1	9.46 bc	+++	++	−
2.0	0.1	8.53 cde	+++	+++	−
2.5	0.1	7.14 cdefghi	++	+	−
3.0	0.1	5.31 hijkl	++	+	−
1.0	0.5	6.76 defghi	++	+	−
1.5	0.5	8.87 cde	++	+	−
2.0	0.5	7.75 cdefg	++	+	−
2.5	0.5	5.74 ghijk	+	+	−
3.0	0.5	6.50 efghij	+	−	−

*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 2. (ต่อ)

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย* (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ต้นแขนง	ราก
1.0	1.0	5.50 ghijk	+	+	+
1.5	1.0	7.66 cdefgh	+	+	–
2.0	1.0	4.21 jklmn	+	–	–
2.5	1.0	3.48 klmno	+	–	–
3.0	1.0	3.04 lmno	+	–	–
1.0	2.0	4.89 ijklm	+	–	–
1.5	2.0	3.02 lmno	+	–	–
2.0	2.0	1.91 no	+	–	–
2.5	2.0	2.58 mno	–	–	–
3.0	2.0	2.63 mno	–	–	–

* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

– ไม่เกิดขึ้น

\+ เกิดขึ้นเล็กน้อย

++ เกิดขึ้นปานกลาง

+++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 3. น้ำหนักสดและลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์ Wine & Rose ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย * (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ต้นแขนง	ราก
0	0	3.48 ijklmn	+	++	+
1.0	0	8.98 ab	++	++	–
1.5	0	9.33 a	+++	+++	–
2.0	0	8.50 abc	++	+	–
2.5	0	8.35 abcd	++	+	–
3.0	0	5.88 efgh	+	–	–
0	0.1	4.56 fghij	–	+	+++
0	0.5	2.05 lmn	–	–	–
0	1.0	1.65 n	–	–	–
0	2.0	1.53 n	–	+	–
1.0	0.1	6.82 bcdefg	++	++	–
1.5	0.1	5.79 efghi	++	+	–
2.0	0.1	5.91 efgh	++	+++	–
2.5	0.1	6.45 cdefgh	++	+	–
3.0	0.1	6.04 defgh	++	+	–
1.0	0.5	6.87 bcdef	++	+	–
1.5	0.5	7.22 abcde	++	+	–
2.0	0.5	7.18 abcde	++	+	–
2.5	0.5	5.89 efgh	++	+	–
3.0	0.5	6.83 bcdef	+	–	–

* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 3. (ต่อ)

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย * (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ต้นแขนง	ราก
1.0	1.0	5.39 efghi	++	+	–
1.5	1.0	6.95 bcdef	++	+	–
2.0	1.0	4.36 ghijkl	+	+	–
2.5	1.0	4.13 hijklm	+	–	–
3.0	1.0	4.81 efghij	+	–	–
1.0	2.0	4.56 fghijk	+	+	–
1.5	2.0	1.89 mn	+	–	–
2.0	2.0	3.19 ijklmn	+	–	–
2.5	2.0	2.26 klmn	+	–	–
3.0	2.0	3.00 jklmn	+	–	–

* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

– ไม่เกิดขึ้น

\+ เกิดขึ้นเล็กน้อย

++ เกิดขึ้นปานกลาง

+++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 4. น้ำหนักสดและลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์ Dottee Dee ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย* (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ต้นแขนง	ราก
0	0	2.42 f	+	+	–
1.0	0	8.67 a	+++	+++	–
1.5	0	5.23 bcde	+	+	–
2.0	0	5.48 bcde	++	+	–
0	0.1	3.42 def	+	+	–
0	0.5	2.20 f	+	+	–
0	1.0	1.80 f	+	–	–
1.0	0.1	7.25 ab	+++	+++	–
1.5	0.1	6.08 abcd	+	+	–
2.0	0.1	7.29 ab	++	+	–
1.0	0.5	4.29 cdef	+	+	–
1.5	0.5	5.51 bcde	+	–	–
2.0	0.5	6.40 abc	+	–	–
1.0	1.0	2.77 ef	+	–	–
1.5	1.0	4.20 cdef	+	+	–
2.0	1.0	3.83 cdef	++	–	–

*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

– ไม่เกิดขึ้น

\+ เกิดขึ้นเล็กน้อย

++ เกิดขึ้นปานกลาง

+++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 5. น้ำหนักสดและลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์ Violetta x True Love ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย * (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ต้นแขนง	ราก
0	0	2.88 fg	–	+	–
1.0	0	12.47 a	+++	+++	–
1.5	0	6.02 de	++	+	–
2.0	0	9.38 bc	++	+	–
0	0.1	3.90 efg	–	+	+++
0	0.5	4.12 efg	–	+	++
0	1.0	2.60 g	–	+	–
1.0	0.1	11.93 ab	+++	+++	–
1.5	0.1	6.58 de	++	++	–
2.0	0.1	9.75 b	++	++	–
1.0	0.5	6.23 de	+	+	–
1.5	0.5	9.48 bc	+	+	–
2.0	0.5	6.98 c	+	+	–
1.0	1.0	5.45 def	+	+	–
1.5	1.0	7.08 cd	++	–	–
2.0	1.0	5.48 def	+	–	–

*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

– ไม่เกิดขึ้น

\+ เกิดขึ้นเล็กน้อย

++ เกิดขึ้นปานกลาง

+++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 6. น้ำหนักสดและลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัส พันธุ์ Violetta x Mardigras ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย * (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ต้นแขนง	ราก
0	0	3.36 bc	+	+	–
1.0	0	4.39 abc	+	–	–
1.5	0	3.72 abc	+	–	–
2.0	0	3.20 bc	+	–	–
0	0.1	2.47 bc	–	–	+
0	0.5	3.10 bc	–	–	–
0	1.0	1.95 c	–	–	–
1.0	0.1	4.54 ab	+	+	–
1.5	0.1	5.79 a	+++	+	–
2.0	0.1	2.79 bc	+	+	–
1.0	0.5	2.94 bc	+	–	–
1.5	0.5	3.18 bc	+++	+	–
2.0	0.5	2.25 bc	+	–	–
1.0	1.0	2.16 bc	+	–	–
1.5	1.0	4.19 abc	+	–	–
2.0	1.0	2.69 bc	+	–	–

*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

– ไม่เกิดขึ้น

\+ เกิดขึ้นเล็กน้อย

++ เกิดขึ้นปานกลาง

+++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 7. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนน หิริ - โอตตัปปะ แบบ 2 ของครู จำแนกกลุ่มอายุ พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอนและประเภทโรงเรียน

กลุ่มอายุ	19–30 ปี			31–60 ปี		
แหล่งความแปรปรวน	df	MS	F	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	139.86	1.60	2	274.79	2.99
วิชาที่สอน (ข)	1	38.30	< 1	1	.05	<1
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	0.00	< 1	1	158.38	1.72
ก + ข	2	58.23	< 1	2	136.25	1.58
ก + ค	2	22.48	< 1	2	15.48	<1
ข + ค	1	201.18	2.31	1	136.32	1.48
ก + ข + ค	2	246.68	2.83*	2	274.35	2.99**
ภายในกลุ่ม	278	87.17		291	91.82	

*มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

**มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ 8. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนน หิริ - โอตตัปปะ แบบ 2 ของครู พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอน (สอนทุกวิชากับสอนสังคมศึกษา) และประเภทโรงเรียน

แหล่งความแปรปรวน	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	473.43	5.01**
วิชาที่สอน (ข)	1	474.17	5.02*
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	51.85	< 1
ก + ข	2	109.75	1.16
ก + ค	2	296.78	3.14*
ข + ค	1	4.38	<1
ก + ข + ค	2	99.44	1.05
ภายในกลุ่ม	331	94.42	

* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

** มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ 8. น้ำหนักสดและจำนวนต้นแขนงของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นแตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์

พันธุ์	ความเข้มข้นของวุ้น (%)	ตายอด	ต้นแขนงที่มีขนาด <1.0 ซม.	จำนวนต้นแขนงที่มีขนาด >1.0 ซม.*	น้ำหนักสด* (ก.)
Dottee Dee	0	+	+	7.0 bc	5.87 b
	0.2	++	+	28.6 a	5.04 bc
	0.4	+++	++	30.0 a	6.39 b
	0.6	+++	++	10.8 bc	8.58 a
	0.8	++	+	3.2 c	6.37 b
	1.0	++	+	2.2 c	3.78 c
	1.2	++	++	15.6 b	3.73 c
Violetta x	0	++	+	19.0 ab	6.28 b
True Love	0.2	+++	++	15.8 ab	6.21 b
	0.4	+++	+++	27.2 a	6.21 b
	0.6	+++	++	14.0 b	6.39 ab
	0.8	+++	+++	17.0 ab	7.68 a
	1.0	++	+	6.4 b	3.76 c
	1.2	+	+	5.6 b	2.09 d
Violetta x	0	+	+	30.6 a	6.64 ab
Mardigras	0.2	++	+	22.2 abc	7.15 a
	0.4	+	+	14.0 bcd	4.89 bc
	0.6	++	++	25.2 ab	7.39 a
	0.8	++	+	15.6 bcd	4.84 bc
	1.0	+	+	7.4 d	3.32 c
	1.2	+	+	11.8 cd	3.86 c

* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

\+ เกิดขึ้นเล็กน้อย

++ เกิดขึ้นปานกลาง

+++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 9. จำนวนต้นแขนงขนาดต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นจากเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA ระดับต่ำหรือไม่เติม เป็นเวลา 3 สัปดาห์

พันธุ์	BA มก./ล.	ต้นแขนงที่มีขนาด (ซม.)	จำนวนต้นแขนง
Dottee Dee	0	<5	34.0
		5–8	19.6
		>8	1.8
	0.05	<5	48.4
		5–8	10.8
		>8	–
	0.10	<5	71.0
		5–8	7.8
		>8	–
Violetta x True Love	0	<5	21.8
		5–8	16.4
		>8	3.2
	0.05	<5	20.6
		5–8	3.2
		>8	–
	0.10	<5	37.8
		5–8	24.4
		>8	0.8
Violetta x Mardigras	0	<5	19.8
		5–8	14.8
		>8	4.0
	0.05	<5	23.2
		2–8	24.0
		>8	4.2

ตารางที่ 9. (ต่อ)

พันธุ์	BA มก./ล.	ต้นแขนงที่มีขนาด (ซม.)	จำนวนต้นแขนง
Violetta x Mardigras	0.10	<5	46.0
		5–8	8.8
		>	–

หมายเหตุ ข้อมูลได้จากค่าเฉลี่ย 5 ตัวอย่าง

ตารางที่ 10. เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวใบของต้นแขนงของแกลดิโอลัสพันธุ์ Dottee Dee ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	culture ที่ออกราก (%)	จำนวนราก	ความยาวใบ* (ซม.)
1. MS basal	64.29	+	18.91 a
2. MS + NAA 0.1 มก./ล.	92.86	+++	19.36 a
3. MS + NAA 0.5 มก./ล.	50.00	+++	17.52 a
4. MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	42.86	+	14.68 bcd
5. MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	42.86	+	12.28 d
6. $\frac{1}{2}$MS basal	57.14	+	14.70 bcd
7. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.1 มก./ล.	78.57	++	16.89 ab
8. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.5 มก./ล.	50.00	+	14.96 bc
9. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	7.14	+	12.51 cd
10. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	85.71	+	13.25 cd

*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 11. เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวใบของต้นแขนงของแกลดิโอลัสพันธุ์ Violetta x True Love ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	culture ที่ออกราก (%)	จำนวนราก	ความยาวใบ* (ซม.)
1. MS basal	85.71	+	18.20 ab
2. MS + NAA 0.1 มก./ล.	92.88	+++	20.82 a
3. MS + NAA 0.5 มก./ล.	78.57	+++	17.08 abc
4. MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	64.29	+	16.06 bcd
5. MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	35.71	+	13.62 cd
6. $\frac{1}{2}$MS basal	78.57	+	17.88 ab
7. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.1 มก./ล.	64.29	+++	19.23 ab
8. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.5 มก./ล.	35.71	++	13.19 cd
9. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	64.29	+	13.22 cd
10. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	64.29	+	12.46 d

* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 12. เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวใบของต้นแขนงของแกลดิโอลัสพันธุ์ Violetta x Mardigras ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	culture ที่ออกราก (%)	จำนวนราก	ความยาวใบ* (ซม.)
1. MS basal	78.57	+	18.03 ab
2. MS + NAA 0.1 มก./ล.	85.71	+++	19.59 a
3. MS + NAA 0.5 มก./ล.	57.14	+++	17.16 abc
4. MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	71.43	+	14.93 cd
5. MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	78.57	+	11.98 ef
6. $\frac{1}{2}$MS basal	71.43	+	17.42 abc
7. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.1 มก./ล.	92.86	+++	16.13 bcd
8. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.5 มก./ล.	64.29	++	13.71 de
9. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	57.14	+	10.86 f
10. $\frac{1}{2}$MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	71.43	+	10.49 f

* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 13. เปรียบเทียบจำนวนใบ ความยาวใบ ขนาดและน้ำหนักสดของหัวย่อยของต้นแขนงที่มีการเปลี่ยนอาหารและไม่เปลี่ยนอาหาร เมื่อเลี้ยงต้นแขนงเป็นเวลา 5 เดือน

พันธุ์	วิธีการ	จำนวนใบ	ความยาวใบ (ซม.)	ขนาดหัวย่อย (มม.)	น้ำหนักสดของหัวย่อย (มก.)
Formality	ไม่เปลี่ยนอาหาร	3.8	9.36	4.50	120.26
	เปลี่ยนอาหาร	4.0	21.34	9.93	550.74
Wine & Rose	ไม่เปลี่ยนอาหาร	2.8	8.46	3.59	57.50
	เปลี่ยนอาหาร	4.2	18.74	8.50	462.68
Cardinal	ไม่เปลี่ยนอาหาร	3.8	8.14	4.37	97.10
	เปลี่ยนอาหาร	3.4	17.10	7.73	319.22
Corel	ไม่เปลี่ยนอาหาร	3.0	8.02	4.13	72.00
	เปลี่ยนอาหาร	3.4	21.94	7.65	340.20
Virgo	ไม่เปลี่ยนอาหาร	2.4	7.60	2.89	35.25
	เปลี่ยนอาหาร	3.2	19.50	8.46	363.00

หมายเหตุ ข้อมูลได้จากค่าเฉลี่ย 10–15 ตัวอย่าง

ตารางที่ 14. จำนวนหัวย่อย/ชิ้นส่วนและขนาดของหัวย่อยของแกลดิโอลัสพันธุ์ต่าง ๆ เมื่อเลี้ยงในอาหาร MS เป็นเวลา 5 เดือน

ตัวอย่างที่	Formality		Wine & Rose		Cardinal		Corel		Virgo	
	จำนวนหัวย่อย/ชิ้นส่วน	ขนาด ø (มม.)	จำนวนหัวย่อย/ชิ้นส่วน	ขนาด ø (มม.)	จำนวนหัวย่อย/ชิ้นส่วน	ขนาด ø (มม.)	จำนวนหัวย่อย/ชิ้นส่วน	ขนาด ø (มม.)	จำนวนหัวย่อย/ชิ้นส่วน	ขนาด ø (มม.)
1	3	9.93	2	8.50	4	7.73	2	11.65	5	8.53
2	4	7.63	6	8.52	5	7.72	3	9.87	5	6.74
3	4	6.30	7	7.10	8	5.79	3	6.43	8	5.98
4	8	6.38	9	5.45	11	5.14	5	8.53	10	5.14
5	8	5.63	13	5.63	14	4.65	9	8.00	15	3.92
6	18	4.43	15	5.67	17	4.81	14	4.14	18	4.13
7	21	3.94	21	4.68	30	4.11	19	4.63	25	3.87
8	22	4.44	35	3.95	39	3.95	28	3.98	38	3.02
9	29	4.58	37	3.63	40	3.92	45	3.08	41	3.13
10	40	3.84	44	2.86	44	3.97	52	2.83	43	2.78

ตารางที่ 15. การเกิด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและน้ำหนักสดของหัวย่อยที่เกิดจากต้นแขนงของแกลดิโอลัส พันธุ์ต่าง ๆ ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกันเป็นเวลา 3 เดือน

Sucrose (%)	NAA มก./ล.	Dottee Dee			Violetta x True Love			Violetta x Mardigras		
		cormel	ขนาด ø (มม.)	น้ำหนักสด (มก.)	cormel	ขนาด ø (มม.)	น้ำหนักสด (มก.)	cormel	ขนาด ø (มม.)	น้ำหนักสด (มก.)
0	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3	0	+	4.65	100.27	+	4.57	112.08	+	3.90	57.67
6	0	+	5.18	171.63	+	6.02	180.90	+	5.00	140.06
9	0	+	6.48	202.70	+	7.98	359.60	+	5.70	214.10
3	0.1	+	3.23	44.95	+	5.47	134.40	+	3.95	84.40
6	0.1	+	6.12	239.54	+	6.08	207.70	+	5.78	178.25
9	0.1	+	7.48	335.05	+	9.70	624.80	+	7.95	306.50

หมายเหตุ + เกิดหัวย่อย

– ไม่เกิดหัวย่อย

ข้อมูลได้จากค่าเฉลี่ย 10–15 ตัวอย่าง