สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานโครงการวิจัย

เรื่อง

การชักนำให้เกิดแคลลัสและโซมาติคเอมบริโอเจนิซีสของบัวหลวง

Induction of Callus and Somatic Embryogenesis of Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.)

RCH
SB
413
.L82
ส843ส
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 54551
วัน,เดือน,ปี 21 ม.ค. 2548

สุเม อรัญนารถ
ภาควิชาพืชสวน
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

รายงานผลการวิจัยเสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
โครงการสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ปี 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

b11754016
.....
i.....

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	II
สารบัญรูป	IV
คำนิยม	1
บทคัดย่อ	2
คำนำ	4
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	5
ผลการทดลอง	11
วิจารณ์ผลการทดลอง	44
สรุปผลการทดลอง	46
เอกสารอ้างอิง	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 1	คะแนนการเจริญเติบโต น้ำหนักสดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนเหนือใบเลี้ยง ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin อายุ 12 สัปดาห์.....	13
ตารางที่ 2	คะแนนการเจริญเติบโตน้ำหนักสดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงตาไหล ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin อายุ 12 สัปดาห์.....	16
ตารางที่ 3	คะแนนการเจริญเติบโต น้ำหนักสดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยง ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin อายุ 12 สัปดาห์.....	19
ตารางที่ 4	คะแนนการเจริญเติบโตน้ำหนักสดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อน ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin อายุ 12 สัปดาห์.....	22
ตารางที่ 5	คะแนนการเติบโต นน.สดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนเหนือใบเลี้ยง ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 -D ร่วมกับ BA อายุ 12 สัปดาห์.....	25
ตารางที่ 6	คะแนนการเติบโต นน.สดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนตาไหล ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 -D ร่วมกับ BA อายุ 12 สัปดาห์.....	27
ตารางที่ 7	คะแนนการเติบโต นน.สดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนใบเลี้ยง ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 -D ร่วมกับ BA อายุ 12 สัปดาห์.....	29
ตารางที่ 8	คะแนนการเติบโต นน.สดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนใบอ่อน ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 -D ร่วมกับ BA อายุ 12 สัปดาห์.....	31
ตารางที่ 9	คะแนนการเจริญเติบโต และ น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยง แคลลัสที่เคยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 คะแนนการเจริญเติบโต และ น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เคยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ..... 36

ตารางที่ 11 คะแนนการเจริญเติบโต และ น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอ จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เคยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ..... 39

ตารางที่ 12 คะแนนการเจริญเติบโต และ น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอ จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เคยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ..... 41

ตารางที่ 13 แสดงการเกิดแคลลัสของส่วนเหนือใบเลี้ยง ตาไหล ใบเลี้ยง และใบอ่อนของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกช..... 47

ตารางที่ 14 แสดงการเกิดโซมาติคเอมบริโอจากแคลลัสตาไหลบัวหลวงพันธุ์สัตบงกช จากการ เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารต่างๆ 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

รูปที่ 1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ..... 8

รูปที่ 2 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ..... 10

รูปที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนเหนือใบเลี้ยงของบัวหลวง พันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin..... 11

รูปที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนตาไหลของบัวหลวง พันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin..... 14

รูปที่ 5 แสดงการเกิดแคลลัสของตาไหลบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ อายุ 4 สัปดาห์ (8X)... 15

รูปที่ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนใบเลี้ยงของบัวหลวง พันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin..... 17

รูปที่ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของบัวหลวง พันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin..... 20

รูปที่ 8 แสดงการเกิดแคลลัสของใบอ่อนบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น0 ไมโครโมลาร์ อายุ 4 สัปดาห์ (8X).. 21

รูปที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนเหนือใบเลี้ยงของบัวหลวง พันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA..... 23

รูปที่ 10 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนตาไหลของบัวหลวง พันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA..... 26

รูปที่ 11 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนใบเลี้ยงของบัวหลวง พันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA..... 28

รูปที่ 12 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนใบอ่อนของบัวหลวง พันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA..... 30

รูปที่ 13 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ..33

รูปที่ 14 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ..35

รูปที่ 15 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

experiment showed that epicotyls cultured on 4 μM 2,4-D and 2 μM kinetin exhibited most abundant white and brown friable calli and gave the best score of growth at 5.43. The cotyledons showed most fresh weight which was 0.29 g on 0 μM 2,4-D and 2 μM BA after 8 weeks of incubation. The experiment was also conducted on the effects of a combination of 0, 4, 6, 8 and 10 μM 2,4-D and 0, 0.5 and 1 μM benzyladenine (BA). It was found that 10 μM 2,4-D and 0.5 μM BA gave the highest score of callus growth at 5.60 and the most abundant calli. The growth of callus was fast and the characters of callus were white and friable with the size of 0.5x0.5 cm. In contrast, callus cultured on 4 μM 2,4-D and 1 μM BA developed to embryogenic callus at 12 weeks of incubation. The young leaves cultured on 0 μM 2,4-D and 0.5 μM BA gave the most fresh weight (0.46 g) and the callus was initiated at the cut surface and the base of petioles.

The somatic embryogenesis of lotus were studied. The calli cultured on MS medium containing a combination of 4, 6, 8 and 10 μM 2,4-D and 1 μM BA were transfered to a medium supplemented with 0, 2, 3, 4 and 5 μM 2,4-D and 0 and 0.5 μM BA. At week 12, callus induced from MS medium gave the maximum percentage of embryogenic callus (33.33%) when cultured on MS with 2 μM 2,4-D and 0.5 μM BA. In contrast, when cultures were 8 weeks old, callus formed on MS medium with 2 μM 2,4-D and 1 μM BA and gave the best score of somatic embryo when cultured on MS medium with 4 μM 2,4-D and 0.5 μM BA. Callus developed to proembryo, globular shape, torpedo shape and mature embryo at 16 weeks of incubation. Furthermore, the maximum fresh weight of somatic embryos were also obtained from callus cultured on MS medium with only 2 μM 2,4-D at 12 weeks of incubation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

บัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Geartn.) เป็นพืชที่รู้จักกันเป็นอย่างดีในประเทศไทย พบได้ทั่วไปทั้งในเขตร้อย เขตอบอุ่น และเขตหนาว ในประเทศไทยมีหลายชนิดใช้เป็นไม้ดอกดอกไม้ประดับ นำไปถวายหรือบูชาพระหรือรับประทานส่วนต่างๆ เป็นอาหารและยา (อุทัย, 2526; Burkill, 1966 ; Suvatabundhu, 1958) บางครั้งยังส่งบางส่วนของบัวหลวงเป็นสินค้าออกของประเทศอีกด้วย เช่น ดอกบัวหลวง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2534) ในอนาคตตลาดมีความต้องการบัวหลวงเพิ่มมากขึ้น การเพิ่มผลผลิตของดอกบัวหลวงให้สูงขึ้นจึงเป็นสิ่งที่ควรกระทำเพราะจะช่วยให้มีการส่งออกบัวหลวงได้มากขึ้น แต่ในการเพิ่มผลผลิตและการตลาดของดอกบัวหลวงพบว่ามีปัญหาหลายด้านเช่น ปัญหาเรื่องศัตรูพืช อายการใช้ประโยชน์สั้นเกินไป ดอกเสียคุณภาพเร็วมาก รูปทรงและสีของดอกมีให้เลือกจำกัด เป็นต้น ดังนั้นการส่งเสริมให้มีการปลูกบัวหลวงเป็นการค้ามีจำนวนมากขึ้น จึงจำเป็นต้องมีพันธุ์บัวหลวงที่ดีและมีคุณภาพสูง ต้านทานต่อโรคและแมลง มีคุณภาพของดอกดีและมีรูปแบบของดอกให้เลือกมากขึ้นให้เกษตรกรปลูก

ปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้นำไปใช้ประโยชน์ในการขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์พืช โดยเฉพาะการสร้าง somatic embryo เป็นเทคนิคหนึ่งที่สามารถเพิ่มปริมาณพืชอย่างรวดเร็ว และยังสามารถนำไปใช้ร่วมกับการปรับปรุงพันธุ์พืช เช่น เทคนิคการเพาะเลี้ยงผ่าน Somatic embryo มาประยุกต์ใช้ร่วมกับเทคนิคการถ่ายยีน โดยการนำยีนเข้าไปยัง embryogenic callus ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดต้นได้ง่ายขึ้น

การตรวจเอกสาร

รายงานการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงได้เริ่มตั้งแต่ปี 1996 Liangjum และ คณะ ทำการเพาะเลี้ยงตายอดของบัวและสามารถชักนำให้เกิดต้นได้เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และชักนำให้เกิดรากบนอาหารที่ BA 0.1มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก บนอาหาร 1/2 MS ที่เติม IAA 3ไมโครโมลาร์ และ 2 iP 10 ไมโครโมลาร์ ให้ผลดีที่สุด (สุเม, 2540) ส่วนบัวหลวงพันธุ์สัตตบุษย์ เกิดยอดจำนวนมากเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA 3ไมโครโมลาร์ IAA และ 2 iP 15 ไมโครโมลาร์ (Arunyanart, 1998) ส่วนรายงานการวิจัยทางด้านการชักนำให้เกิด somatic embryogenesis ในบัวหลวงยังไม่มีรายงาน มีแต่เพียงรายงานในพืชชนิดอื่นดังรายงานของ Fukui and Imaida (1996) พบว่าสามารถชักนำให้ส่วนยอดของกุหลาบเกิด embryogenic callus ได้โดยเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม 10 ไมโครโมลาร์BA (Benzyladenine) และ 1โมลาร์ GA_3 และชักนำให้เกิด embryos ได้โดยเลี้ยงแคลลัสในอาหารเหลวที่มี BA 0.01ไมโครโมลาร์ และ GA_3 10 ไมโครโมลาร์Beruto and Debergh(1992) รายงานว่าสามารถชักนำให้ Ranunculus asiaticus เกิด callus เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี 2, 4-D 1.4 ไมโครโมลาร์ จะเกิด somatic embryogenesis และเกิด somatic embrgo เมื่อย้ายลงอาหาร 1/2 MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ และตามด้วยอาหาร 1/2 SH (Schenk and Hildebrandt) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และสามารถชักนำให้เกิดยอด เมื่อย้ายลงอาหาร MS ที่มี kinetin 4.6 ไมโครโมลาร์ และ NAA 1.6ไมโครโมลาร์ Takamura, T. และ คณะ (1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดลองใช้ส่วน ใบเลี้ยง, ก้านใบ, หัว, และราก ของต้นกล้า cyclamen เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี 2, 4-D และ kinetin พบว่า 2,4-D 5 ไมโครโมลาร์ และ kinetin 0.5 ไมโครโมลาร์ทำให้ชิ้นส่วนเกิด embryogenesis

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1 เมล็ดและตาไหลบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

2 สารเคมี

2.1 สารเคมีอาหารสูตร MS (ภาคผนวก ก)

2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D, kinetin และ BA

2.3 สารเคมีฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ ethanol, clorox, mercuric chloride, calcium hypochlorite และ tween 20

2.4 สารเคมีที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร (permanent slide)

3 อุปกรณ์เตรียมอาหาร

3.3 เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ ปิเปต กระบอกตวง แท่งแก้วคนสาร กรวย ช้อนตักสาร

3.4 ภาชนะบรรจุ ได้แก่ ขวดปากกว้างขนาด 4 ออนซ์ และจานแก้ว

3.5 เครื่องชั่งไฟฟ้า

3.6 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

3.7 หม้อนึ่งความดัน

3.8 เตาแก๊ส

4 อุปกรณ์ย้ายชิ้นส่วนพืช ได้แก่ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar flow) มีดผ่าตัด ตะเกียงแอลกอฮอล์ จานแก้ว คีมคีบ ชั้นวางอุปกรณ์ และขวดใส่แอลกอฮอล์ ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ

5 ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ 25±3°C ให้แสงจากหลอด Cool White วันละ 14 ชั่วโมง

6 กล้องสเตอร์ริโอไมโครสโคป (stereo microscope) พร้อมติดตั้งกล้องถ่ายรูป และฟิล์ม

7 กล้องไบนอคคูลาร์ไมโครสโคป (binocular microscope) พร้อมติดตั้งกล้องถ่ายรูป และฟิล์ม

8 อุปกรณ์ศึกษาลักษณะภายในของเอมบริโอและโซมาติคเอมบริโอของบัวหลวง (ภาคผนวก ข)

วิธีการทดลอง

1. การเตรียม อาหาร

1.1. เตรียม Stock solution

(1) Macroelements ความเข้มข้น 10 เท่า

(2) Microelements ความเข้มข้น 100 เท่า

1.2. เตรียมอาหารสูตร MS จำนวน 1 ลิตร

1.3. เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

1.4. เติมน้ำตาล 30 กรัม

1.5. ปรับปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

1.6. ปรับ pH 5.5-5.7 ด้วย NaOH หรือ HCl 1 นอร์มอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.7. เติมวุ้นไฟตาร์เจล (phytagel) 2 กรัม

1.8. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาทีและทิ้งไว้ให้เย็น

2. การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ด

2.1. การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดบัวหลวงสัตตบงกช

(1) นำเมล็ดบัวหลวงมาผ่านน้ำกำลังไหลนาน 1 ชั่วโมง

(2) ฟอกฆ่าเชื้อผิว ดังนี้

- ethyl alcohol 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที
- clorox 20 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween 20 2 หยด นาน 20 นาที

(3) ล้างน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

3. การฟอกฆ่าเชื้อตาไหล

(1) นำตาไหลผ่านน้ำกำลังไหลนาน 1 ชั่วโมง

(2) ทำการฟอกเชื้อผิวดังนี้

- ethyl alcohol 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที
- mercuric chloride 0.1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween20 2 หยด นาน 10 นาที
- calcium hypochlorite 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween20 2 หยด นาน 30 นาที
- calcium hypochlorite 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween20 2 หยด นาน 10 นาที

(3) ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

การทดลองที่ 1 ศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นและระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช โดยนำเมล็ดและตาไหลมาฟอกฆ่าเชื้อและตัดแยกส่วนเหนือใบเลี้ยง ตา ใบเลี้ยง และใบอ่อนมาชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5 ระดับคือ 0 4 6 8 และ 10 μM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 0 0.5 และ 1 μM และเก็บรักษาไว้ในที่มืด วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD มี 20 Treatment combinations มี 5 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ชิ้นต่อ Treatmentต่อซ้ำ

การทดลองที่ 2 ศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นและระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช โดยนำเมล็ดและตาไหลมาฟอกฆ่าเชื้อและตัดแยกส่วนเหนือใบเลี้ยง ตา ใบเลี้ยง และใบอ่อนมาชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5 ระดับคือ 0 4 6 8 และ 10 μM ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 0 1, 2 และ 3 μM และเก็บรักษาไว้ในที่มืด วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD มี 20 Treatment combinations มี 5 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ชิ้นต่อ Treatment ต่อซ้ำ

การทดลองที่ 3 ศึกษาความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เหมาะสมต่อการเกิดโซมาติคเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช โดยนำแคลลัสจากการทดลองที่ 1 จากอาหารเพาะเลี้ยงที่ 2,4-D 4 6 8 และ 10 μM ร่วมกับ BA 1 μM มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ลดความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM และเก็บรักษาไว้ในที่มีแสง วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD มี 10 Treatment combinations มี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ชิ้นต่อ Treatmentต่อซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบันทึกข้อมูล

การทดลองที่1 และ 2 ทำการบันทึกการทดลองดังนี้

1 ศึกษาการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

1.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส

1.2 การเจริญเติบโตแคลลัส โดยการให้คะแนน 6 ระดับดังนี้

คะแนน 1 ชิ้นส่วนตาย (รูปที่ 1a)

คะแนน 2 ชิ้นส่วนมีสีเหลืองหรือน้ำตาล แสดงอาการเริ่มตาย (รูปที่ 1b)

คะแนน 3 ชิ้นส่วนคงสภาพเดิม หรือมีการเปลี่ยนแปลงขนาดเล็กน้อย (รูปที่ 1c)

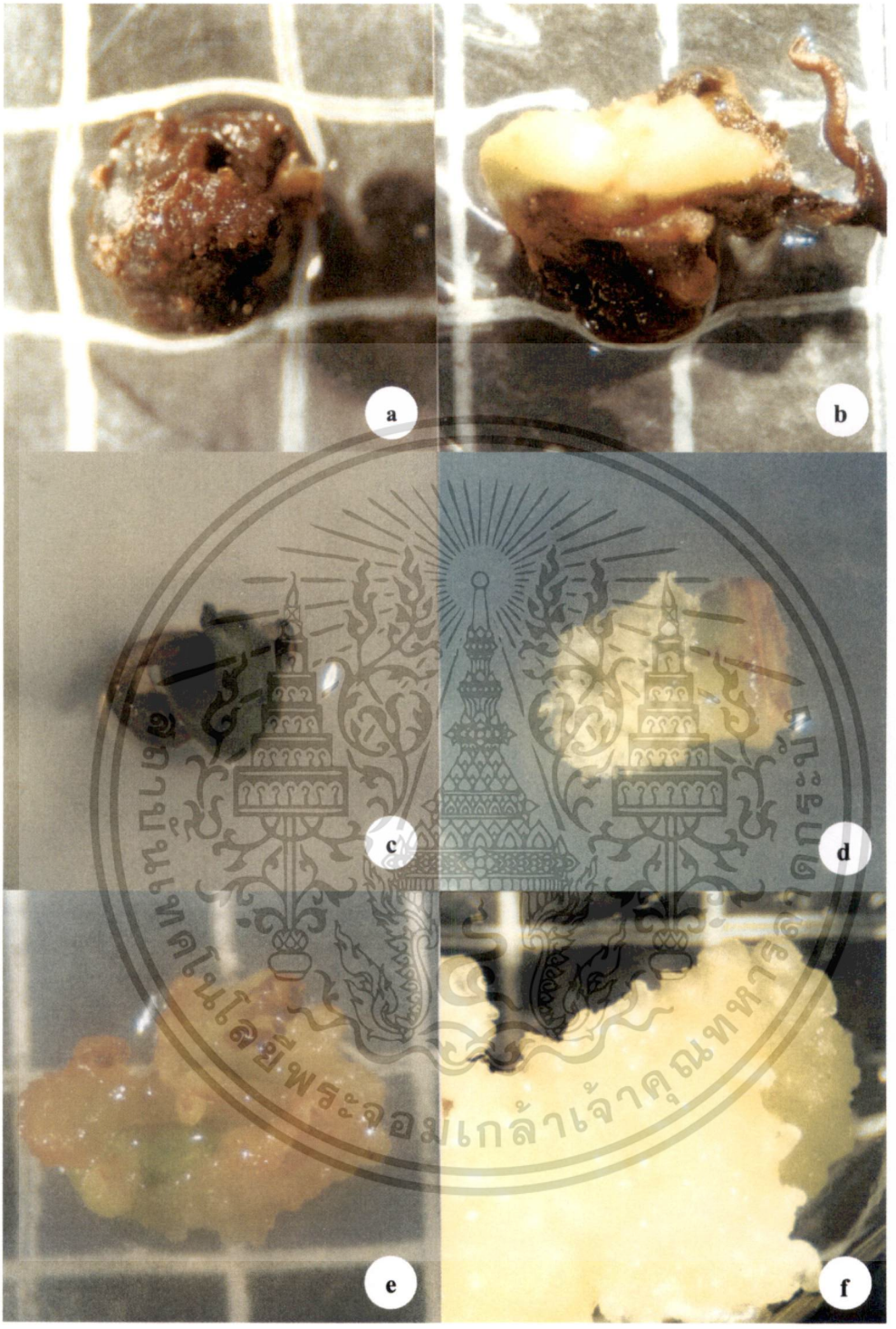
คะแนน 4 ชิ้นส่วนมีแคลลัสเกิดขึ้น แคลลัสมีลักษณะเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่น สีขาวใส (รูปที่ 1d)

คะแนน 5 ชิ้นส่วนมีแคลลัสเกิดขึ้น แคลลัสมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ สีขาว หรือสีน้ำตาลอ่อนใสฉ่ำน้ำ แคลลัสมีขนาดเล็กกว่า 0.5x0.5 เซนติเมตร (รูปที่ 1e)

คะแนน 6 ชิ้นส่วนมีแคลลัสเกิดขึ้น แคลลัสมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ สีขาว หรือสีน้ำตาลอ่อนใสฉ่ำน้ำ แคลลัสมีขนาดใหญ่กว่า 0.5x0.5 เซนติเมตร (รูปที่ 1f)

1.3 น้ำหนักสดแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกช ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ

a แสดงการให้คะแนน 1 คะแนน (6.10X) b แสดงการให้คะแนน 1 คะแนน (6.15X)

c แสดงการให้คะแนน 3 คะแนน (6X) d แสดงการให้คะแนน 4 คะแนน (6X)

e แสดงการให้คะแนน 5 คะแนน (4.85X) f แสดงการให้คะแนน 6 คะแนน (6X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 ทำการบันทึกการทดลองดังนี้

1. ศึกษาการเกิดเอมบริโอจีนีซีสของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกช
2. เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอ
3. การเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ โดยการให้คะแนน 5 ระดับดังนี้

คะแนน 1 แคลลัสเริ่มตาย และตาย (รูปที่ 2a)

คะแนน 2 แคลลัสไม่มีการพัฒนา (รูปที่ 2b)

คะแนน 3 ชิ้นส่วนพัฒนาไปเป็นต้น มีใบจำนวน 1-4 ใบ ก้านใบยาวประมาณ 1-10 เซนติเมตร มีรากจำนวน 1-8 ราก รากแตกแขนงและยาวประมาณ 1-8 เซนติเมตร (รูปที่ 2d)

คะแนน 4 แคลลัสพัฒนาไปเป็นโซมาติคเอมบริโอ ระยะ proembryo จนถึงระยะheart shape (รูปที่ 2e)

คะแนน 5 แคลลัสพัฒนาไปเป็นโซมาติคเอมบริโอ ระยะ torpedo shape จนถึงระยะ mature embryo (รูปที่ 2f)

1.4 น้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอ

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยวิธี Analysis of Varience (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan New Multiple Range Test (DMRT) ในระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ และหาความสัมพันธ์ของปัจจัยโดย Regression Analysis ในระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

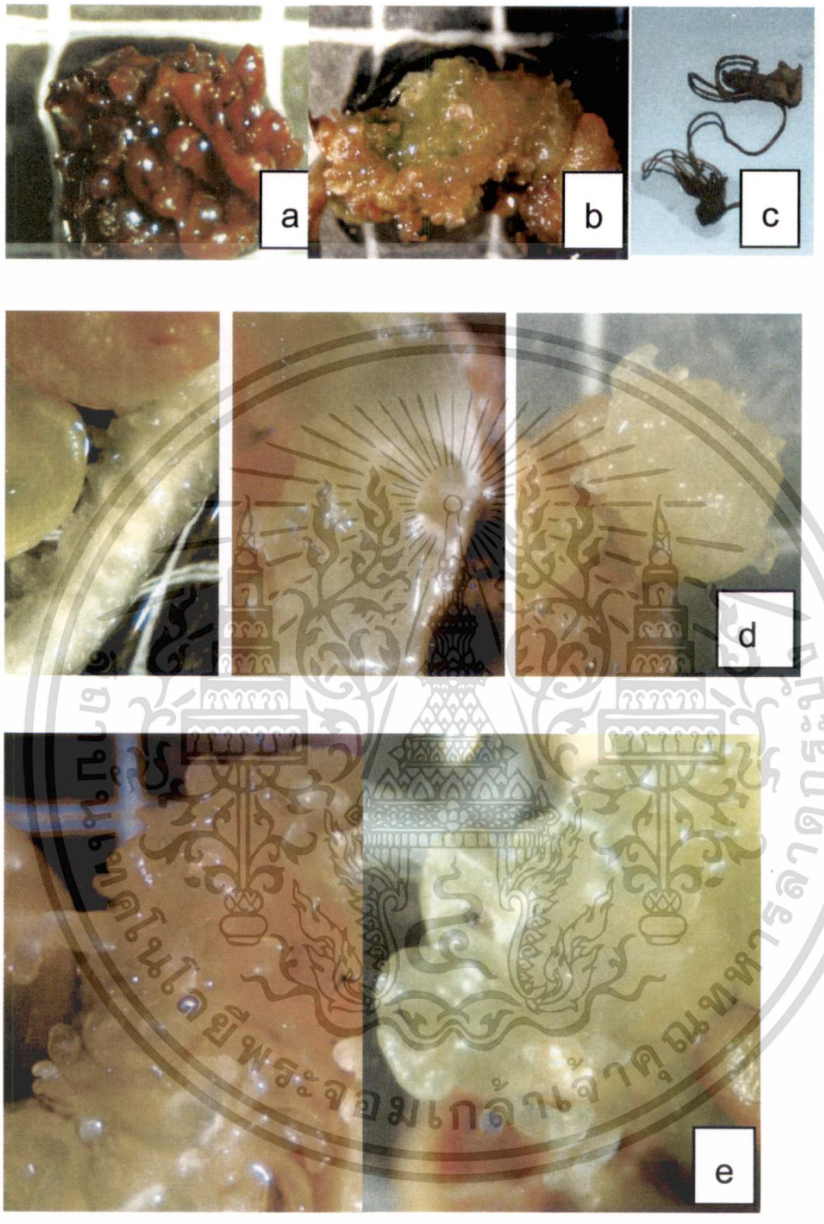
สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาดำเนินการทดลอง

ตุลาคม 2543 – กันยายน 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ

a แสดงการให้คะแนน 1 คะแนน (6X) b แสดงการให้คะแนน 2 คะแนน (3.3X)

c แสดงการให้คะแนน 3 คะแนน (0.8X) d แสดงการให้คะแนน 4 คะแนน (4.8X, 8X, 6.4X)

e แสดงการให้คะแนน 5 คะแนน (4.3X, 8X)

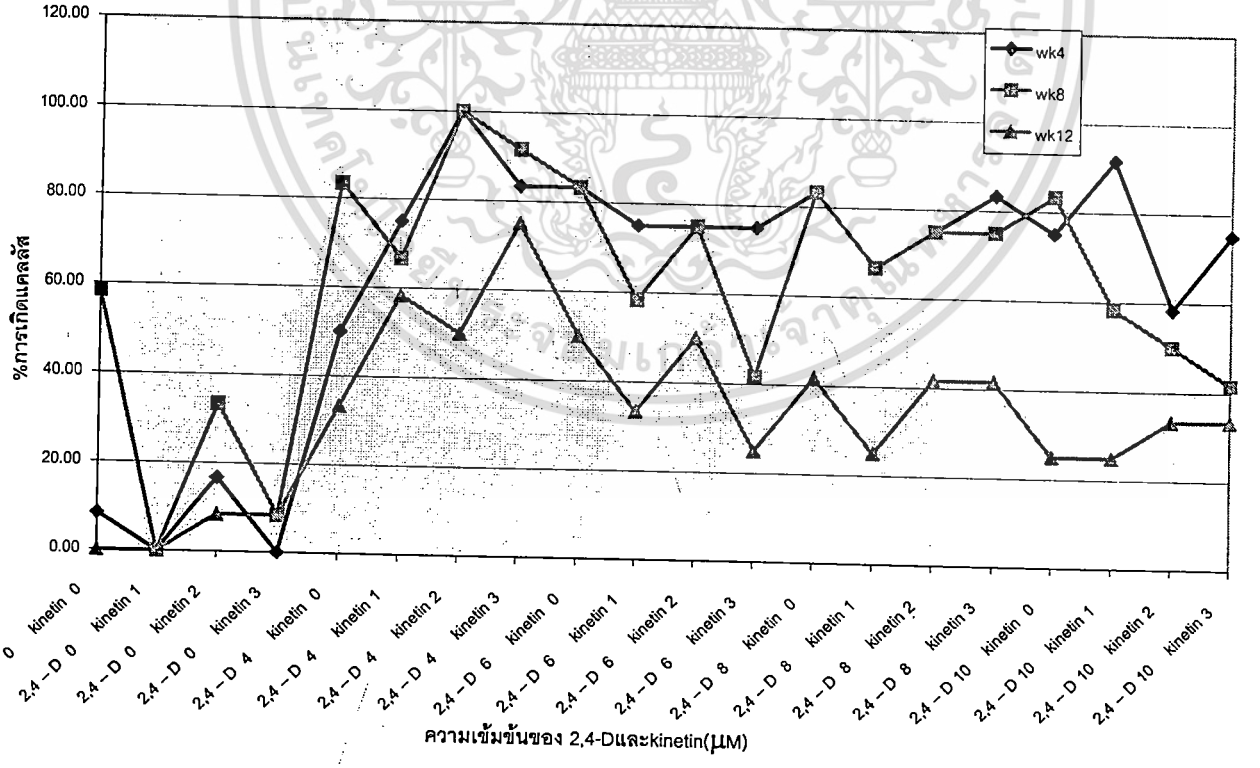
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นและระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ Kinetin ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

ส่วนเหนือใบเลี้ยง

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 3) โดยเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ชิ้นส่วนส่วนใหญ่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสค่อนข้างสูง และเกิดเพิ่มขึ้นมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 8 ในการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อ 12 สัปดาห์ใน 2,4-D ร่วมกับ kinetin ทุกความเข้มข้นแคลลัสจะเริ่มตาย โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงที่สุดคือ 75 % และในกลุ่มของ 2,4-D ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้นต่างๆ แคลลัสตายทั้งหมดในสัปดาห์ที่ 16 อย่างไรก็ตามการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ .ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ทุกสัปดาห์ไม่มีแคลลัสเกิดขึ้นเลย และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสค่อนข้างสูง ($r=0.750$) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส 51.1 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 21.60 เปอร์เซ็นต์ และได้สมการแบบ linear คือ $y=23.844+6.546x_1+1.333x_2$



รูปที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนเหนือใบเลี้ยงของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส การใช้ 2,4-D 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์แคลลัสมีการเจริญเติบโตดีที่สุด เมื่อสัปดาห์ที่ 4 และมีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้นอื่นๆ และแคลลัสส่วนใหญ่ยังมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอีกในสัปดาห์ที่ 8 โดยการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีการเจริญเติบโตดีที่สุด 5.43 คะแนน และมีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้นอื่นๆ 2,4-D ความเข้มข้น 6 และ 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 และ 3 ไมโครโมลาร์ โดยแคลลัสเกิดขึ้นที่ผิวด้านบนและรอยตัดของชิ้นส่วน (รูปที่ 1d) มีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ ฉ่ำน้ำสีขาวใสหรือสีครีม และมีขนาดใหญ่กว่า 0.5x0.5 เซนติเมตร ขณะที่ในสัปดาห์ที่ 12 พบว่า การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ทุกความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ แคลลัสเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและมีการตายเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 16 โดยการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ แคลลัสตายช้าที่สุด ขณะที่กลุ่มการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้นต่างๆ แคลลัส มีการตายมากที่สุด แต่เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ไม่มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อน้ำหนักสดแคลลัส พบว่า ในสัปดาห์ที่ 12 น้ำหนักสดแคลลัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 1) โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีน้ำหนักสดดีที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 และ 2 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 6 และ 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และในสัปดาห์ที่16 แคลลัสส่วนใหญ่ยังมีน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นอีก โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์แคลลัสมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นดีที่สุด คือ 0.17 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่1 คะแนนการเจริญเติบโต น้ำหนักสดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนเหนือใบเลี้ยงของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin อายุ 12 สัปดาห์

PGR (µM)	คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)	นน.สดแคลลัส (±SE) [1]
2,4 – D 0 kinetin 0	2.42±0.11	0.07±0.03b-g
1	2.39±0.51	0.07±0.00b-g
2	2.31±0.16	0.04±0.03f-g
3	2.25±0.54	0.07±0.02b-g
2,4 – D 4 kinetin 0	3.66±0.12	0.04±0.04e-g
1	4.17±1.36	0.10±0.04a-d
2	4.05±1.01	0.12±0.09ab
3	4.92±0.24	0.06±0.09c-g
2,4 – D 6 kinetin 0	3.76±0.21	0.03±0.09g
1	3.50±0.71	0.11±0.02a-c
2	4.08±0.89	0.15±0.02a
3	3.33±0.51	0.08±0.03a-f
2,4 – D 8 kinetin 0	3.38±0.57	0.05±0.02c-g
1	3.43±1.00	0.10±0.03a-d
2	3.89±0.11	0.05±0.08d-g
3	2.99±0.81	0.04±0.03d-g
2,4 – D 10 kinetin 0	2.66±0.93	0.13±0.05ab
1	3.30±0.41	0.09±0.02a-e
2	3.65±0.33	0.08±0.00a-f
3	3.17±0.94	0.09±0.04a-f
F-test	ns	**
Regression	Lns	Lns
CV (%)	24.60	22.01

1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

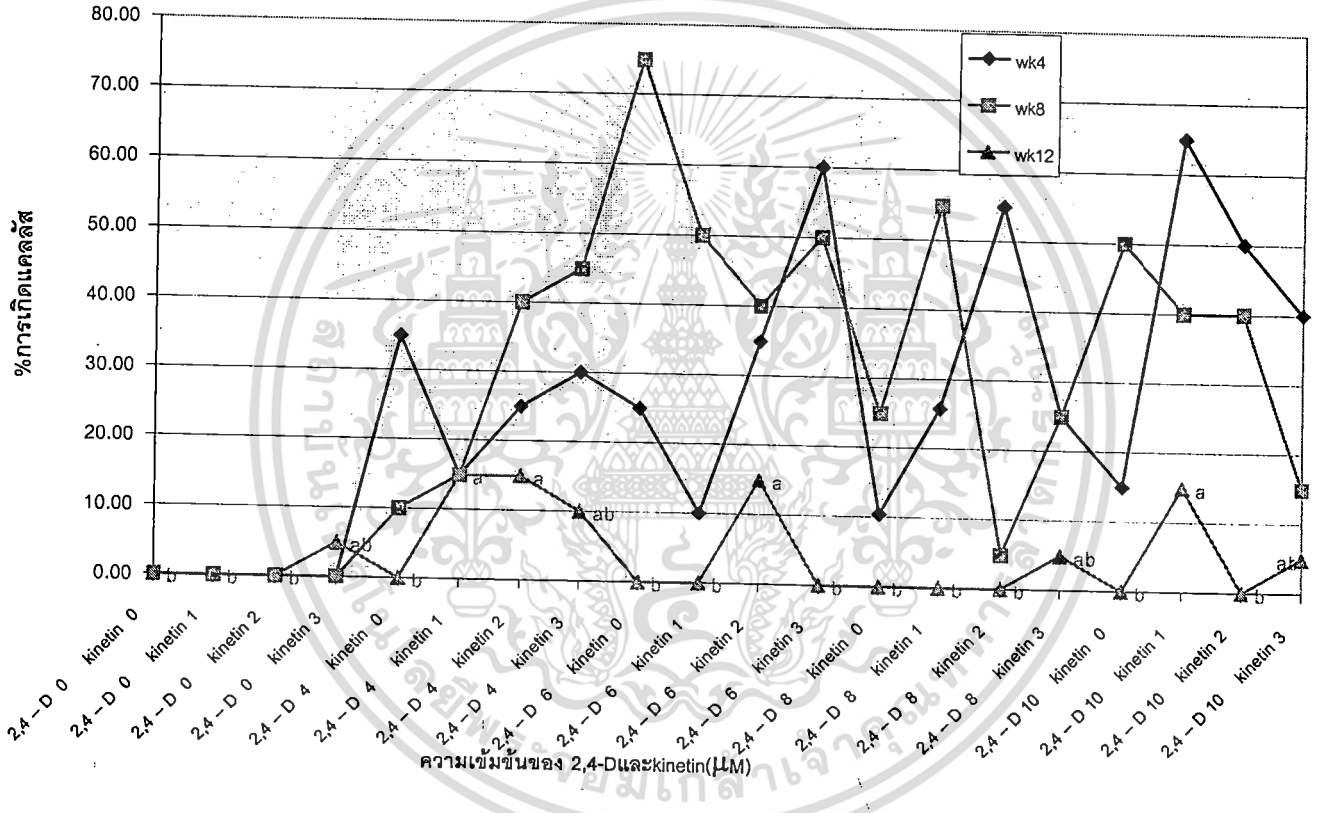
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ * มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ส่วนตาไหล

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส จากรูปที่ 4 พบว่า เมื่ออายุ 4 สัปดาห์การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับkinetin ความเข้มข้น1 ไมโครโมลาร์ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด 65.00 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนเริ่มตายในสัปดาห์ที่ 8 เหลือเพียง 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวิธีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อื่นๆพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเพิ่มขึ้นเป็นส่วนใหญ่ โดยการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเพิ่มขึ้นดีที่สุด 75.00 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่ออายุ 12 สัปดาห์แคลลัสเกือบทั้งหมดเริ่มตาย โดยเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ แคลลัสตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 การใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้นต่างๆ ทุกสัปดาห์ไม่มีแคลลัสเกิดเลยยกเว้นในสัปดาห์ที่ 12 ที่การใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์มีแคลลัสเกิดขึ้นเล็กน้อย



ค่าเฉลี่ยบนเส้นกราฟที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

รูปที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส พบว่า ทุกสัปดาห์คะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสไม่มีความแตกต่างกันโดยการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ แคลลัสจะมีการเจริญเติบโตดีที่สุด 4.30 คะแนนในสัปดาห์ที่ 4 โดยแคลลัสจะเริ่มเกิดขึ้นที่ฐานและกาบนอกของชิ้นส่วน มีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ ผิวมันย่นสีขาวหรือสีน้ำตาลอ่อนใส (รูปที่ 5) แต่เมื่ออายุ 12 สัปดาห์(ตารางที่ 2) แคลลัสส่วนใหญ่จะเริ่มตาย และที่การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์แคลลัสจะตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 16

รูปที่ 5 แสดงการเกิดแคลลัสของตาไหลบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ อายุ 4 สัปดาห์ (8X)

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อน้ำหนักแคลลัส พบว่า การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีน้ำหนักสดดีที่สุดและเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 12 และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 1 และ 2 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ และในสัปดาห์ที่ 16 แคลลัสส่วนใหญ่มีน้ำหนักสดลดลง ขณะที่การใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้นอื่นๆ ทุกสัปดาห์แคลลัสมีน้ำหนักสดน้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 คะแนนการเจริญเติบโต น้ำหนักสดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin อายุ 12 สัปดาห์

PGR (μM)	คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)	นน.สดแคลลัส (±SE) [1]
2,4 – D 0 kinetin 0	1.91±0.56	0.05±0.06e
1	1.78±0.62	0.07±0.04b-e
2	1.58±0.55	0.07±0.03b-e
3	2.52±0.62	0.09±0.07a-d
2,4 – D 4 kinetin 0	1.62±0.40	0.09±0.03a-d
1	2.00±0.74	0.05±0.05de
2	2.32±0.79	0.07±0.03a-e
3	1.89±0.96	0.08±0.05a-e
2,4 – D 6 kinetin 0	1.83±0.12	0.08±0.03a-d
1	2.14±0.51	0.11±0.03ab
2	1.78±0.81	0.06±0.03c-e
3	1.43±0.38	0.09±0.07a-d
2,4 – D 8 kinetin 0	1.83±0.78	0.08±0.04a-d
1	2.37±0.50	0.10±0.02a-c
2	2.20±0.60	0.12±0.08a
3	2.57±0.83	0.08±0.05b-e
2,4 – D 10 kinetin 0	2.44±0.40	0.07±0.02a-d
1	2.17±1.10	0.08±0.03a-d
2	1.93±0.53	0.10±0.04a-c
3	2.35±0.69	0.09±0.03a-c
F-test	ns	*
Regression	Lns	Lns
CV (%)	36.36	18.53

1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ * มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

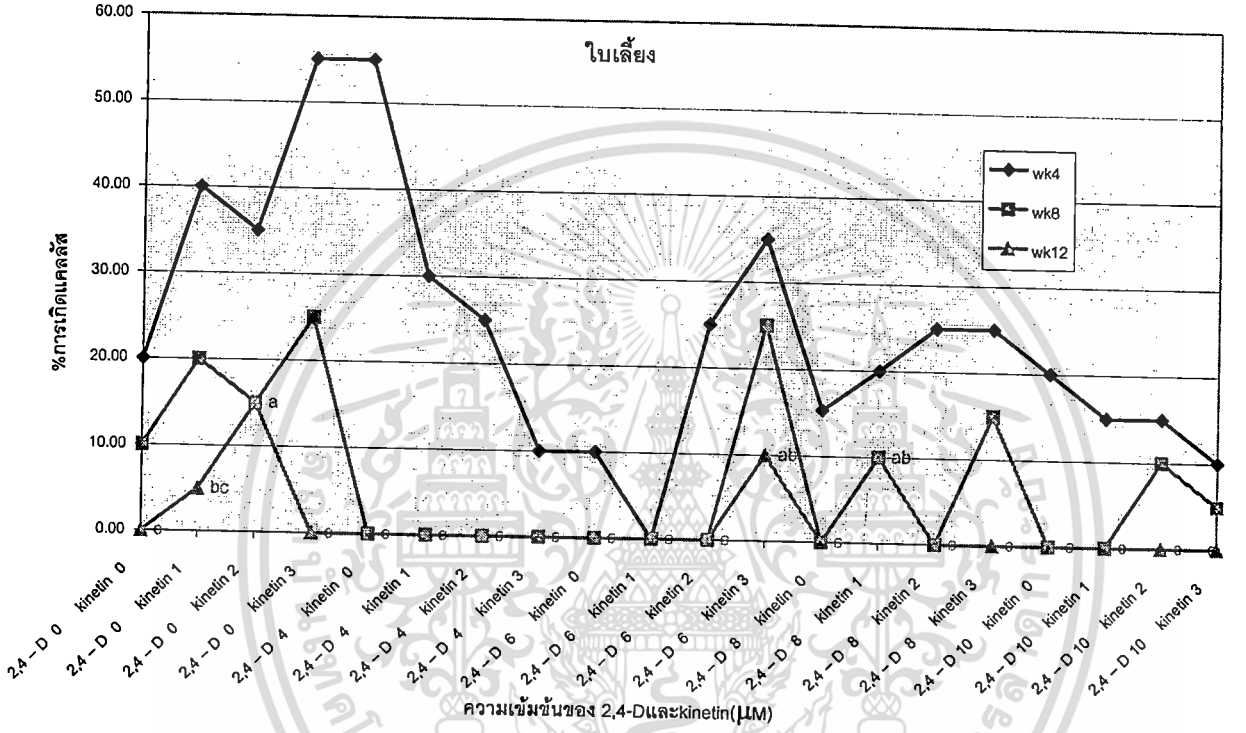
<u>ส่วนใบเลี้ยง</u>

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส พบว่า ทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นสัปดาห์ที่ 12 (รูปที่ 6) โดยในสัปดาห์ที่ 4 กลุ่มการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ทุกความเข้มข้น ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสดีที่สุดโดยเฉพาะ 2,4-D ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์และสัปดาห์ต่อมาแคลลัสเริ่มตาย โดยการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์แคลลัสตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ อย่างไรก็ตามการใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ทุกความเข้มข้นแคลลัสตายทั้งหมดในสัปดาห์ที่ 16 และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ในสัปดาห์ 4 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสปานกลาง (r=0.566) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส 24.00 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 12.502 เปอร์เซ็นต์ และได้สมการแบบ linear คือ $y=35.003-2.260x_1+1.280x_2$



ค่าเฉลี่ยบนเส้นกราฟที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

รูปที่ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนใบเลี้ยงของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส พบว่า ใน 2,4-D ร่วมกับ kinetin ทุกความเข้มข้นแคลลัสมีการเจริญเติบโตดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีการเจริญเติบโตดีที่สุด 3.70 คะแนน แคลลัสเกิดขึ้นที่รอยตัดด้านบนของชิ้นส่วน มีลักษณะเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่นสีขาวใส และเมื่อสัปดาห์ที่ 8 แคลลัสทั้งหมดเริ่มตาย โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ แคลลัสตายช้าที่สุดทั้งในสัปดาห์ที่ 12 โดยมีคะแนน 1.99 และเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสปานกลาง (r=0.552) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

54551

ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส 22.30 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 0.338 คะแนน และได้สมการแบบ linear คือ $y=3.322-5.868x_1+3.960x_2$

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อน้ำหนักแคลลัส พบว่า ในสัปดาห์ที่ 8 แคลลัสมีน้ำหนักสดดีที่สุดและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีน้ำหนักสดดีที่สุด 0.29 กรัม และในสัปดาห์ที่ 12 (ตารางที่3) พบว่า การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีน้ำหนักสดลดลงน้อยที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ และในการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และน้ำหนักสดแคลลัสยังลดลงน้อยที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 16 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin มีความสัมพันธ์ต่อน้ำหนักสดแคลลัสค่อนข้างสูง (r=0.632) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อน้ำหนักสดแคลลัส 32.90 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 2.621 กรัม และได้สมการแบบ linear คือ $y=0.167+4.848x_1+9.400$

<u>ส่วนใบอ่อน</u>

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส พบว่าและเมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 7) โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสดีที่สุด 91.67 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และสัปดาห์ต่อมาแคลลัสเริ่มตายจนถึงสัปดาห์ที่ 16 โดยการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 6 และ 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 และ 3 ไมโครโมลาร์แคลลัสตายช้าที่สุด และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นสัปดาห์ที่8และ12 ขณะที่กลุ่มการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ทุกความเข้มข้นจะมีแคลลัสเกิดขึ้นน้อยและแคลลัสตายเร็วกว่าการใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้นอื่นๆ และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสค่อนข้างสูง (r=0.652) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส 35.80 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 19.042 เปอร์เซ็นต์ และได้สมการแบบ linear คือ $y=32.240+4.392x_1+0.166x_2$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

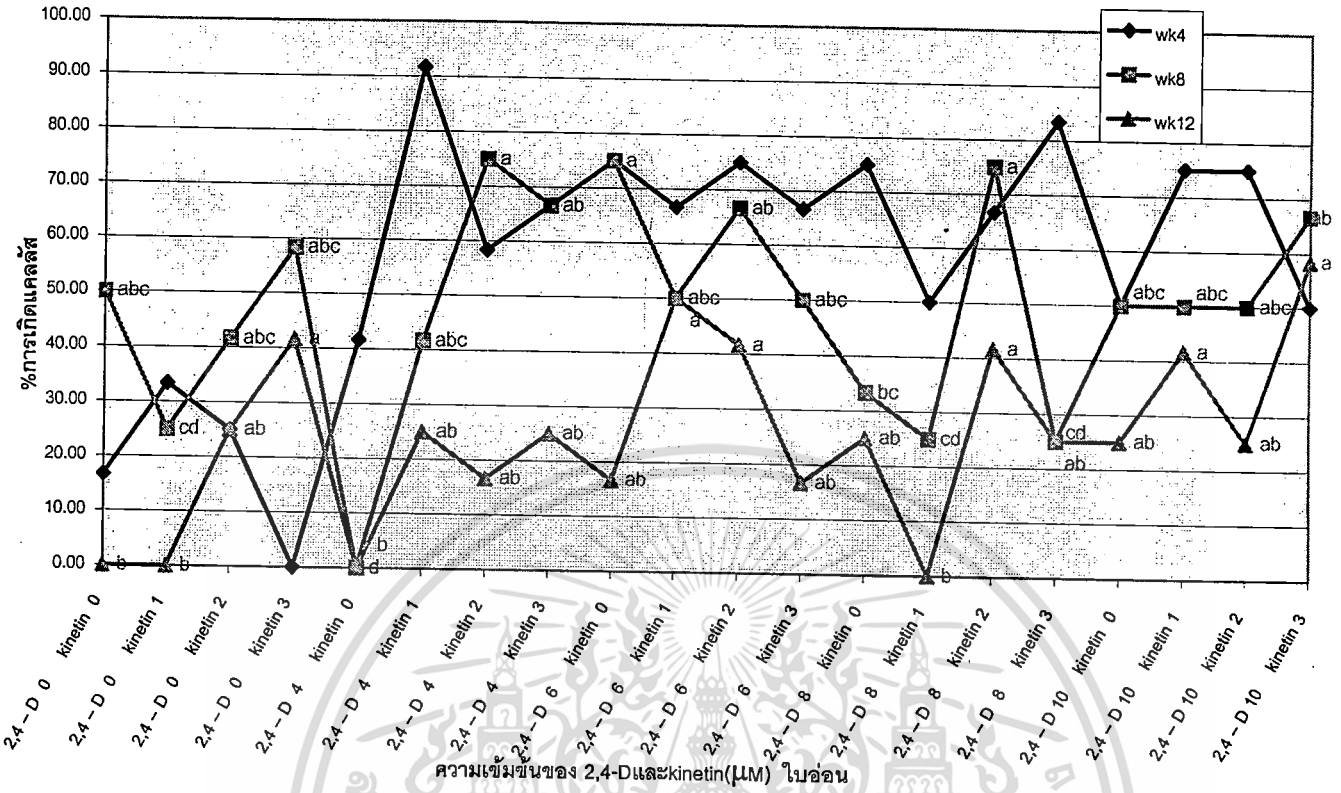
ตารางที่ 3 คะแนนการเจริญเติบโต น้ำหนักสดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin อายุ 12 สัปดาห์

PGR (μM)	คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)	นน.สดแคลลัส (±SE) [1]
2,4 – D 0 kinetin 0	1.31±0.32	0.23±0.04ab
1	1.29±0.39	0.26±0.03a
2	1.45±0.40	0.24±0.01a-c
3	1.52±0.32	0.23±0.06ab
2,4 – D 4 kinetin 0	1.60±0.31	0.23±0.03ab
1	1.57±0.49	0.23±0.04ab
2	1.35±0.27	0.24±0.04ab
3	1.50±0.40	0.16±0.07bc
2,4 – D 6 kinetin 0	1.29±0.18	0.15±0.04g
1	1.46±0.31	0.19±0.04a-c
2	1.68±0.23	0.22±0.06a-c
3	1.99±0.29	0.26±0.02a
2,4 – D 8 kinetin 0	1.62±0.54	0.18±0.06a-c
1	1.64±0.94	0.25±0.01a
2	1.28±0.25	0.25±0.03a
3	1.44±0.30	0.23±0.02ab
2,4 – D 10 kinetin 0	1.53±0.30	0.24±0.03a-c
1	1.84±0.72	0.23±0.03ab
2	1.53±0.23	0.24±0.02ab
3	1.40±0.51	0.23±0.02ab
F-test	ns	*
Regression	Lns	Lns
CV (%)	31.33	12.94

[1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ * มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

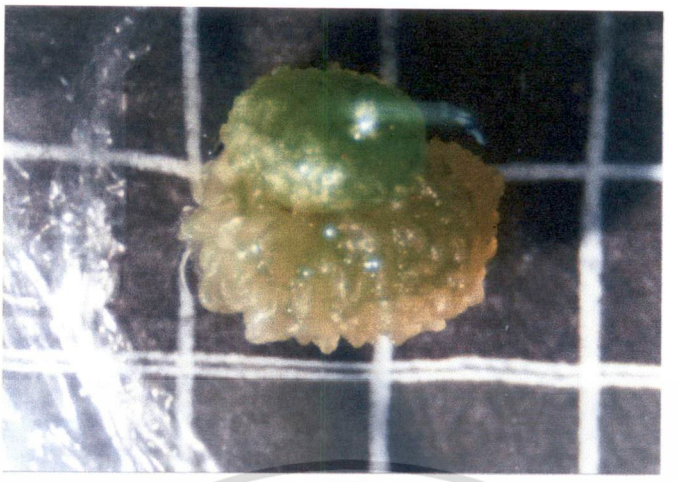


ค่าเฉลี่ยบนเส้นกราฟที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

รูปที่ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส พบว่า การใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ในสัปดาห์ที่ 4 แคลลัสมีการเจริญเติบโตดีที่สุด 5.50 คะแนน แคลลัสมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ ผิวย่นสีขาวใสฉ่ำน้ำ เกิดขึ้นที่บริเวณผิวด้านนอกของชิ้นส่วนและเจริญเติบโตขยายใหญ่ขึ้น (รูปที่ 8) และสัปดาห์ต่อมา พบว่า แคลลัสทั้งหมดเริ่มตาย โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ แคลลัสจะตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 12 และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 และ 2 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 และ 1 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 4) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ไม่มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 8 แสดงการเกิดแคลลัสของใบอ่อนของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น0 ไมโครโมลาร์ อายุ 4 สัปดาห์ (8X)

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ต่อน้ำหนักแคลลัส พบว่า สัปดาห์ที่ 12 น้ำหนักสดแคลลัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4) โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีน้ำหนักสดดีที่สุด 0.24 กรัม และมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 4 และ 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 และ 3 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 และ 2 ไมโครโมลาร์ และแคลลัสส่วนใหญ่ยังมีน้ำหนักสดยังเพิ่มขึ้นอีกในสัปดาห์ที่ 16 โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นดีที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 และ 3 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ไม่มีความสัมพันธ์ต่อน้ำหนักสดแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 คะแนนการเจริญเติบโต น้ำหนักสดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin อายุ 12 สัปดาห์

PGR (μM)	คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)	นน.สดแคลลัส (±SE) [1]
2,4 – D 0 kinetin 0	2.30±0.67b-f	0.11±0.09b-f
1	2.17±0.51b-f	0.18±0.05a-d
2	2.84±0.12a-e	0.14±0.07a-e
3	3.13±0.46a-d	0.09±0.04c-f
2,4 – D 4 kinetin 0	2.19±0.05b-f	0.04±0.03f
1	3.01±0.20a-e	0.16±0.01a-d
2	1.81±0.67d-f	0.24±0.04a
3	2.62±0.76a-e	0.16±0.04a-d
2,4 – D 6 kinetin 0	2.56±0.84a-e	0.10±0.05b-f
1	3.79±0.82a	0.21±0.07a-c
2	3.50±0.89ab	0.22±0.10ab
3	2.06±0.46c-f	0.16±0.06a-d
2,4 – D 8 kinetin 0	2.19±0.57b-f	0.11±0.05b-f
1	1.66±0.11ef	0.12±0.04a-e
2	3.78±0.70a	0.13±0.04a-e
3	1.76±0.70d-f	0.06±0.08ef
2,4 – D 10 kinetin 0	2.51±0.53a-f	0.16±0.04a-d
1	3.33±0.24a-c	0.08±0.07d-f
2	2.53±0.37a-f	0.10±0.12d-f
3	2.78±0.68a-e	0.15±0.07a-e
F-test	**	**
Regression	Lns	Lns
CV (%)	27.39	21.62

1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ * มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

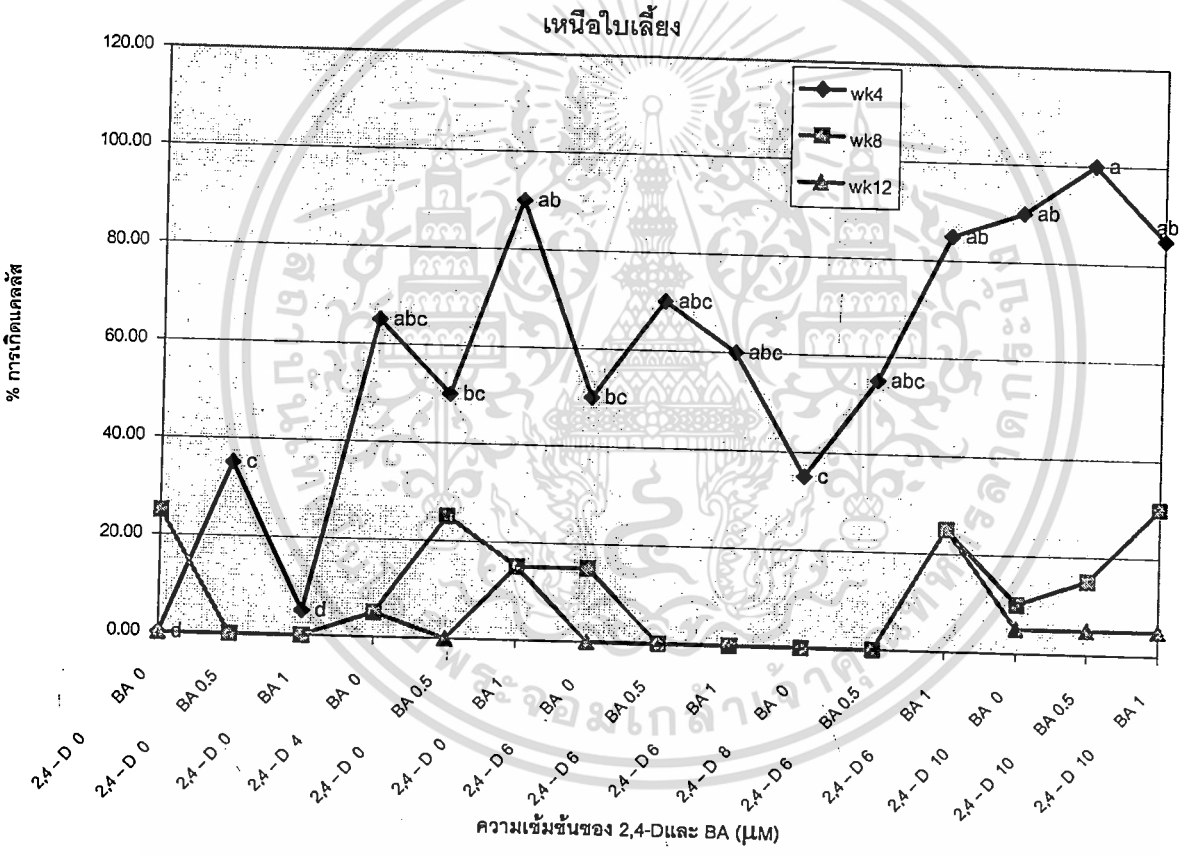
การทดลองที่ 2 ศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นและระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

ส่วนเหนือใบเลี้ยง

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส พบว่า ทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติยกเว้นในสัปดาห์ที่ 12 (รูปที่9) โดยการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นต่างๆ ชิ้นส่วนมีการเกิดแคลลัสดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 และในการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด 100.00 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 6 และ 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ และในสัปดาห์ต่อมาแคลลัสส่วนใหญ่จะตาย และการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์แคลลัสตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งแคลลัสตายทั้งหมด และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสค่อนข้างสูง (r=0.798) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส 57.60 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 19.715 เปอร์เซ็นต์ และได้สมการแบบ linear คือ $y=13.572+6.475x_1+17.000x_2$



ค่าเฉลี่ยบนเส้นกราฟที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

รูปที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนเหนือใบเลี้ยงของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส พบว่าในสัปดาห์ที่4 กลุ่มการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีการเจริญเติบโตดี โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีการเจริญเติบโตดีที่สุด 5.60 คะแนน แคลลัสจะเริ่มเกิดที่ปลายข้างหนึ่งหรือปลายทั้งสองข้างของชิ้นส่วนหรือเกิดขึ้นทั่วผิวของชิ้นส่วน แคลลัสมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ สีขาวใสหรือน้ำตาลอ่อนใสฉ่ำน้ำ และมีขนาดใหญ่กว่า 0.5x0.5 เซนติเมตร และในขณะที่การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ดีเช่นเดียวกัน และแคลลัสทั้งหมดเริ่มมีคะแนนลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 และตายเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 12(ตารางที่5) โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสตายช้าที่สุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสสูง (r=0.841) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส 65.90 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 0.568 คะแนน และได้สมการ linear คือ $y=2.628+0.199x_1+0.962x_2$

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อน้ำหนักสดแคลลัส พบว่า แคลลัสบางส่วนมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 12 (ตารางที่5) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสจะมีน้ำหนักสดดีที่สุด 0.14 กรัม และไม่มีความแตกต่างกับทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 4.15) และในสัปดาห์ที่ 16 พบว่า การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 6 และ 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ น้ำหนักสดแคลลัสจะลดลงช้าที่สุด จากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 12 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อน้ำหนักสดแคลลัสค่อนข้างสูง (r=0.766) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อน้ำหนักสดแคลลัส 51.70 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 2.402 กรัม และได้สมการแบบ linear คือ $y=3.123+6.081x_1+3.600$

<u>ส่วนตาไหล</u>

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส พบว่า พบว่า เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่10) โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด แต่ในการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเพิ่มขึ้นดีที่สุด 70 เปอร์เซ็นต์ในสัปดาห์ที่ 8 หลังจากนั้นแคลลัสจะเริ่มตาย โดยการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์แคลลัสตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 และมีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้2,4-D ความเข้มข้น 4 และ 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 ไมโครโมลาร์2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครโมลาร์ ขณะที่การใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่น ๆ ทุกสัปดาห์ไม่มีแคลลัสเกิดขึ้นเลย และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 8 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสค่อนข้างสูง (r=0.6.71) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส 35.80 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 17.541 เปอร์เซ็นต์ และได้สมการ linear คือ $y=-2.986+3.063x_1+23.000x_2$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

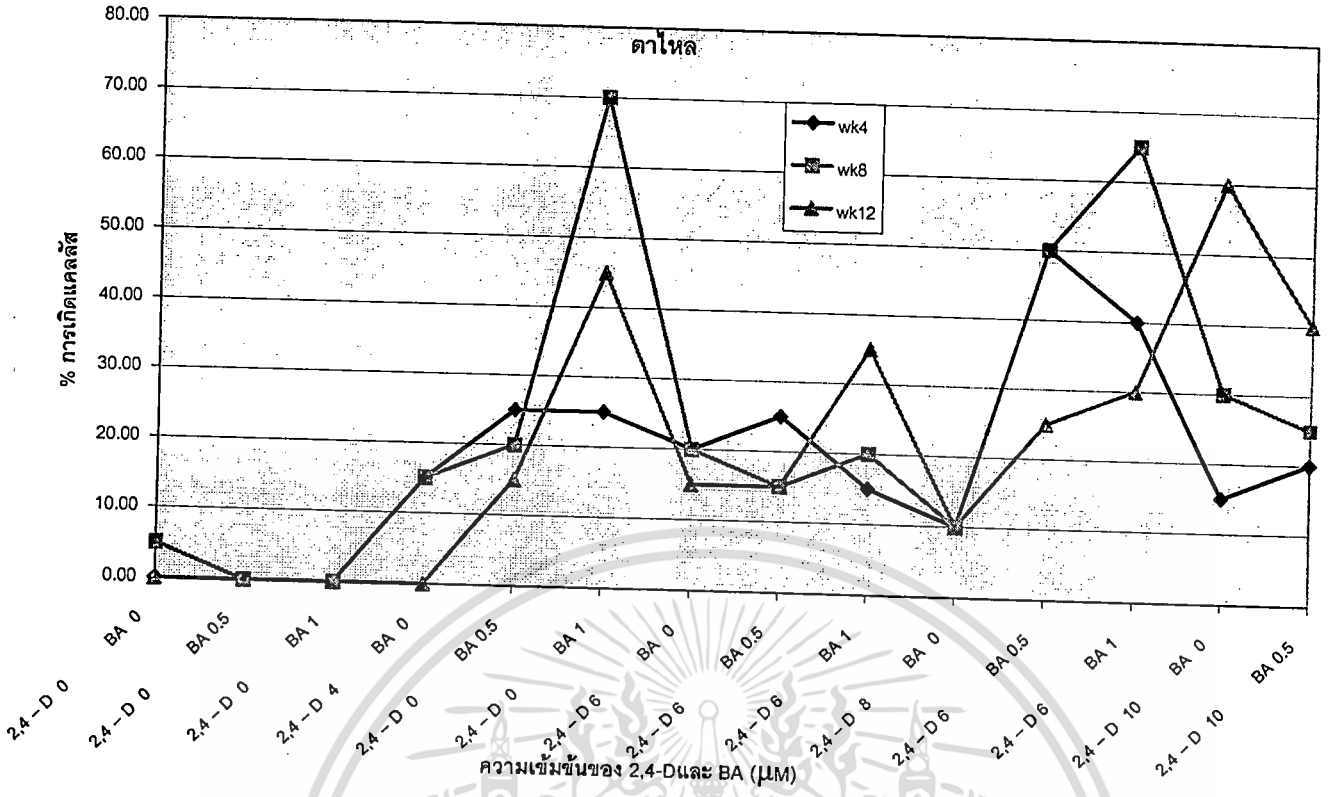
ตารางที่ 5 คะแนนการเติบโต นน.สดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนเหนือใบเลี้ยง ของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกช บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 -D ร่วมกับ BA อายุ 12 สัปดาห์

PGR (µM)		คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)	นน.สดแคลลัส (±SE) [1]
		คะแนนการเติบโต(±SE)	นน.สดแคลลัส(±SE)
2,4 – D 0	BA 0	1.42±0.19d-f	0.04±0.02d
	0.5	1.50±0.28c-f	0.05±0.04d
	1	1.36±0.17ef	0.05±0.03d
2,4 – D 4	BA 0	2.01±0.56a-f	0.04±0.03d
	0.5	2.19±0.34a-e	0.09±1.15b
	1	2.36±0.40a-c	0.09±0.03b
2,4 – D 6	BA 0	2.25±0.83a-d	0.08±0.03bc
	0.5	2.37±0.57ab	0.12±0.04a
	1	2.10±0.38a-f	0.09±0.02b
2,4 – D 8	BA 0	1.92±0.54 a-f	0.05±0.03d
	0.5	1.71±0.28b-f	0.13±0.03a
	1	2.62±0.47a	0.09±0.01b
2,4 – D 10	BA 0	1.70±0.35b-f	0.06±0.03cd
	0.5	2.58±1.20a	0.14±0.03a
	1	1.30±0.19f	0.13±1.35a
	F-test	*	**
	CV(%)	29.75	11.30

1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ * มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีการเจริญเติบโตดีที่สุด และแคลลัส ส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และเริ่มตายในสัปดาห์ที่ 12(ตารางที่ 5) แต่การใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์แคลลัสมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นดีที่สุด โดยมีคะแนนการเจริญเติบโต 4.40 คะแนน แคลลัสมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆสีขาวใสฉ่ำน้ำ และเกิดขึ้นที่กาบใน (รูปที่ 4.6a) หรือทั่วผิวกาบนอกของชิ้นส่วน (รูปที่ 4.6b) และในสัปดาห์ที่ 16 พบว่าแคลลัสตายช้าที่สุด และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อการเจริญเติบโตแคลลัส โดยในสัปดาห์ที่ 8 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสสูง (r=0.823) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส 62.30 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 0.336 เปอร์เซ็นต์ และได้สมการ linear คือ $y=2.277+8.421x_1+0.788x_2$

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อน้ำหนักสดแคลลัส พบว่า การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีน้ำหนักสดดีที่สุดเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ และในสัปดาห์ต่อมาการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ทุกความเข้มข้นแคลลัสมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้น โดยที่การใช้ 2,4-D ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์แคลลัสมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นดีที่สุด และน้ำหนักแคลลัสยังเพิ่มขึ้นอีกจนถึงสัปดาห์ที่ 16 โดยมีน้ำหนักสด 0.33 กรัม และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ (ตารางที่ 5) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อน้ำหนักสดแคลลัส

ตารางที่ 6 คะแนนการเติบโต นน.สดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนตาไหล ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 -D ร่วมกับ BA อายุ 12 สัปดาห์

PGR (μM)		คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)	นน.สดแคลลัส (±SE) [1]
2,4 – D 0	BA 0	2.42±0.63	0.10±0.03b
	0.5	2.27±0.62	0.09±0.08bc
	1	2.79±0.41	0.05±0.05bc
2,4 – D 4	BA 0	2.46±0.54	0.04±0.02c
	0.5	3.41±0.82	0.12±0.07b
	1	4.40±0.69	0.21±0.09a
2,4 – D 6	BA 0	3.01±0.63	0.10±0.03b
	0.5	3.15±0.50	0.07±0.03bc
	1	3.80±0.99	0.13±0.10b
2,4 – D 8	BA 0	2.70±0.91	0.07±0.05bc
	0.5	2.90±0.53	0.07±0.08bc
	1	3.13±0.38	0.09±0.05bc
2,4 – D 10	BA 0	3.08±0.82	0.08±0.09bc
	0.5	3.41±0.52	0.09±0.12bc
	1	3.89±0.76	0.08±0.06bc
	F-test	ns	**
	CV(%)	24.11	27.85

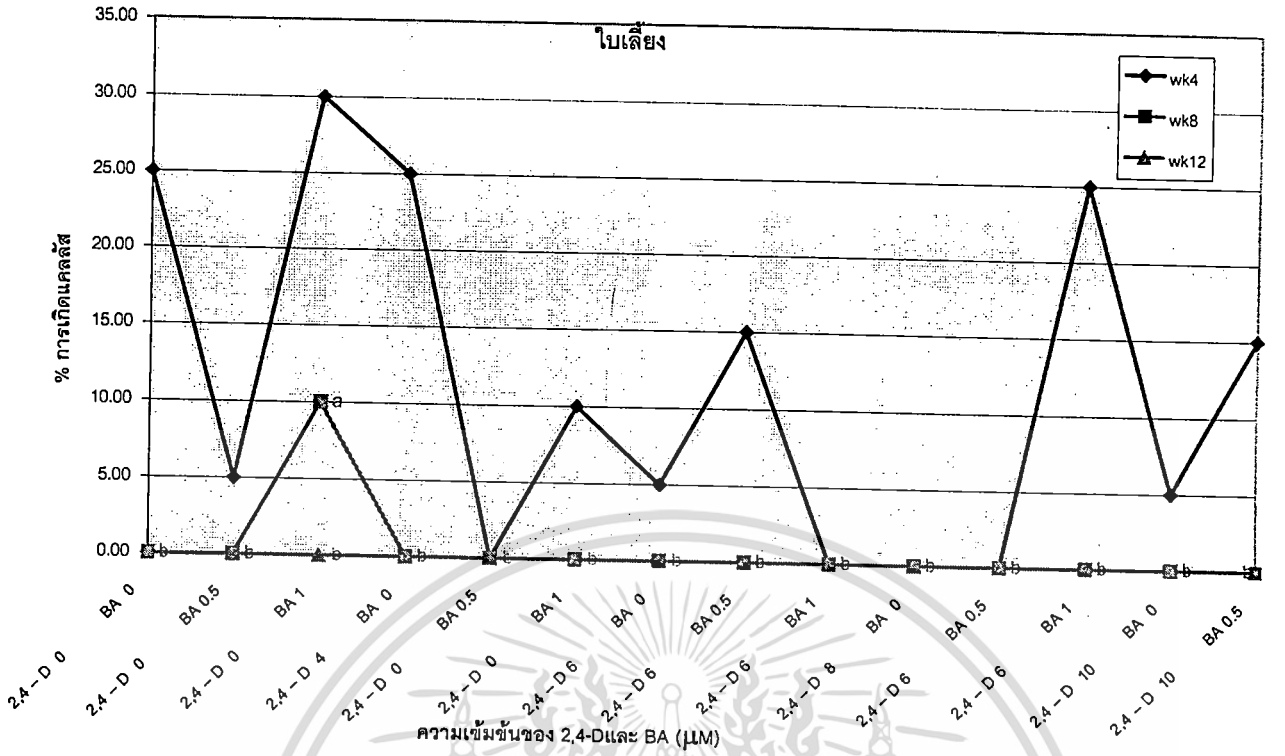
1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ * มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ส่วนใบเลี้ยง

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส พบว่า สัปดาห์ที่ 4 ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสดีที่สุด โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด 30.00 เปอร์เซ็นต์ และแคลลัสตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 8 และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งแคลลัสตายทั้งหมด แต่อย่างไรก็ตามในสัปดาห์ที่ 12 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ทุกความเข้มข้นแคลลัสตายทั้งหมดเช่นเดียวกัน (รูปที่ 11) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ค่าเฉลี่ยบนเส้นกราฟที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

รูปที่ 11 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนใบเลี้ยงของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส (ตารางที่ 7)พบว่าในการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ทุกความเข้มข้นแคลลัสจะมีการเจริญเติบโตดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์แคลลัสจะมีการเจริญเติบโตดีที่สุด 3.25 คะแนน โดยแคลลัสจะเริ่มเกิดขึ้นที่รอยตัด มีลักษณะเป็นเม็ดละเอียดขาวใสเกาะกันแน่น และแคลลัสทั้งหมดเริ่มตายในสัปดาห์ต่อมา โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์แคลลัสมีการเจริญเติบโตลดลงน้อยที่สุด และต่อมาแคลลัสทั้งหมดมีการตายเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่12 โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์แคลลัสตายช้าที่สุด และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อน้ำหนักสดแคลลัส พบว่า แคลลัสส่วนใหญ่มีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 12 โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีน้ำหนักสดดีที่สุด 0.22 กรัม และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และในสัปดาห์ที่ 16 พบว่า การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีน้ำหนักสดลดลงช้าที่สุด และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 และ 1 ไมโครโมลาร์(ตารางที่ 7) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อน้ำหนักสดแคลลัส

ตารางที่ 7 คะแนนการเติบโต นน.สดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนใบเลี้ยง ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 -D ร่วมกับ BA อายุ 12 สัปดาห์

PGR (μM)		คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)	นน.สดแคลลัส (±SE) [1]
2,4 – D 0	BA 0	1.94±0.11	0.19±0.02ab
	0.5	1.86±0.19	0.13±0.09cd
	1	1.89±0.59	0.12±0.07d
2,4 – D 4	BA 0	1.98±0.04	0.19±0.03a-c
	0.5	1.94±0.74	0.20±0.04ab
	1	1.95±0.23	0.22±0.07a
2,4 – D 6	BA 0	1.95±0.10	0.19±0.02ab
	0.5	1.85±0.37	0.20±0.13a-d
	1	1.97±0.77	0.19±0.03ab
2,4 – D 8	BA 0	1.97±0.37	0.19±0.03a-c
	0.5	1.85±0.23	0.22±0.04a
	1	2.03±0.32	0.14±0.04b-d
2,4 – D 10	BA 0	2.05±0.78	0.14±0.03b-d
	0.5	2.04±0.07	0.20±0.05ab
	1	2.02±0.16	0.17±0.01a-d
	F-test	ns	*
	CV(%)	24.16	15.11

1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

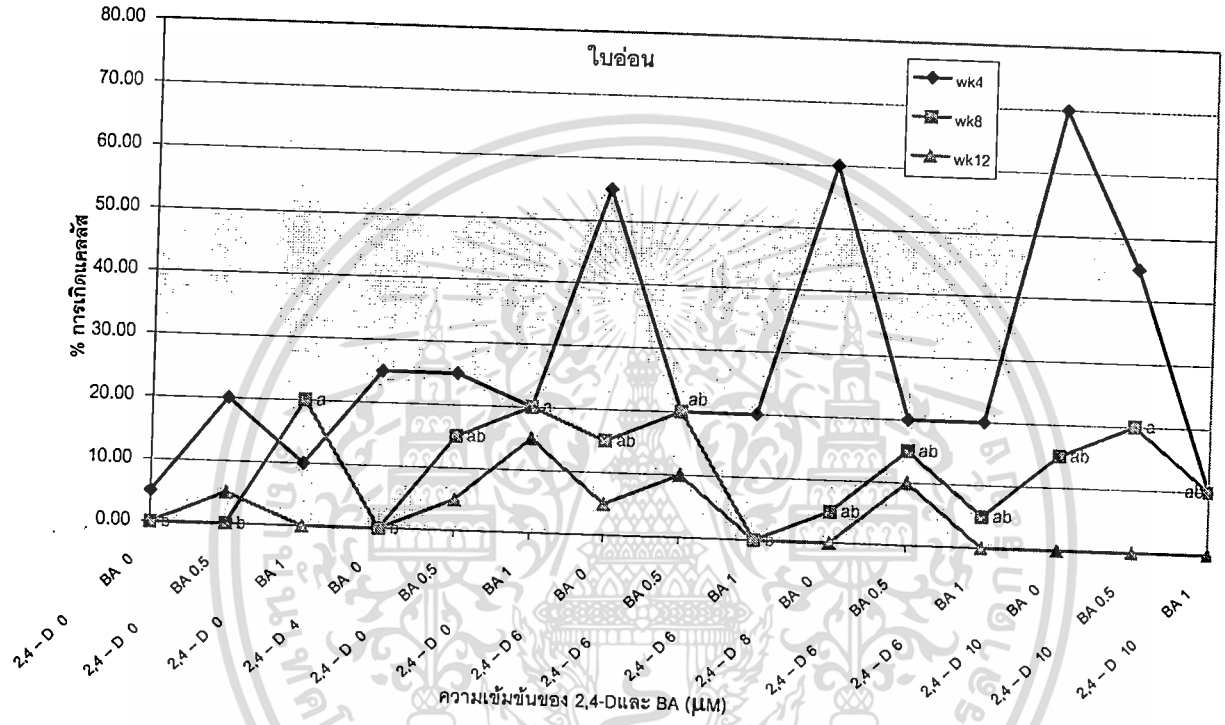
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ * มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

<u>ส่วนใบอ่อน</u>

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส (รูปที่ 12) พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 ชิ้นส่วนมีแคลลัสเกิดขึ้นดีที่สุด โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการใช้ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด 70.00 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ หลังจากนั้นแคลลัสเริ่มตายจนถึงสัปดาห์ที่ 16 โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์แคลลัสตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 12 จนถึง 16 และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสค่อนข้างสูง (r=0.788) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส 55.80 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 13.033 เปอร์เซ็นต์ และได้สมการ linear คือ $y=25.437+2.928x_1-27.000x_2$



ค่าเฉลี่ยบนเส้นกราฟที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

รูปที่ 12 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนใบอ่อนของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส พบว่า เมื่ออายุ 4 สัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ทุกความเข้มข้นแคลลัสมีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีการเจริญเติบโตที่สุดเฉลี่ย 3.96 คะแนน แคลลัสจะเริ่มเกิดที่รอยตัดของชิ้นส่วน มีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ สีขาวใสฉ่ำน้ำ และต่อมาการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ แคลลัสจะมีขนาดใหญ่ขึ้นและเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และแคลลัสทั้งหมดเริ่มตายในสัปดาห์ที่ 8 โดยการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์แคลลัสตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 12 (ตารางที่ 8) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสค่อนข้างสูง (r=0.645) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส 31.80 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 0.420 คะแนน และได้สมการแบบ linear คือ $y = 2.795+9.020x_1-0.160x_2$

ผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA ต่อน้ำหนักสดแคลลัส พบว่า การใช้2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BAความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีน้ำหนักสดดีที่สุดเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ แต่เมื่อสัปดาห์ที่ 8 พบว่าแคลลัสส่วนใหญ่มีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้น โดยการใช้2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์แคลลัสมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นดีที่สุด และการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์แคลลัสยังมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นดีที่สุดจนถึงสัปดาห์ที่ 12 โดยมีน้ำหนักสดแคลลัส 0.45 กรัม และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ (ตารางที่ 8) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อน้ำหนักสดแคลลัส

ตารางที่ 8 คะแนนการเติบโต นน.สดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนใบอ่อน ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 -D ร่วมกับ BAอายุ 12 สัปดาห์

PGR (μM)		คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)	นน.สดแคลลัส (±SE) [1]
2,4 – D 0	BA 0	2.14±0.84	0.13±0.10bc
	0.5	2.20±0.55	0.45±0.08a
	1	2.82±0.49	0.19±0.07b
2,4 – D 4	BA 0	2.10±0.43	0.08±0.05c
	0.5	2.14±0.76	0.10±0.03bc
	1	2.42±0.44	0.13±0.11bc
2,4 – D 6	BA 0	1.89±0.99	0.09±0.03bc
	0.5	2.16±0.59	0.33±0.08a
	1	2.10±0.71	0.10±0.04bc
2,4 – D 8	BA 0	1.85±0.74	0.09±0.02bc
	0.5	2.77±0.78	0.39±0.14a
	1	2.62±0.26	0.12±0.05bc
2,4 – D 10	BA 0	1.76±0.24	0.26±0.08bc
	0.5	1.63±0.45	0.12±0.06bc
	1	1.52±0.51	0.11±0.09bc
	F-test	ns	**
	CV(%)	32.39	24.29

[1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ * มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 ศึกษาความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เหมาะสมต่อการเกิดโซมาติคเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช โดยนำแคลลัสจากการทดลองที่ 2 จากอาหารเพาะเลี้ยงที่ 2,4-D 4 6 8 และ 10 μM ร่วมกับ BA 1 μM มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ลดความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับ คือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM พบว่าการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอ มีดังนี้

<u>แคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 4μM และ BA 1 μM</u>

<u>เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอ</u>

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 4μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM พบว่า ทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์จะเริ่มเกิดโซมาติคเอมบริโอในสัปดาห์ที่ 8 และเกิดเพิ่มขึ้นดีที่สุด 33.33 เปอร์เซ็นต์ในสัปดาห์ที่ 12 ในการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BAความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และโซมาติคเอมบริโอยังตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 ขณะที่การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ โซมาติคเอมบริโอตายทั้งหมด และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอ (รูปที่ 13)

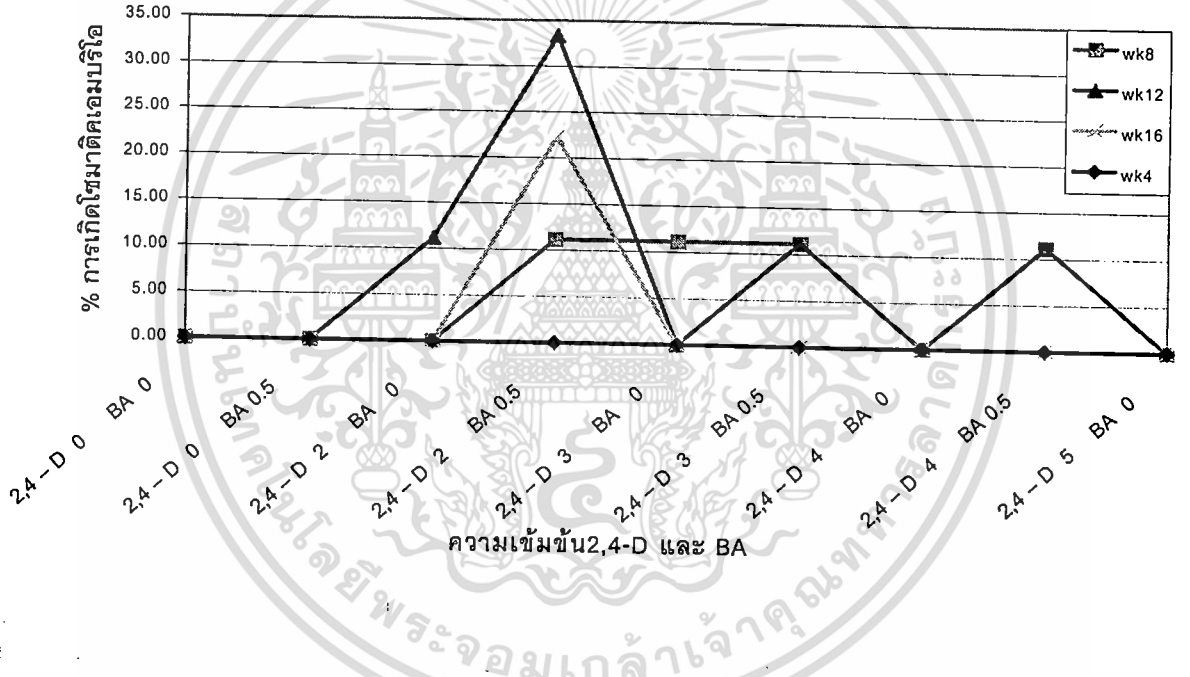
<u>คะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอ</u>

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 4μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM พบว่า ทุกสัปดาห์คะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 9) โดยในสัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีการพัฒนาเล็กน้อย แต่เมื่อสัปดาห์ที่ 8 พบว่า การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 ไมโครโมลาร์แคลลัสมีการพัฒนาเป็นใบ (รูปที่ 2c) ขณะที่การใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 2 และ 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสมีการพัฒนาเป็น proembryo (รูปที่ 17) และเมื่อพิจารณาลักษณะภายในจะเห็นกลุ่มเซลหนาแน่นบริเวณผิวของแคลลัสและนูนขึ้น (รูปที่ 18) และในสัปดาห์ที่ 12 โซมาติคเอมบริโอทั้งหมดมีการเจริญเติบโตลดลง โดยการใช้2,4-D ความเข้มข้น2 ไมโครโมลาร์ร่วมกับ BA ความเข้มข้น0.5 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 8 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ ($r=0.777$) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ 49.10 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์0.039 เปอร์เซ็นต์ และได้สมการแบบ linear คือ $y=1.889-7.473x_1+0.196x_2$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอ

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 4μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM พบว่า ทุกสัปดาห์น้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 9) โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีน้ำหนักสดมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 และลดลงในสัปดาห์ที่ 8 ขณะที่โซมาติคเอมบริโอส่วนใหญ่มีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ 12 โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์โซมาติคเอมบริโอมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นดีที่สุด 0.68 กรัม และลดลงน้อยที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ในสัปดาห์ที่ 12 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อน้ำหนักสด



รูปที่ 13 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกชอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 คะแนนการเจริญเติบโต และ น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เคยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ

ความเข้มข้น(μM)		คะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ (±SE)[1]			น้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอ (g) (±SE)[1]		
		อายุ (สัปดาห์)			อายุ (สัปดาห์)		
		8	12	16	8	12	16
2,4 – D 0	BA 0	1.89±0.16	1.78±0.42	1.33±0.27	0.17±0.06	0.59±0.24	0.22±0.22
	0.5	1.89±0.69	1.44±0.42	1.11±0.16	0.20±0.12	0.68±0.07	0.44±0.11
2,4 – D 2	BA 0	1.78±0.32	1.56±0.16	1.33±0.27	0.20±0.10	0.41±0.10	0.11±0.07
	0.5	1.89±0.31	1.67±0.54	1.55±0.57	0.21±0.06	0.47±0.17	0.12±0.06
2,4 – D 3	BA 0	1.84±0.41	1.44±0.16	1.22±0.16	0.20±0.05	0.31±0.05	0.09±0.04
	0.5	1.66±0.47	1.55±0.32	1.22±0.32	0.32±0.12	0.49±0.07	0.20±0.06
2,4 – D 4	BA 0	1.45±0.32	1.33±0.27	1.11±0.16	0.31±0.02	0.29±0.03	0.10±0.07
	0.5	1.89±0.83	1.56±0.42	1.22±0.32	0.33±0.02	0.42±0.21	0.11±0.10
2,4 – D 5	BA 0	1.44±0.16	1.22±0.16	1.11±0.16	0.29±0.02	0.26±0.08	0.13±0.03
	0.5	1.56±0.16	1.54±0.15	1.22±0.32	0.25±0.04	0.39±0.10	0.14±0.02
F-test		ns	ns	ns	ns	ns	ns
Regression		L**	Lns	Lns	L**	L**	Lns
CV (%)		31.06	26.74	28.96	2.82	4.41	3.96

1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

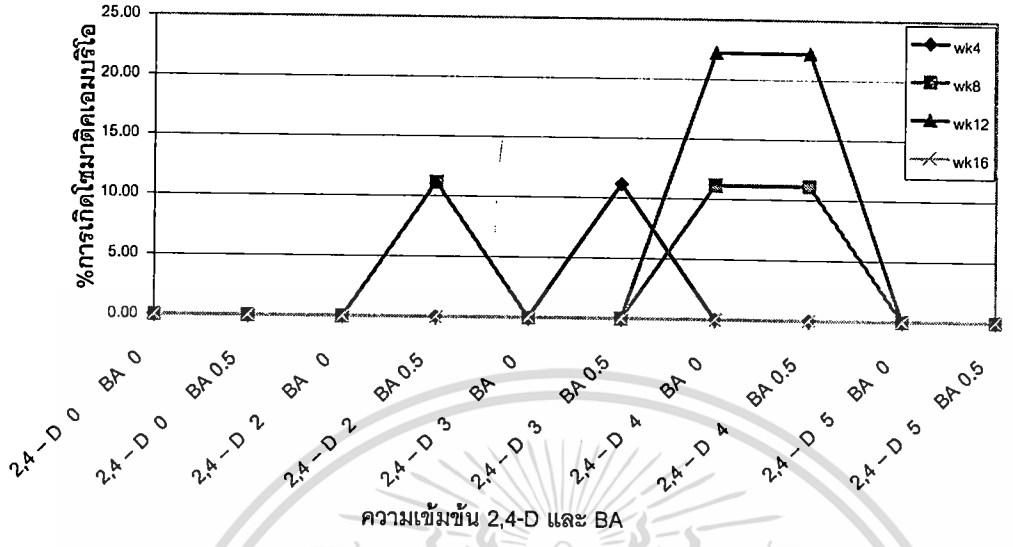
L Linear Q Quadratic C Cubic

แคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 6 μM และ BA 1 μM

เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอ

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 4μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM พบว่า ทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยในสัปดาห์ที่ 4 มีเพียงการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ที่มีโซมาติคเอมบริโอเกิดขึ้นและตายในสัปดาห์ต่อมา ส่วนการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 ไมโครโมลาร์มีโซมาติคเอมบริโอเกิดขึ้นและเกิดในสัปดาห์ที่ 8 และยัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 14 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกชอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ

เกิดเพิ่มขึ้นมากที่สุด 22.22 เปอร์เซ็นต์ในสัปดาห์ที่ 12 และยังพบว่า โซมาติคเอมบริโอตายทั้งหมดในสัปดาห์ที่ 16 และจากการวิเคราะห์ regresion พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอ (รูปที่14)

<u>คะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอ</u>

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 6 μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM พบว่า สัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตดีที่สุด แต่เมื่อสัปดาห์ที่8การใช้2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น4 ไมโครโมลาร์ร่วมกับ BA ความเข้มข้น0.5 ไมโครโมลาร์โซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นดีที่สุด 2.44 คะแนน และมี globular shape เกิดขึ้น (รูปที่ 17b) และเซลภายในมีการรวมตัวอัดกันแน่นเป็นก้อนกลม (รูปที่ 18b) ขณะที่การใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์โซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในทำนองเดียวกัน และโซมาติคเอมบริโอมีการพัฒนาจนเป็น mature embryo (รูปที่ 17e) และเซลภายในมีการพัฒนาเป็นกลุ่มท่อลำเลียง และส่วนปลายแยกออกจากกันพัฒนาเป็นใบ (รูปที่ 18) ส่วนการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ พบว่า โซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตที่ลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 12 และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 10) และในสัปดาห์ที่ 16 พบว่า การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์โซมาติเอมบริโอตายช้าที่สุด และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ (ตารางที่ 10) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ

น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอ

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 6 μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM ร่วมกับ BA พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีน้ำหนักสดดีที่สุดยกเว้นในสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นดีที่สุด 0.55 กรัม แต่อย่างไรก็ตาม การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ทุกความเข้มข้นโซมาติคเอมบริโอจะมีน้ำหนักสดลดลงในสัปดาห์ที่ 16 และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 10) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อน้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอ

ตารางที่ 10 แสดงคะแนนการเจริญเติบโต และ น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เคยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ

ความเข้มข้น(μM)		คะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ (±SE)[1]			น้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอ (g) (±SE)[1]		
		อายุ (สัปดาห์)			อายุ (สัปดาห์)		
		8	12	16	8	12	16
2,4 – D 0	BA 0	1.11±0.16	1.00±0.00	1.00±0.00b	0.13±0.04	0.34±0.01	0.09±0.05
	0.5	1.67±0.27	1.60±0.10	1.33±0.27a	0.13±0.07	0.44±0.17	0.10±0.04
2,4 – D 2	BA 0	1.39±0.08	1.31±0.25	1.00±0.00b	0.12±0.03	0.55±0.27	0.08±0.02
	0.5	1.90±0.42	1.64±0.54	1.00±0.00b	0.17±0.09	0.29±0.10	0.14±0.12
2,4 – D 3	BA 0	1.56±0.16	1.33±0.27	1.00±0.00b	0.18±0.03	0.35±0.15	0.10±0.02
	0.5	1.55±0.32	1.55±0.15	1.00±0.00b	0.34±0.29	0.54±0.33	0.39±0.36
2,4 – D 4	BA 0	1.78±0.63	1.78±0.32	1.11±0.00b	0.16±0.08	0.30±0.07	0.09±0.01
	0.5	2.44±0.79	1.94±0.67	1.17±0.16b	0.13±0.07	0.42±0.11	0.09±0.05
2,4 – D 5	BA 0	1.28±0.21	1.22±0.32	1.00±0.00b	0.14±0.10	0.40±0.10	0.13±0.06
	0.5	1.49±0.28	1.11±0.16	1.00±0.00b	0.22±0.10	0.28±0.13	0.14±0.03
F-test		ns	ns	*	ns	ns	ns
Regression		Lns	Lns	Lns	Lns	Lns	Lns
CV (%)		29.28	28.53	11.47	4.68	5.65	5.13

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

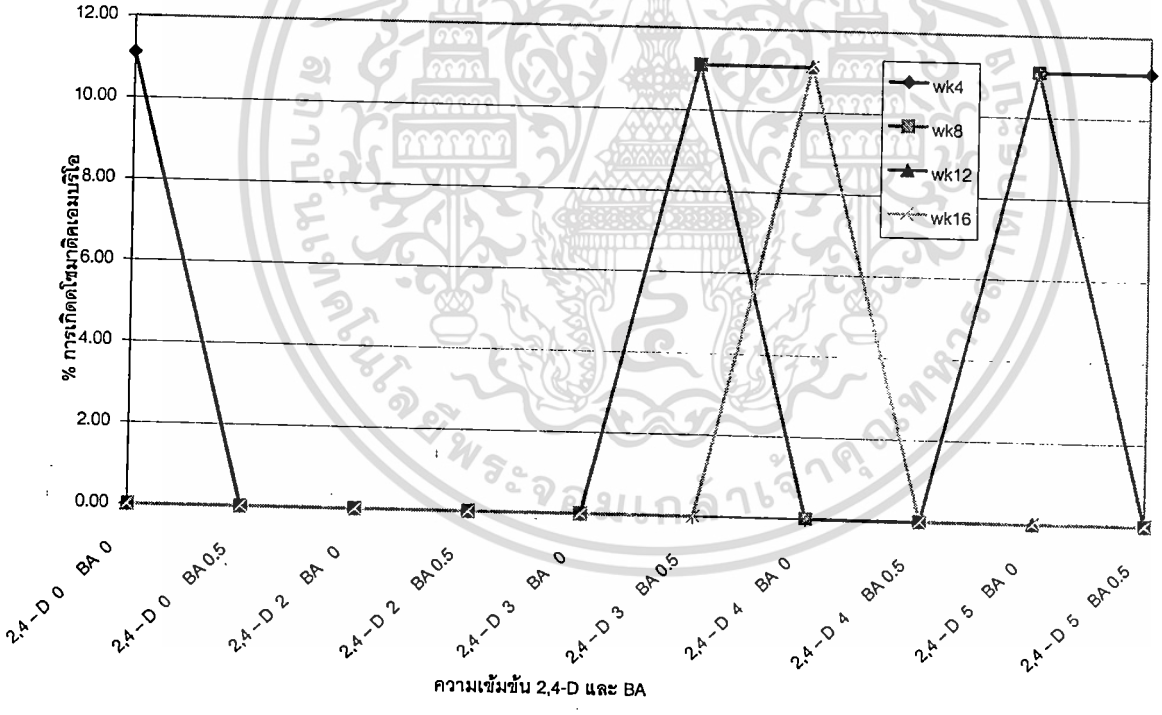
L Linear Q Quadratic C Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 8 μM และ BA 1 μM

เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอ

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 8 μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM พบว่า และเมื่อพิจารณาผลของ 2,4-D ร่วมกับ BA พบว่า ทุกสัปดาห์การเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 และ 12 โดยในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ทุกความเข้มข้นโซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตลดลงจนถึงสัปดาห์ 16 ยกเว้นการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีการพัฒนาถึงระยะ mature embryo (รูปที่ 17e และ 18d) และการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์โซมาติคเอมบริโอตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ



รูปที่ 15 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกชอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอ

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 8 μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM พบว่า ทุกสัปดาห์การเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 11) โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 และ 12 โดยในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ทุกความเข้มข้นโซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตลดลงจนถึงสัปดาห์ 16 ยกเว้นการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีการพัฒนาถึงระยะ mature embryo (รูปที่ 17e และ 18d) และการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์โซมาติคเอมบริโอตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ

น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอ

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 8 μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM ร่วมกับ BA พบว่า การใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอจะมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นดีที่สุดจนถึงสัปดาห์ที่ 12 โดยมีน้ำหนักสด 0.47 กรัมและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 11) แต่เมื่อสัปดาห์ที่ 16 พบว่า การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ทุกความเข้มข้นโซมาติคเอมบริโอมีน้ำหนักสดลดลง โดยการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์น้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอลดลงช้าที่สุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ (ตารางที่ 11) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อน้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอ

แคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 10 μM และ BA 1 μM

เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอ

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 10 μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM พบว่า การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ 2,4-D ความเข้มข้น 3 และ 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 ไมโครโมลาร์ มีโซมาติคเอมบริโอเกิดในสัปดาห์ที่ 4 และบางส่วนเริ่มตายในสัปดาห์ต่อมา ขณะที่การใช้2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ยังเกิดโซมาติคเอมบริโอเพิ่มขึ้นดีที่สุด 22.22 เปอร์เซ็นต์ในสัปดาห์ที่ 12 และโซมาติคเอมบริโอทั้งหมดตายในสัปดาห์ที่ 16 (รูปที่ 16) และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 คะแนนการเจริญเติบโต และ น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอ จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เคยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ

ความเข้มข้น(μM)	คะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ (±SE)[1]			น้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอ (g) (±SE)[1]		
	อายุ (สัปดาห์)			อายุ (สัปดาห์)		
	8	12	16	8	12	16
2,4 – D 0 BA 0	1.44±0.42	1.11±0.16	1.00±0.00	0.23±0.05	0.38±0.07	0.11±0.06b
0.5	1.47±0.41	1.22±0.32	1.00±0.00	0.18±0.04	0.40±0.09	0.11±0.07b
2,4 – D 2 BA 0	1.33±0.00	1.22±0.16	1.00±0.00	0.17±0.05	0.37±0.01	0.14±0.04b
0.5	1.45±0.32	1.33±0.27	1.00±0.00	0.20±0.05	0.37±0.10	0.09±0.41b
2,4 – D 3 BA 0	1.56±0.16	1.45±0.32	1.00±0.00	0.21±0.07	0.40±0.07	0.12±0.05b
0.5	1.78±0.41	1.72±0.55	1.00±0.00	0.27±0.19	0.47±0.12	0.34±0.01a
2,4 – D 4 BA 0	1.67±0.00	1.55±0.57	1.11±0.47	0.23±0.03	0.34±0.02	0.12±0.03b
0.5	1.28±0.21	1.22±0.16	1.00±0.00	0.25±0.05	0.39±0.01	0.10±0.03b
2,4 – D 5 BA 0	1.89±0.31	1.41±0.12	1.00±0.00	0.18±0.03	0.30±0.09	0.15±0.03b
0.5	1.33±0.27	1.11±0.16	1.00±0.00	0.17±0.07	0.26±0.03	0.10±0.03b
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	**
Regression	Lns	Lns	Lns	Lns	Lns	Lns
CV (%)	23.56	29.09	17.66	3.09	3.15	1.92

1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

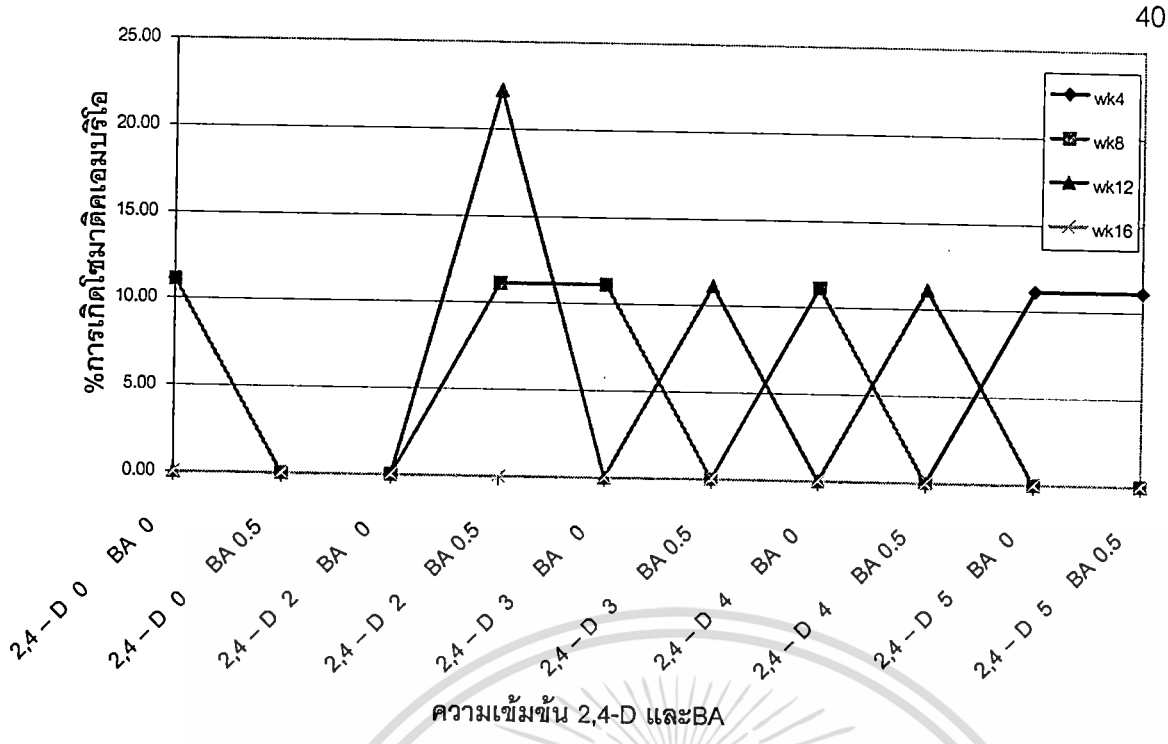
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

L Linear Q Quadratic C Cubic

<u>คะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอ</u>

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 10 μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM พบว่าทุกสัปดาห์การเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่12) โดยเมื่ออายุ 4 สัปดาห์การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมี proembryo เกิดขึ้น (รูปที่ 17a และ 18a) และบ้างชิ้นส่วนมีการพัฒนาไปเป็นต้น แต่ในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า โซมาติคเอมบริโอส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตลดลง ขณะที่การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบเพิ่มขึ้นดีที่สุด 2.34 คะแนน โซมาติคเอมบริโอมีการพัฒนาถึงระยะ globular shape (รูปที่ 17b และ 18b,c) และ mature embryo (รูปที่ 17e และ 18d) และโซมาติคเอมบริโอยังตายช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า ทุกสัปดาห์การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อคะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 16 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกชอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ

น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอ

จากการนำแคลลัสที่เคยเพาะเลี้ยงบน 2,4-D 10 μM และ BA 1 μMมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2,4-D 5 ระดับคือ 0 2 3 4 และ 5 μM ร่วมกับ BA 2 ระดับคือ 0 และ 0.5 μM ร่วมกับ BA พบว่า ทุกสัปดาห์ที่น้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 12) โดยเมื่อสัปดาห์ที่ 4 การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ โซมาติคเอมบริโอมีน้ำหนักสดดีที่สุด และสัปดาห์ต่อมา พบว่า โซมาติคเอมบริโอทั้งหมดมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 12 โดยการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์โซมาติคเอมบริโอมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นดีที่สุด 0.46 กรัม และลดลงช้าที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 และจากการวิเคราะห์ regression พบว่า สัปดาห์ที่ 16 การใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความสัมพันธ์ต่อน้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอปานกลาง ($r=0.682$) โดยความเข้มของ 2,4-D ร่วมกับ BA ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อน้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอ 59.10 เปอร์เซ็นต์ มีความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ 4.045 เปอร์เซ็นต์ และได้สมการแบบ linear คือ $y=4.735+2.095x_1+0.136x_2$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 คะแนนการเจริญเติบโต และ น้ำหนักสดของโซมาติคเอมบริโอ จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เคยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ลงในระดับต่างๆ

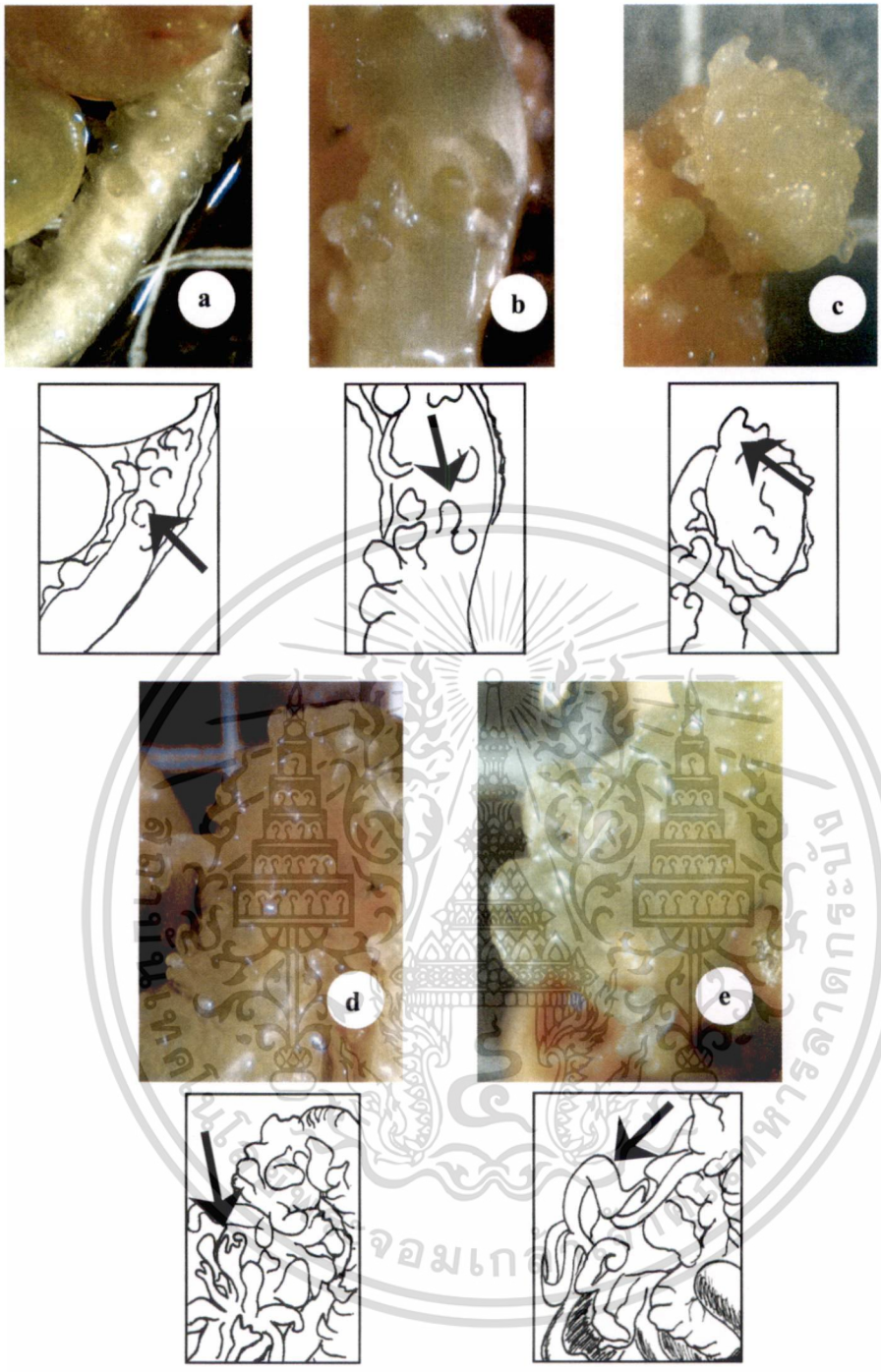
ความเข้มข้น(μM)	คะแนนการเจริญเติบโตโซมาติคเอมบริโอ (±SE)[1]			น้ำหนักสดโซมาติคเอมบริโอ (g) (±SE)[1]		
	อายุ (สัปดาห์)			อายุ (สัปดาห์)		
	8	12	16	8	12	16
2,4 – D 0 BA 0	1.97±0.31	1.11±0.16	1.00±0.00	0.12±0.02	0.33±0.05	0.08±0.05
0.5	1.67±0.27	1.33±0.47	1.00±0.00	0.16±0.06	0.43±0.07	0.09±0.09
2,4 – D 2 BA 0	1.44±0.16	1.22±0.16	1.00±0.00	0.12±0.02	0.22±0.10	0.08±0.05
0.5	2.00±0.19	1.56±0.42	1.00±0.00	0.18±0.11	0.29±0.05	0.14±0.13
2,4 – D 3 BA 0	1.78±0.57	1.33±0.27	1.00±0.00	0.12±0.06	0.31±0.08	0.08±0.03
0.5	1.48±0.27	1.33±0.27	1.00±0.16	0.12±0.03	0.46±0.01	0.24±0.07
2,4 – D 4 BA 0	2.34±0.54	1.56±0.16	1.11±0.00	0.23±0.06	0.31±0.05	0.16±0.05
0.5	1.69±0.54	1.11±0.16	1.00±0.00	0.13±0.06	0.31±0.05	0.15±0.05
2,4 – D 5 BA 0	1.22±0.16	1.11±0.16	1.00±0.00	0.18±0.09	0.26±0.22	0.13±0.06
0.5	1.44±0.16	1.11±0.16	1.00±0.00	0.18±0.07	0.37±0.03	0.25±0.21
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Regression	Lns	Lns	Lns	Lns	Lns	L*
CV (%)	36.97	25.21	5.95	2.84	3.53	4.11

1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

L Linear Q Quadratic C Cubic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



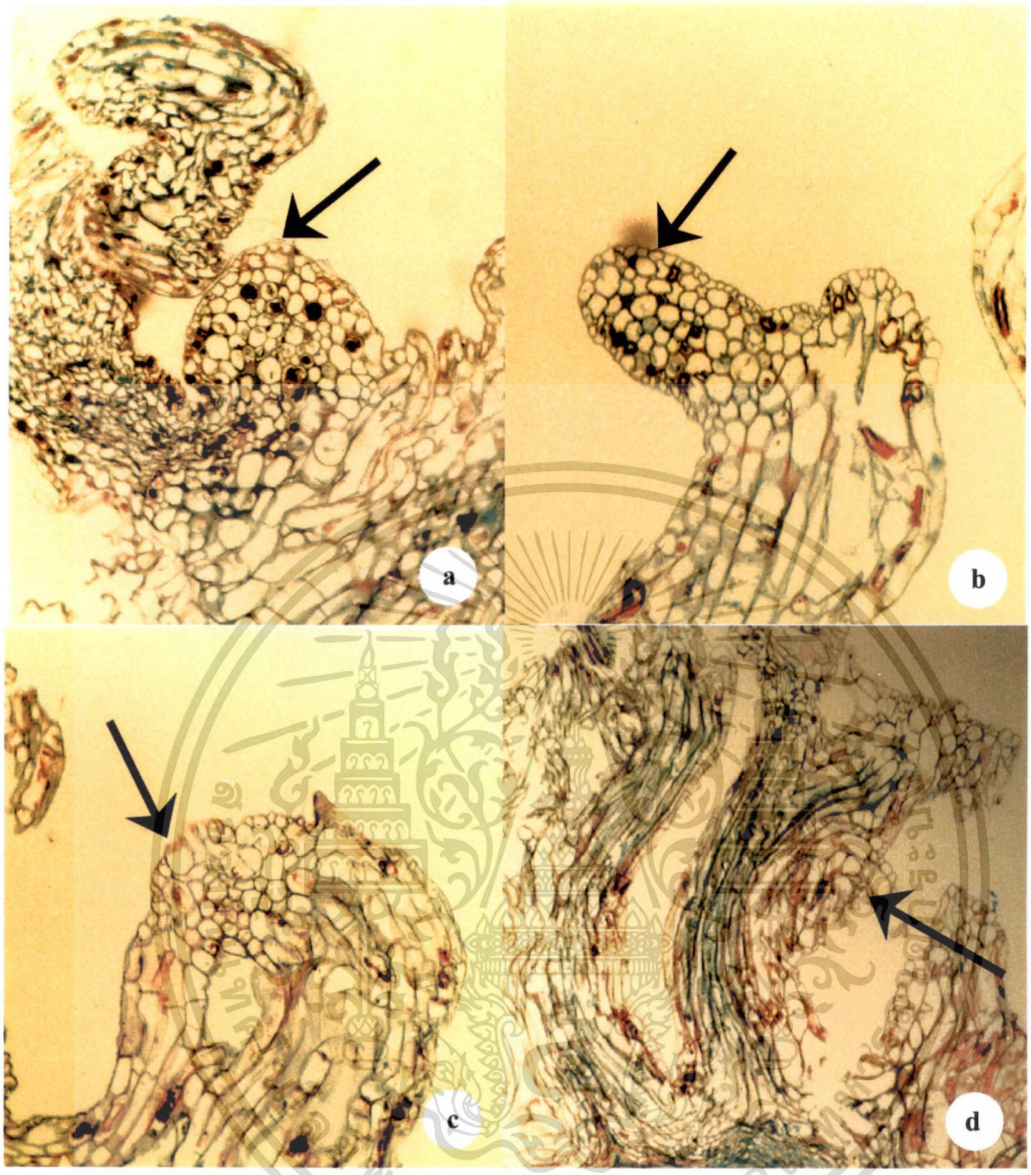
รูปที่ 17 แสดงลักษณะภายนอกของโซมาติคเอมบริโอบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

a proembryo (4.62X) b globular shape (7.81X)

c heart shape (5.80X) d torpedo shape (4.54X)

e mature embryo (7.80X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 18 แสดงลักษณะภายในของโซมาติคเอมบริโอบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

a proembryo (100X) b globular shape I (100X)

c globular shape II (100X) d mature embryo (40X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกช

ผลการศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นและความเข้มข้นของ 2,4-D และ kinetin ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกช พบว่า ส่วนเหนือใบเลี้ยง ตาไหล ใบเลี้ยง และใบอ่อนสามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้ เพราะเป็นบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญ เซลมีการตื่นตัว (active cell) และแบ่งเซลสูง ทำให้เนื้อเยื่อส่วนนี้สามารถพัฒนาไปเป็นแคลลัสได้ (Dixon and Gonzales. 1994) และจากการทดลองส่วนเหนือใบเลี้ยงเป็นส่วนที่ชักนำการเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ และในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 10 ไมโคร์โมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ซึ่งคล้ายกับการชักนำใบเลี้ยง ส่วนใต้ใบเลี้ยง และยอดให้เกิดแคลลัสของแตงโมในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4.5 ไมโคร์โมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 4.6 ไมโครโมลาร์ (Kanchanapoom *et al.*, 1998) และการเกิดแคลลัสของของส่วนใต้ใบเลี้ยงของ *Brassica nigra* บนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 4.6 ไมโครโมลาร์ (Gupta *et al.*, 1990) แต่เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตแคลลัส พบว่า ชิ้นส่วนตาไหลบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโคร์โมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์จะให้แคลลัสที่มีลักษณะดีที่สุด 4.40 คะแนน และแคลลัสยังมีน้ำหนักสดที่ดีกว่า (0.33 กรัม) อาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ทุกความเข้มข้น เพราะ 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์เป็นสัดส่วนที่เหมาะสมสำหรับการชักนำการเกิดแคลลัสตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตบงกช และนอกจากนี้ BA ยังมีคุณสมบัติทำให้แคลลัสมีลักษณะร่วนและฉ่ำน้ำ ขณะที่ kinetin ทำให้แคลลัสมีลักษณะแข็ง คล้ายกับการเกิดแคลลัสของ *Phalaenopsis* Richard Shaffer "Santa Cruz" ได้บนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.4 ไมโครโมลาร์ (Ishii *et al.*, 1997) และการเกิดเอมบริโอจีนิคแคลลัสจากยอดของ loquat (*Eriobotrya japonica*) ในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.2-9.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.2-4.4 ไมโครโมลาร์ (Ho *et al.*, 1986) และการชักนำยอดมันฝรั่งให้เกิดเอมบริโอจีนิคแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 9 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ (Chen *et al.*, 2001) โดยแคลลัสจะเริ่มเกิดขึ้นที่บริเวณรอยตัด เพราะบริเวณรอยตัดมีการตอบสนองต่อสารต่างๆ ได้ก่อนบริเวณอื่น และมีการแลกเปลี่ยนก๊าซได้ดีกว่าเซลข้างใน (คำนูญ กาญจนภูมิ. 2542) ขณะที่ใบอ่อนก็เกิดแคลลัสที่รอยตัดเช่นเดียวกันโดยเฉพาะบริเวณเส้นกลางใบ เพราะเป็นส่วนที่มีเนื้อเยื่อเจริญอยู่ในกลุ่มท่อลำเลียง และในทางตรงกันข้ามใบเลี้ยงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสน้อยที่สุด ทั้งบนอาหารที่เติม kinetin ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ (50 เปอร์เซ็นต์) และ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ (30 เปอร์เซ็นต์) และแคลลัสที่ได้มีลักษณะเป็นเม็ดละเอียดสีขาวใสเกาะกันแน่นบริเวณรอยตัด ซึ่งเป็นแคลลัสที่ไม่สามารถพัฒนาเป็นโซมาติคเอมบริโอได้เพราะเซลใบเลี้ยงเป็นเซลที่มีการสะสมอาหาร ทาให้ไซโตพลาสซึมความเข้มข้นและแวคคิวโอจะมีขนาดเล็ก พื้นที่การแบ่งเซลค่อนข้างจำกัด และในขณะที่มีการแบ่งเซลปริมาณเซลที่เพิ่มขึ้นอาจน้อยกว่าปริมาณเซลเดิม จึงทาให้เซลไม่มีการเจริญเติบโต (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศึกษาการเกิดโซมาติคเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

ผลการศึกษาการชักนำแคลลัสให้เกิดโซมาติคเอมบริโอ พบว่า แคลลัสตาไหลจากการทดลองที่ 2.2 บนอาหารเพาะเลี้ยงที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 6 8 และ 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดโซมาติคเอมบริโอได้เมื่อย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ลดความเข้มข้น 2,4-D เหลือ 2 3 และ 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 ไมโครโมลาร์ ซึ่งคล้ายกับการเกิดโซมาติคเอมบริโอของถั่วพีคานนัท (Pecan nut) บนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 9.04 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.11 ไมโครโมลาร์ และย้ายไปบนอาหารที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต (Merkle *et al.*, 1987) และจากการศึกษาพบว่า แคลลัสจากอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ลดความเข้มข้น 2,4-D 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ จะมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอดีที่สุด 33.33 เปอร์เซ็นต์ เพราะการลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตจะชักนำให้เกิดขั้ว (bipolar) ที่จะพัฒนาไปเป็นยอดและราก ซึ่งง่ายต่อการเกิดโซมาติคเอมบริโอ (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540) แต่ขณะเดียวกันแคลลัสจากการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ และย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ร่วมกับ BA ความเข้มข้น0 และ0.5 ไมโครโมลาร์ พบว่า โซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตดีที่สุด 2.44 คะแนน โดยมี globular shape เกิดขึ้นและพัฒนาจนเป็น mature embryo ในสัปดาห์ต่อมา เพราะการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA ในความเข้มข้นที่ลดลงกว่าความเข้มข้นเดิม (2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์) จะมีคุณสมบัติกระตุ้นในการแบ่งเซล (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540) คล้ายกับการเกิดโซมาติคเอมบริโอของถั่วมะแฮะ (*Cajanus cajan*) บนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6.7 ไมโครโมลาร์ และย้ายไปบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4.5 ไมโครโมลาร์ (Anbazhagan and Ganapathi. 1999) ขณะที่การใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสส่วนใหญ่จะพัฒนาไปเป็นยอดและราก เพราะภายในชิ้นส่วนพืชสามารถสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตได้เอง (ออกซินและไซโตไคนิน) เมื่ออยู่ในสภาวะที่สมดุลย์หรือปริมาณสัมพันธ์กับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใส่ลงไปในอาหารชิ้นส่วนพืชก็พัฒนาได้เช่นเดียวกัน (ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524) และการใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 ไมโครโมลาร์ แคลลัสไม่มีการพัฒนาและตายในเวลาต่อมา เพราะแม้ว่า 2,4-D จะเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่สำคัญในการชักนำการเกิดแคลลัสก็ตาม หากว่าแคลลัสยังอยู่บนอาหารที่มี 2,4-D ความเข้มข้นสูง (5 ไมโครโมลาร์) เป็นเวลานาน 2,4-D จะเป็นพิษมีผลไปยับยั้งการพัฒนาแคลลัส และแคลลัสจะตายในเวลาต่อมา (นวลน้อย บรมรัตนพงศ์. 2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นแคลลัสจากทุกชิ้นส่วนจะเริ่มตายเมื่ออายุ 8 สัปดาห์ และแคลลัสตาไหลในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์อายุ 8 สัปดาห์เป็นแคลลัสที่มีลักษณะดีที่สุดเหมาะสำหรับชักนำการเกิดโซมาติคเอมบริโอ

ตารางที่ 13 แสดงการเกิดแคลลัสของส่วนเหนือใบเลี้ยง ตาไหล ใบเลี้ยง และใบอ่อนของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

ชิ้นส่วน	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส (%)	การเจริญเติบโตแคลลัส (คะแนน)	น้ำหนักสดแคลลัส (g)
		MS + 2,4-D + kinetin	
ส่วนเหนือใบเลี้ยง	100.00	5.43[1]	0.17[3]
	(4 + 2)	(4 + 2)	(10 + 3)
ตาไหล	75.00	4.30	0.16[3]
	(6 + 0)	(8 + 2)	(4+ 2)
ใบเลี้ยง	55.00	3.70	0.29
	(4+ 0, 0+4)	(0 + 3, 0+4)	(0 + 2)
ใบอ่อน	91.00	4.92	0.24[2]
	(4 + 1)	(4 + 3)	(4 + 2)
		MS + 2,4-D + BA	
ส่วนเหนือใบเลี้ยง	100.00	5.60	0.14[2]
	(10 + 0.5)	(10 + 0,5)	(10 + 0.5)
ตาไหล	70.00	4.40[2]	0.33[3]
	(4 + 1)	(4 + 1)	(4+1)
ใบเลี้ยง	30.00	3.25	0.22[2]
	(0 + 1)	(0 + 0.1, 4 + 0, 8 + 1)	(8 + 0)
ใบอ่อน	70.00	3.96	0.46[3]
	(10 + 0)	(10 + 0)	(0 + 0.5)

ไม่มีตัวเลขกำกับ อายุ 4 สัปดาห์ [1] อายุ 8 สัปดาห์

[2] อายุ 12 สัปดาห์ [3] อายุ 16 สัปดาห์

ตัวเลขในวงเล็บ ความเข้มข้น (μM) ของ 2,4-D ร่วมกับ kinetin และ BA ที่ชักนำให้เกิดแคลลัส

การเกิดโซมาติคเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

จากการศึกษาการชักนำการเกิดโซมาติคเอมบริโอจากแคลลัสตาไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช และย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้น 2,4-D และ BA เป็นเวลานาน 16 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสตาไหลจาก 2,4-D ความเข้มข้น 4 6 8 และ 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดโซมาติคเอมบริโอได้ (ตารางที่ 14) โดยแคลลัสจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ จะมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอดีที่สุด 33.33 เปอร์เซ็นต์เมื่อสัปดาห์ที่ 12 ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และแคลลัสจากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 ไมโครโม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 สูตรอาหาร Murashige and skoog (1962)

สารเคมี	ปริมาณ (มก./ล.)
$(NH_4)NO_3$	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4$	370
KH_2PO_4	170
$FeSO_4.7H_2O$	27.8
Na_2EDTA	37.3
$MnSO_4.7H_2O$	22.3
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
H_3BO_3	6.2
KI	0.83
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Myo – inosital	100
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine.HCl	0.5
Thiamine.HCl	0.1
Glycine	2.0
Sucrose	30,000
pH	5.5 – 5.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2534. ทะเบียนผู้ประกอบการไม้ดอกไม้ประดับ 2534. กรุงเทพ ฯ : กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ. กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร.

นวลน้อย บรมรัตนพงศ์. 2536. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. ลพบุรี : สำนักส่งเสริมจัดการวิทยาลัยครูเทพสตรี.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. หลักและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ : หลักการและเทคนิค. กรุงเทพฯ : สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุเม อรัญนารถ. 2540. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดต้นบัวหลวงในสภาพปลอดเชื้อ. รายงานการประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับแห่งชาติครั้งที่ 3 11-13 ธันวาคม 2540. 175 หน้า.

อุทัย สินธุสาร.2525. สารานุกรมไม้ประดับในประเทศไทย เล่ม 3. อมรินทร์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

Anbzhagzn, V.R. and Ganapathi, A. 1999. "Somatic Embryogenesis in Cell Suspension Cultures of Pigeonper (*Cajanus cajan*)." Plant Cell Tissue and Organ Culture. 56 (3) : 179-184.

Arunyanart, S. 1998. *In Vitro* Culture of Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) Suppl. J. Japan. Soc. Hort. Sci 67 (1) : 257.

Beruto, M. and P. Debergh. 1992. Somatic embryogenesis in *Ranunculus asiaticus* L. hybr. Thalamus cultivated *in vitro*. Plant. Cell. Tissue and Organ Culture 29 : 161 - 165

Burkill,I.H. 1966. A Dictionary of the Economic Products of theMalay Pininsula Vol.II Ministryof Agriculture and Cooperatives,Kuala Lumpur.

Chen, L. *et al.* 2001. "Effect of Sugar and Basal Medium Concentration on Sweetpotato Somatic Embryogenesis." HortScience. 36(3) : 493-494.

Dixon, R.A. and Gonzales, R.A. 1994. Plant Cell Culture : a Practical Approach. New York : TRL Press.

Fukui, H. and K. Imaida. 1996. Somatic embryogenesis in Rosa hybrid L. cv. Barkarole. Research - Bulletin of the Faculty of Agicultune Gifer University. 61 : 25 - 30.

Gupta, V. *et al.* 1990. "Plant Regeneration from Callus and Protoplasts of *Brassica nigra* (IC 257) through Somatic Embryogenesis." Plant Cell Reports. 9 : 427 – 430.

Ho, W. Ghang and S.Huang. 1986. "Plant Regeneration Via Somatic Embryogenesis in Callus Culture of Loquat." http://www.actahort.org/books/175/175_35.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้