

**สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง**

**การศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ  
อุบลชาติพันธุ์ Hillary**

**STUDY ON SUITABLE STATE OF MEDIA FOR TISSUE CULTURE OF  
*Nymphaea* 'HILLARY'**



เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน..... 1 ก ๑๑๗๑  
วัน,เดือน,ปี...-2 ต.ค. 2553

b.....
i.....

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาพืชสวน  
บัณฑิตวิทยาลัย  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ.2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY ON SUITABLE STATE OF MEDIA FOR TISSUE CULTURE OF  
*Nymphaea* 'HILLARY'



A SPECIAL PROBLEM SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE  
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ การศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุบลชาติพันธุ์  
'Hillary'  
ชื่อนักศึกษา นางสาววีรา คล้ายพุก  
รหัสประจำตัว 46062609  
ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต  
สาขา พืชสวน  
พ.ศ. 2548  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สุเม อรัญนารณ

#### บทคัดย่อ

จากการศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอ่อนที่กำเนิดจากกลางใบ (viviparous plants) ของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ในอาหารสูตร ½ MS ที่เติม 2iP 30 µM, NAA 10 µM และ BA 10 µM ในสถานะอาหารแข็ง อาหารเหลว อาหารเหลว wick paper อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และอาหารเหลวบนอาหารแข็ง หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์พบว่า อุบลชาติที่เลี้ยงในอาหารเหลวมีระดับการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่อเทียบกับสถานะอาหารอื่นๆ คือ มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 1.12 กรัม มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 5.25 ใบ มีขนาดใบกว้าง X ยาวเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.47 X 0.56 เซนติเมตร และจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 8.8 ยอด แต่ไม่พบการเกิดรากในทุกๆสถานะอาหาร

Special Problem Title Study on Suitable State of Media for Tissue Culture of *Nymphaea* 'Hillary'

Student Miss Veera Klaipuk

Student ID 46062609

Degree Master of Science

Program Horticulture

Year 2005

Special Problem Advisor Assist.Prof.Dr.Sumay Arunyanart

### ABSTRACT

The suitable state of media for tissue culture of *Nymphaea* 'Hillary' was carried out. Viviparous plants were excised and cultured on half strength Murashige and Skoog medium(1962) containing 2ip 30  $\mu$ M, NAA 10  $\mu$ M and BA 10  $\mu$ M in solid medium, liquid medium, liquid medium with wick paper, semi-solid medium and liquid on solid medium. After 6 weeks of incubation, the highest weight (1.12 g.) of shoots, the maximum number of leaves (5.25 leaves) and shoots (8.8 shoots) were obtained when viviparous plants cultured on liquid media. There were no root induction on all media.

## คำนิยม

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุเม อรัญนารต อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนสำเร็จไปได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณ ดร.เสริมลาภ วสุวัต ที่ได้กรุณาพิมพ์และจัดพิมพ์และให้คำปรึกษาตลอดจนข้อมูลต่างๆ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ ด้วย รวมไปถึง รุ่งพี รุ่งน้อง และเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการที่ได้ช่วยเหลือทั้งร่างกายแรงใจและให้คำปรึกษาที่ดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาสถานที่ในการปฏิบัติงานจนปัญหาพิเศษชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี  
สุดท้าย ขอขอบพระคุณมารดา ผู้ช่วยเหลือและให้การสนับสนุนการศึกษามาโดยตลอด

วีรา คล้ายพุก  
มิถุนายน 2548



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง.....	(iii)
สารบัญรูป.....	(iv)
สารบัญตารางภาคผนวก.....	(v)
คำย่อและสัญลักษณ์.....	(vi)
<b>บทที่ 1 บทนำ.....</b>	<b>1</b>
1.1.ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2.วัตถุประสงค์การศึกษา.....	1
1.3.ขอบเขตการศึกษา.....	1
1.4.ขั้นตอนการศึกษา.....	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	<b>3</b>
2.1.ความรู้เกี่ยวกับบัวอุบลชาติ.....	3
2.1.1.ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....	3
2.1.2.ลักษณะทั่วไปของอุบลชาติ.....	3
2.2.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	6
2.3.งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน.....</b>	<b>11</b>
3.1.อุปกรณ์.....	11
3.2.วิธีการ.....	12
3.3.การบันทึกข้อมูล.....	13
3.4.การวิเคราะห์ข้อมูล.....	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.สถานที่ดำเนินงาน.....	13
3.6.ระยะเวลาที่ทำการทดลอง.....	13
<b>บทที่ 4 ผลการทดลอง.....</b>	<b>14</b>
4.1.ผลการทดลอง.....	14
4.2.วิจารณ์ผลการทดลอง.....	18
<b>บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....</b>	<b>25</b>
บรรณานุกรม.....	26
ภาคผนวก.....	29



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงจำนวนใบเฉลี่ย และขนาดใบ(กว้างxยาว)เฉลี่ย ของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ที่เพาะเลี้ยงในสถานะอาหารต่างๆ.....	19
4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และจำนวนยอดเฉลี่ย ของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ที่เพาะเลี้ยงในสถานะอาหารต่างๆ เมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	20
4.3 แสดงน้ำหนักเฉลี่ยของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ที่เพาะเลี้ยง ในสถานะอาหารต่างๆ เมื่ออายุ 4 และ6 สัปดาห์.....	21



## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
4.1 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตในสถานะอาหารต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์.....	22
4.2 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลว เมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	23
4.3 แสดงลักษณะชิ้นส่วนของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ที่เลี้ยงในอาหารแข็งที่มีลักษณะของก้านใบที่เรียวยาวแหลมเมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	23
4.4 แสดงลักษณะชิ้นส่วนของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ที่เลี้ยงในอาหารแข็งที่มีลักษณะของก้านใบที่ป้อมสั้นเมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	23
4.5 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่ใบไม่สามารถเจริญเหนือผิวน้ำได้ และมีก้านใบยาวในสถานะอาหารเหลวบนอาหารแข็งเมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	24
4.6 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่ใบไม่สามารถเจริญเหนือผิวน้ำได้ ในสถานะอาหารเหลวบนอาหารแข็งเมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	24
4.7 แสดงลักษณะต้นอ่อนของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ที่แยกได้เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวนาน 6 สัปดาห์.....	24
4.8 ยอดที่เกิดจากใบ(epiphyllous plantlet) ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	24

## สารบัญตารางภาคผนวก

### ตารางภาคผนวกที่

1. สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog)(1962).....	29
2. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อการเกิดจำนวนใบของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 1 สัปดาห์.....	30
3. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อการเกิดจำนวนใบของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 2 สัปดาห์.....	30
4. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อการเกิดจำนวนใบของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 3 สัปดาห์.....	31
5. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อการเกิดจำนวนใบของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 4 สัปดาห์.....	31
6. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อการเกิดจำนวนใบของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 5 สัปดาห์.....	32
7. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อการเกิดจำนวนใบของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	32
8. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อการเกิดจำนวนยอดของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	33
9. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อขนาดใบกว้างของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	33
10. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อขนาดใบยาวของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	34
11. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อน้ำหนักของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 4 สัปดาห์.....	34
12. วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพล ต่อน้ำหนักของอบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....	35

## คำย่อและสัญลักษณ์

MS	สูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962)
½ MS	สูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962) ที่มีความเข้มข้นของสารเคมีเพียงครึ่งหนึ่ง
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
2iP	N <sup>6</sup> -(2-iso-pentyl) adenine
ABA	Abscisic acid
BA	Benzyladenine
GA <sub>3</sub>	Gibberellin
IAA	Indole acetic acid
NAA	Napthalene acetic acid
TDZ	Thidiazuron
µM	micromolar
mM	millimolar
∅	เส้นผ่าศูนย์กลาง
%	percent



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1.ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อบลชาติ เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายฤดูที่อยู่ในวงศ์ Nymphaeaceae (Gilbert. 1982) มีความแตกต่างทางด้านสีสัน กลิ่น ขนาด และลักษณะจำเพาะในแต่ละชนิด ทำให้นิยมนำไปจัดสวนน้ำกันอย่างแพร่หลาย (Thomas.1958 ; Masters.1974) อบลชาติเป็นพรรณไม้น้ำที่สำคัญในเชิงการค้าแต่ขยายพันธุ์ยากและเสียค่าใช้จ่ายสูง (Jenks *et al.* 1990) การขยายพันธุ์โดยการแยกหน่อทำให้เกิดการกระจายตัวของพืชที่เป็นโรค (Lakshmanan. 1994)

ด้วยสภาพปัญหาดังกล่าว จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเทคนิคที่สามารถขยายพันธุ์อบลชาติได้อย่างรวดเร็ว การขยายพันธุ์พืชชนิดต่าง ๆ นั้นมีจุดมุ่งหมายที่จะเพิ่มปริมาณของพืชนั้นๆ ให้มีเพียงพอต่อความต้องการ ยิ่งหากทำเพื่อการค้าแล้ว การขยายพันธุ์ที่รวดเร็วและมีปริมาณสูงสุดย่อมเป็นวิธีที่ผู้ทำการค้าต้องการมากที่สุด(นิรนาม.2544)โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการขยายพันธุ์ได้ในพืชแทบทุกชนิด แต่พบว่าในปัจจุบันงานวิจัยทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของอบลชาติมีจำนวนน้อยมาก(Lakshmanan. 1994) และเป็นงานวิจัยที่ทำในต่างประเทศ จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมตามสายพันธุ์ในประเทศไทย โดยทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งรวมถึงสถานะอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงด้วย โดยงานวิจัยชิ้นนี้จะทำการศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอบลชาติพันธุ์ Hillary ที่สามารถขยายพันธุ์โดยการแตกต้นอ่อนบนใบได้ ซึ่งจะเป็นพื้นฐานในการพัฒนาและแก้ปัญหาปริมาณการผลิตต้นพันธุ์อบลชาติ ตลอดจนงานปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต

#### 1.2.วัตถุประสงค์การศึกษา

เพื่อศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออบลชาติพันธุ์ Hillary

#### 1.3.ขอบเขตการศึกษา

ศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออบลชาติสายพันธุ์ Hillary

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.4. ขั้นตอนการศึกษา

แบ่งออกเป็นขั้นตอนดังนี้

1.4.1. ตรวจสอบเอกสาร

1.4.2. จัดเตรียมอุปกรณ์

1.4.3. ทำการทดลอง

1.4.4. วิเคราะห์ข้อมูล

1.4.5. จัดทำรูปเล่ม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1. ความรู้เกี่ยวกับบัวอุบลชาติ

##### 2.1.1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

บัวอุบลชาติมีชื่อสามัญว่า water lily อยู่ในสกุล Nymphaea ซึ่งมีกระจายทั่วไปในเขตอบอุ่นเหนือและใต้ รวมทั้งเขตร้อน ลักษณะทั่วไปเป็นไม้ล้มลุกขนาดใหญ่ มีอายุหลายปี ลำต้นเจริญเติบโตในดินซึ่งจะอาศัยอยู่ในน้ำได้ลึก (จารีย์ หอยทอง, 2519 ; เสริมลาก วสุวัต, 2537) สามารถแบ่งบัวอุบลชาติออกเป็น 2 ประเภทตามถิ่นกำเนิดดังนี้ (เสริมลาก วสุวัต, 2547)

1.อุบลชาติยืนต้น(castalia group, hardy type, hardy water-lily) หรือเรียกว่า “บัวฝรั่ง” เพราะมีถิ่นกำเนิดในเขตอบอุ่นและเขตหนาว มีการเจริญเติบโตเป็นเหง้าตามผิวดินสามารถแตกหน่อ (sprout) และเจริญเติบโตแยกแขนงเป็นเหง้าใหม่-ต้นใหม่ได้ ถ้าน้ำแห้ง เหง้าจะหยุดการเจริญเติบโตและแตกต้นใหม่ในฤดูฝนเช่นเดียวกับบัวหลวง

2.อุบลชาติล้มลุก(lotus group, tropical type, tropical water-lily) มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนเท่านั้น ถ้าปลูกในเขตหนาว เมื่อถึงฤดูหนาวจะตาย จึงเรียกว่า อุบลชาติล้มลุก แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มย่อย

2.1.อุบลชาติบานกลางวัน(tropical day blooming waterlily) ได้แก่ บัวผัน บัวเผื่อน จงกลณี บัวนางกวัก(indian goddess waterlily) และบัวยักษ์ออสเตรเลีย(australian giant waterlily)

2.2.อุบลชาติล้มลุกบานกลางคืน(tropical night blooming waterlily) ได้แก่ บัวสาย

2.3.บัวกระดังหรือบัววัดตอเรีย

##### 2.1.2. ลักษณะทั่วไปของอุบลชาติ (เสริมลาก วสุวัต, 2537)

###### 1.ใบ

1.1.รูปร่าง (leaf form) ที่พบได้ทั่วไปมี 2 ลักษณะ คือ รูปวงกลม(orbicular) และรูปไข่ (ovate)

1.2.ขนาด (size) คือ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของใบที่แก่เต็มที่ ณ จุดที่ซัวใบ ขนาดอาจแปรปรวนไปได้บ้าง ขึ้นอยู่กับสภาพการปลูกและการดูแลรักษา การให้ขนาดจึงให้ค่าระหว่างกลาง

1.3.ขอบใบ (leaf margin) มี 4 ลักษณะ คือ ขอบใบเรียบ(entire) ขอบใบเรียบย่น (undulate) ขอบใบจักมนไม่เป็นระเบียบ(crenate) และขอบใบจักแหลมเป็นระเบียบ(dentate)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.หูใบ (leaf bases) โดยทั่วไปมี 3 ลักษณะ ซึ่งสังเกตจากใบแก่เต็มที่ คือ หูใบปัด (sagittate) หูใบเปิด(cordate) และหูใบเปิดมาก(กางเกิน 30 องศา) แต่อาจมีลักษณะพิเศษอื่น เช่น หูใบปัดส่วนบน ปลายหูเปิด 1 ใน 3 ปัด 1 ใน 2 หรือ 2 ใน 3 ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของพันธุ์

1.5.ปลายใบ (leaf apices) มี 3 ลักษณะ คือ ปลายใบมน (obtuse) ปลายใบเว้าเข้า (retuse) และปลายใบแหลม(acute)

1.6.สีใบด้านบนและด้านล่าง(upper and lower surface leaf colour) มักจะแตกต่างกัน ทั้งใบอ่อนและใบแก่เต็มที่

1.7.ใบมีขน(pubescent)และไม่มีขน(non-pubescent)

## 2.ดอก

2.1.กลิ่น(fragrant) อุบลชาติล้มลุกบานกลางวัน ได้แก่ บัวผันและบัวเผื่อน ส่วนมากจะมีกลิ่นหอม ส่วนพวkbานกลางคืน คือพวกบัวสาย และอุบลชาติเย็นต้นหรือบัวฝรั่ง ส่วนมากไม่มีกลิ่น

2.2.การเปลี่ยนสี(changeables) คือลักษณะสีดอกที่มีการเปลี่ยนแปลงไปตั้งแต่วันแรกจนวันสุดท้าย ส่วนมากพบในอุบลชาติเย็นต้นหรือบัวฝรั่ง

2.3.สีของกลีบเลี้ยง(sepal colour) กลีบเลี้ยงดานนอกบางพันธุ์ นอกจากจะมีสีเขียวแล้วยังมีลายเส้นหรือจุดประบนกลีบเลี้ยงด้วย ด้านในส่วนใหญ่จะมีสีเขียวเดียวกับกลีบดอก

2.4.สีกลีบดอก(petal colour)

2.5.รูปร่างกลีบเลี้ยงและกลีบดอก(shape) ส่วนมากมี 3 ลักษณะ คือ

- กลีบเรียวยาว ปลายเรียวแหลม หรือมน(linear)
- โคนและปลายกลีบแคบ กลีบเรียว ปลายแหลมหรือมน(elliptic)
- โคนกลีบครึ่งล่างกว้าง ครึ่งปลายเรียวแหลมหรือมน(ovate)

2.6.ความซ้อน(doubleness) แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

- ซ้อนน้อย คือมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกรวมกันไม่ถึง 20 กลีบ
- ซ้อน คือมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกรวมกัน 20 –30 กลีบ
- ซ้อนมาก คือมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกรวมกันมากกว่า 30 กลีบ

2.7.ขนาด(size) คือขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของดอกเมื่อบานเต็มที่ ซึ่งขึ้นกับสภาพการปลูกและการดูแลรักษา

2.8.ทรงดอก(form) มี 2 ระยะ คือ

- ทรงดอกตูม มี 3 ลักษณะ คือ ทรงดอกยาว ทรงดอกค่อนข้างป้อม และทรงดอกป้อม
- ทรงดอกบาน มี 3 ลักษณะ คือ ทรงป้อมรูปถ้วย ทรงแผ่ครึ่งวงกลม และแผ่ค่อนข้างกลม

2.9.สีของเกสรตัวเมีย ก้านชูและอับเกสรตัวผู้ คือสีส่วนต่างๆของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียเมื่อดอกบานเต็มที่

2.10.ช่วงเวลาการบานของดอกอุบลชาติ เป็นพฤติกรรมทางสรีรวิทยาของพืช ซึ่งขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม คือ ความเข้มของแสง และช่วงเวลาของแสงที่บัวได้รับ ดังนั้นช่วงเวลาในการบานและหุบของบัวพันธุ์เดียวกันจะไม่เหมือนกัน ถ้าปลูกในที่ต่างกัน

2.11.ความดกของดอก การออกดอกของบัวมี 3 ลักษณะคือ

- ทอยออกตามกันไป (indeterminate)
- ออกดอกเป็นชุดๆ (determinate) คือแต่ละชุดจะออกดอกมาพร้อมกัน 2-4 ดอกแล้วหยุดไประยะหนึ่ง จึงออกชุดใหม่
- ทอยออกและ/หรือออกเป็นชุด อาจพร้อมกันหรือไม่ก็ได้ ขึ้นกับสภาพแวดล้อม แต่ไม่ค่อยพบมากนัก

3.ก้านใบ(petiole) ก้านดอก(peduncle)

3.1.สี(colour) ตรวจสอบที่ก้านดอกในวันแรกที่บาน หรือก้านใบที่แก่เต็มที่

3.2.ขน(pubescent) เป็นลักษณะแรกที่จำแนกพันธุ์ได้ทันที อุบลชาติล้มลุกพวกบัวผันและบัวเผื่อน ส่วนใหญ่จะไม่มีขน แต่บัวสายส่วนใหญ่ยังมีขนอยู่บ้าง อุบลชาติยืนต้นหรือบัวฝรั่งมีทั้งมีขน-ไม่มีขน โดยขนมี 2 ลักษณะ คือ ขนสั้น-บาง และขนยาว-หนา

4.การเพาะปลูก

4.1.ความต้องการแสง คือ ช่วงระยะเวลาที่ได้รับแสงแดด แล้วทำให้ออกดอกเต็มที่ มี 3 ระดับ คือ

- แสงแดดเต็มที่ คือ การปลูกบัวให้ได้รับแสงแดดติดต่อกันในแต่ละวัน ตั้งแต่ 5 ชั่วโมงขึ้นไป
- แสงแดดปานกลาง คือ การปลูกบัวให้ได้รับแสงแดดในตอนเช้าหรือบ่ายติดต่อกันไม่น้อยกว่า 4 ชั่วโมงแต่ไม่เกิน 5 ชั่วโมงในแต่ละวัน
- แสงแดดกึ่งร่มกึ่งแดด คือ การปลูกบัวให้ได้รับแสงแดดบ้าง หรือร่มบ้างสลับกันตลอดวัน

4.2.ความต้องการพื้นที่ปลูก หมายถึง ความกว้างของพื้นที่ของผิวน้ำ สำหรับการแผ่กระจายของใบและดอก มี 3 ระดับ คือ

- ความกว้างน้อย คือ พื้นที่ของผิวน้ำระหว่าง 0.1-0.5 ตารางเมตร หรือตั้งแต่ 30 เซนติเมตรขึ้นไป

- ความกว้างปานกลาง คือ พื้นที่ผิวน้ำระหว่าง 0.5-1 ตารางเมตร หรือตั้งแต่ 50 เซนติเมตรขึ้นไป

- ความกว้างมาก คือ พื้นที่ผิวน้ำ ตั้งแต่ 1 ตารางเมตรขึ้นไป

4.3. ความลึกของระดับน้ำที่ต้องการ หมายถึง ความลึกจากผิวน้ำดินที่ปลูกถึงผิวน้ำ มี 3 ระดับ คือ

- น้ำตื้น คือ การปลูกบัวในระดับน้ำระหว่าง 10-50 เซนติเมตร หรือในระดับที่พอเหมาะ (optimum dept) คือ 15-30 เซนติเมตร

- น้ำลึกปานกลาง คือ การปลูกบัวในระดับน้ำลึกระหว่าง 15-100 เซนติเมตร หรือในระดับที่พอเหมาะคือ 30-60 เซนติเมตร

- น้ำลึกมาก คือ การปลูกบัวในระดับน้ำลึกระหว่าง 30-150 เซนติเมตร หรือในระดับที่พอเหมาะคือ 60-120 เซนติเมตร

อุบลชาติพันธุ์ Hillary เป็นสายพันธุ์ใหม่ ดอกเป็นทรงดาว (star shape) มีสีม่วงอ่อน-ชมพู จัดว่าเป็นพันธุ์เล็กถึงขนาดกลาง สามารถปลูกได้ทั้งในอ่างน้ำและสระน้ำ สามารถขยายพันธุ์ได้ทาง viviparous ต้องการแสงแดดเต็มวัน (Heriteau and Thomas, 1994)

## 2.2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหมายถึงการเลี้ยงชิ้นส่วนใดๆของพืชเนื้อเยื่อ รวมทั้งเซลล์เดี่ยวในอาหารสังเคราะห์ (synthetic media) ซึ่งประกอบด้วย เกลือ แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ (aseptic condition) ในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นและแสง (อรดี สหวัชรินทร์, 2539 ; อารีย์ วรบุญวัฒน์, 2541) ปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีบทบาทสำคัญต่อวิทยาการแขนงอื่นๆ เช่น ชีวเคมี พันธุศาสตร์ การปรับปรุงพันธุ์พืช โรคพืช การป่าไม้ และเภสัชศาสตร์ เป็นต้น (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2536)

### สถานะอาหารในเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสังเคราะห์มีหลายวิธี ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเนื้อเยื่อและความต้องการของผู้ทดลอง (บุญยืน กิจวิจารณ์, 2544) สถานะอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่แตกต่างกันอาจทำให้ผลการเพาะเลี้ยงแตกต่างกันได้ แม้จะใช้ชิ้นส่วนเดียวกันก็ตาม (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2536; รั้งสุภฎ กาวีตะ, 2540) โดยสามารถจำแนกลักษณะสถานะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารแข็ง (solid medium)

อาหารแข็ง หมายถึง อาหารสังเคราะห์ที่ใส่ลงไปในเพื่อเป็นที่ยึดเกาะของเนื้อเยื่อพืช และให้เนื้อเยื่อสัมผัสกับอาหารและอากาศ โดยมีบางส่วนฝังอยู่ในอาหารและมีบางส่วนอยู่เหนืออาหาร (บุญยืน กิจวิจารณ์, 2544)

### 2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลว (liquid medium)

อาหารเหลวเป็นที่นิยมใช้อย่างกว้างขวาง ช่วยให้การเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานเกิดได้ดีขึ้น (รังสฤษฏ์ กาวีตะ, 2540) เนื้อเยื่อจะสัมผัสกับอาหารทุกส่วน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารหยุดนิ่ง สามารถใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงบนกระดาษกรองแบบสะพาน (filter paper bridge) โดยให้ปลายของกระดาษจุ่มอยู่กับอาหาร เนื้อเยื่อจะได้รับอาหารผ่านทางกระดาษกรองในขณะเดียวกันเนื้อเยื่อก็จะได้รับออกซิเจนจากอากาศโดยตรง (บุญยืน กิจวิจารณ์, 2544) และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวที่วางบนเครื่องเขย่าหรือเครื่องหมุน ซึ่งจะทำให้เนื้อเยื่อได้รับอาหารและอากาศอย่างทั่วถึง และยังช่วยกระจายของเสียที่เนื้อเยื่อพืชสร้างขึ้นมาด้วย (ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์, 2546)

### 3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง (liquid medium on solid medium)

โดยชั้นล่างเป็นอาหารแข็ง ชั้นบนเป็นอาหารเหลวซึ่งเหมาะสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชน้ำ

### 4. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว (semi-solid medium)

จะเตรียมอาหารโดยใช้วุ้นปริมาณน้อยกว่าในการเตรียมอาหารแข็งปกติ หลังจากการนิ่งฆ่าเชื้อแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่ทำให้เซลล์ตาย ทำการผสมเซลล์หรือเนื้อเยื่อลงในอาหารแล้วเทอาหารลงในภาชนะเพาะเลี้ยง (ประศาสตร์ เกี่ยมณี, 2536) หรือเตรียมแบบอาหารแข็งก็ได้

## 2.3. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุเมธ (2536) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก พบว่าเมื่อนำตาไหลไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งที่เติม NAA 0.5  $\mu\text{M}$  ร่วมกับ BA 10  $\mu\text{M}$  สามารถชักนำให้เกิดตาได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์

สุทธิพร (2537) ศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก โดยนำตาไหลไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง อาหารเหลว อาหารเหลวบนอาหารแข็ง และอาหาร wick paper ในอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม NAA 0.5  $\mu\text{M}$  ร่วมกับ BA 10  $\mu\text{M}$  พบว่าอาหาร wick paper ทำให้ชิ้นส่วนเกิดจำนวนตาและจำนวนใบดีที่สุด และใบมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากที่สุด

ศิริศักดิ์ (2537) ศึกษาการเพิ่มปริมาณบัวหลวงพันธุ์สัตตบุษย์ โดยนำตาไหลไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง เมื่ออายุ 24 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 3  $\mu\text{M}$  ร่วมกับ 2iP 15  $\mu\text{M}$  สามารถชักนำขึ้นส่วนให้เกิดตาเฉลี่ย 0.78 ตา ตามีขนาด 1.0-1.5 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 0.83 ใบ ความกว้างใบเฉลี่ย 0.93 เซนติเมตร ความยาวรากเฉลี่ย 0.84 เซนติเมตร

ธนพรรณ (2538) ศึกษาการเพิ่มปริมาณบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก โดยนำตาไหลไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง เมื่ออายุ 20 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 3  $\mu\text{M}$  ร่วมกับ 2iP 10  $\mu\text{M}$  มีการเจริญเติบโตดีที่สุด สามารถชักนำขึ้นส่วนให้เกิดตาเฉลี่ย 9.56 ตา จำนวนใบเฉลี่ย 10.93 ใบ ขนาดใบเฉลี่ย 4.30 ตารางเซนติเมตร ความยาวก้านใบเฉลี่ย 25.75 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ย 31.56 ราก และความยาวรากเฉลี่ย 3.01 เซนติเมตร

มนตรี (2542) ศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช โดยนำขึ้นส่วนตาไหลมาเลี้ยงในอาหารสูตร ½ MS ที่เติม 2iP 10  $\mu\text{M}$  ร่วมกับ IAA 3  $\mu\text{M}$  พบว่าในสถานะอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวขึ้นส่วนตาไหลจะมีคะแนนการเจริญเติบโตดีที่สุดเฉลี่ย 5.30 คะแนน มีจำนวนใบเฉลี่ย 5.16 ใบ และจำนวนยอดเฉลี่ย 5.36 ยอด ส่วนสถานะอาหารเหลวบนอาหารแข็งให้ใบที่มีลักษณะดีที่สุด

จันทร์อัมพร (2544) ศึกษาผลของ IAA และ 2iP ต่อการเพิ่มปริมาณยอดบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช พบว่าเมื่อนำตาไหลมาเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร ½ MS ที่เติม 2iP 10  $\mu\text{M}$  ร่วมกับ IAA 6  $\mu\text{M}$  ให้ผลดีที่สุด โดยมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 4.83 และเกิดยอดเฉลี่ย 1.33 ยอดต่อขึ้นส่วน

อรทัย (2545) ศึกษาขึ้นส่วนเริ่มต้นคือ ใบ และก้านใบจากต้นที่ได้ในสภาพปลอดเชื้อ และตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกพบว่าขึ้นส่วนจากตาไหลสามารถเจริญได้ดีที่สุดและอาหารแข็งที่มี 2,4-D 4  $\mu\text{M}$  ร่วมกับ BA 2  $\mu\text{M}$  ขึ้นส่วนเริ่มต้นสามารถรอดชีวิตได้สูงสุดในระยะเวลา 8 สัปดาห์

Asokan et al. (1984) ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของ *Xanthosoma caracu* ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม ascorbic acid 100 mg/l และในอาหารแข็งที่เติม  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  250 มิลลิกรัม/ลิตร thiamine-HCl 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร adenine 30 มิลลิกรัม/ลิตร BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ difcobacto agar 8 กรัม/ลิตร พบว่าอาหารเหลวสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ 45-70 ยอดต่อ flask หลังการเปลี่ยนอาหาร 9-10 สัปดาห์

Kane et al. (1988a) รายงานการเพาะเลี้ยงส่วนยอดของ *Myriophyllum aquaticum*(Vell.) Verdcourt (Parrot-feather) และ *Limnophila indica*(L.) Druce.(Ambulia) ในอาหารเหลวสูตร ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 87.6 mM , 2iP 10  $\mu\text{M}$  และ BA 2.5  $\mu\text{M}$  เมื่ออายุ 14 วันสามารถชักนำ

Parrot-feather ให้เกิดยอดได้ 19 ยอดต่อชิ้นส่วน และสามารถชักนำ Ambulia ให้เกิดยอดได้ 11 ยอดต่อชิ้นส่วน

Kane *et al.* (1988b) รายงานการเพาะเลี้ยง rhizome ของบัวหลวง American lotus ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารเหลวสูตร  $\frac{1}{2}$  MS ที่เติม BA, zeatin, GA<sub>3</sub> และ ABA พบว่า เอ็มบริโอสามารถเจริญได้ดี หลังจากนั้นตัดส่วนของ rhizome มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว พบว่า GA<sub>3</sub> ความเข้มข้น 290  $\mu$ M ส่งเสริมการยืดยาวของลำต้นและมีจำนวนข้อเพิ่มขึ้น ส่วน ABA มีผลยับยั้งการเจริญเติบโต

Kane *et al.* (1988c) รายงานการเพาะเลี้ยงตาของ Parrot-feather (*Myriophyllum aquaticum*(Vell.)) ในอาหารแข็งสูตร  $\frac{1}{2}$  MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 87.6 mM และ TC agar 15 กรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ หลังจากนั้นย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 87.6 mM, thaimine-HCl 1.2  $\mu$ M, myo-inositol 0.56  $\mu$ M, 2iP 10  $\mu$ M สามารถชักนำให้เกิดยอดได้เช่นกัน

Jenks *et al.* (1990) รายงานการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนที่ขึ้นบนใบ (epiphyllous plantlet) ของ *Nymphaea* "Daubeniana" โดยนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม myo-inositol 0.56  $\mu$ M, thaimine-HCl 1.2  $\mu$ M, น้ำตาลซูโครส 87.6 mM และ 2iP 10  $\mu$ M ร่วมกับ IAA 3  $\mu$ M นาน 5 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนที่ขึ้นบนใบมีการเจริญเติบโต จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารแข็งนาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงในอาหารที่เติม TDZ 3  $\mu$ M ในภาชนะ magenta GA-7 ขนาด 7.5 x 7.5 x 10 เซนติเมตร โดยวางชิ้นส่วนบน polypropylene membrane ขนาด 53 x 53 มิลลิเมตร นาน 5 สัปดาห์ พบว่ามีตาเกิดขึ้นที่ใบใหม่

Kane *et al.* (1991) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Myriophyllum aquaticum* ในอาหารเหลว พบว่า อาหารที่เติม 2iP 40  $\mu$ M ร่วมกับ NAA 0.1  $\mu$ M สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด

Fisher *et al.* (1993) ศึกษาการเกิดยอดใหม่ของการเพาะเลี้ยงกลีบดอกคาร์เนชั่นในอาหารเหลว และอาหารแข็ง สูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 2 มิลลิกรัม/ลิตร (M5) และสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 2 มิลลิกรัม/ลิตร และ GA 2 มิลลิกรัม/ลิตร (Ja) พบว่าอาหารเหลวชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าอาหารแข็ง และจำนวนการเกิดยอดต่อชิ้นส่วนสูงกว่าอาหารแข็งในสูตรอาหารทั้งสอง

Lal *et al.* (1993) ศึกษาการเพิ่มปริมาณของ *Rheum emodi* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรของอินเดีย ด้วยอาหาร MS ในสภาพที่แตกต่างกัน ได้แก่ เนื้อเยื่อแช่ในอาหารเหลว (submerged) เนื้อเยื่อ

บางส่วนอยู่พ้นอาหารเหลว(semi-submerged) เลี้ยงบน wick paper และเลี้ยงในเครื่องเขย่า(80-120 rpm) พบว่าเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในเครื่องเขย่ามีอัตราการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณสูงสุด

Bhattacharya *et al.* (1994) ศึกษาชนิดวุ้นต่อการเจริญเติบโตของเบญจมาศ ในอาหารแข็ง สูตร MS ที่เติม IAA 0.57  $\mu\text{M}$  และ BA 0.88  $\mu\text{M}$  พบว่าใช้ isubgol (2-3%) ซึ่งเป็นสารแทนวุ้น ขึ้นส่วนมีการเจริญเติบโตดีที่สุด และในอาหารเหลวที่มีกระดาษกรอง(filter paper) ,ใยแก้ว ,ในล่อน และ polystyrene foam เป็นตัวพองในอาหารเหลวพบว่า polystyrene foam ส่งเสริมการเจริญเติบโตดีที่สุด และกระดาษกรองในอาหารเหลวเป็นวัสดุที่ส่งเสริมการเกิด callus ดีที่สุด

Lakshmanan (1994) รายงานว่าส่วนของตาไหลของ *Nymphaea hybrid* "James Brydon" เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อ และในอาหารที่เติม 2iP 32.0  $\mu\text{M}$ , NAA 8  $\mu\text{M}$  และ BA 11.1  $\mu\text{M}$  โดยใช้ gelrite 0.2 % สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด และเมื่ออายุครบ 45 วัน ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและใส่ผงถ่าน 0.5 กรัม/ลิตร พืชจะมีการพัฒนาระบบรากภายใน 4 สัปดาห์

Watad *et al.*(1996) ศึกษาการเกิดยอดใหม่ของคาร์เนชั่น (*Dianthus caryophyllus*) โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน 3 สถานะคือ อาหารแข็ง อาหารเหลว และอาหารที่มีวัสดุพอง โดยศึกษาร่วมกับอาหาร MS 3 สูตร ได้แก่ อาหารที่ไม่เติมฮอร์โมน อาหารที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร และอาหารที่เติม TDZ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า อาหารเหลวที่มีวัสดุพองในทุกสูตรอาหารมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด

### บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน

#### 3.1. อุปกรณ์

3.1.1. ต้นอ่อนที่กำเนิดจากกลางใบของอุบลชาติพันธุ์ Hillary

#### 3.1.2. สารเคมี

3.1.2.1. สารเคมีในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog(1962)(ตารางผนวกที่1)

3.1.2.2. สารควบคุมการเจริญเติบโต

- สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA
- สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ 2iP และ BA

3.1.2.3. สารเคมีสำหรับฟอกฆ่าเชื้อ

- mercuric chloride
- calcium hypochlorite
- tween 20

#### 3.1.3. เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์

3.1.3.1. เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ ปีเปต กระบอกตวง แท่งแก้วคนสาร จานแก้ว(plate) ขวดรูปชมพู่

3.1.3.2. ภาชนะบรรจุ ได้แก่ ขวดปากกว้างขนาด 6 ออนซ์ หลอดทดลองขนาด 25 x 125 มิลลิลิตร

3.1.3.3. Filter paper whatman No. 1 Ø 125 มิลลิเมตร

3.1.3.4. อุปกรณ์สำหรับย้ายชิ้นส่วนพืช ได้แก่ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ(laminar flow) ตะเกียงอัลทราฮอสต์ ขวดใส่อัลทราฮอสต์ มีดผ่าตัด จานแก้ว คีมคีบที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ

3.1.3.5. เครื่องชั่งไฟฟ้า

3.1.3.6. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

3.1.3.7. หม้อนึ่งความดันไอ

3.1.3.8. เต้าแก๊ส

3.1.3.9. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±3 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอด Cool White วันละ 14 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.10. ชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.1.3.11. กล้องดิจิทัล

3.1.3.12. อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ ปากกา ดินสอ สมุดบันทึก ถุงพลาสติก ยางรัด นาฬิกา

### 3.2. วิธีการ

#### 3.2.1. การเตรียมอาหาร

3.2.1.1. เตรียม Stock solution – Macroelements ความเข้มข้น 10 เท่า

– Microelements ความเข้มข้น 100 เท่า

3.2.1.2. เตรียมอาหารสูตร ½ MS จำนวน 1 ลิตร

3.2.1.3. เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2iP 30 µM, NAA 10 µM และ BA 10 µM

3.2.1.4. เติมน้ำตาล 30 กรัม

3.2.1.5. ปรับปริมาตร 1,000 ลิตร

3.2.1.6. ปรับ pH 5.5-5.7 ด้วย NaOH 1 N หรือ HCl 1 N

3.2.1.7. ถ้าเป็นอาหารแข็ง เติมวุ้น Phytigel 3 กรัม/ลิตร ถ้าเป็นอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว เติมวุ้น Phytigel 0.8 กรัม/ลิตร

3.2.1.8. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 20 นาที และทิ้งไว้ให้เย็น

#### 3.2.2. การฟอกฆ่าเชื้อ

3.2.2.1. นำต้นอ่อนที่ได้จากการนำใบของอุบลชาติไปคว่ำในน้ำนาน 1 สัปดาห์ จนได้ต้นอ่อนที่แตกใบ 1-2 ใบ ตัดเฉพาะชิ้นส่วนที่เป็นต้นอ่อนที่งอกขึ้นมา ผ่านน้ำไหลนาน 20 นาที

3.2.2.2. ทำการฟอกฆ่าเชื้อผิวโดยนำชิ้นส่วนมาแช่ใน mercuric chloride 0.1% ร่วมกับ tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที แล้วแช่ใน calcium hypochlorite 5% ร่วมกับ tween 20 2-3 หยด นาน 20 นาที แล้วแช่ใน calcium hypochlorite 1% ร่วมกับ tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที จึงนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที

### 3.2.3.วิธีการทดลอง

ศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวอุบลชาติพันธุ์ Hillary โดยใช้ต้นอ่อนที่เจริญมาจากกลางใบบัว (viviparous plantlet) อายุ 1 สัปดาห์ ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร  $\frac{1}{2}$  MS ที่เติม 2iP 30  $\mu$ M, NAA 10  $\mu$ M และ BA 10  $\mu$ M เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design มี 5 Treatment 4 Replication โดยแต่ละ Replication มี 3 ซ้ำ โดยกำหนดให้ Treatment ที่ 1 เป็นอาหารแข็ง, Treatment ที่ 2 เป็นอาหารเหลว, Treatment ที่ 3 เป็นอาหารเหลวแบบ wick paper, Treatment ที่ 4 เป็นอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และ Treatment ที่ 5 เป็นอาหารเหลวบนอาหารแข็ง

### 3.3.การบันทึกข้อมูล

3.3.1.บันทึกการเจริญเติบโตทุก ๆ สัปดาห์ โดยบันทึกจำนวนใบและลักษณะการเจริญเติบโต

3.3.2.บันทึกน้ำหนัก(กรัม) เมื่ออายุ 4 สัปดาห์และ 6 สัปดาห์

3.3.3.บันทึกจำนวนยอดและขนาดของใบ(เซนติเมตร) เมื่ออายุ 6 สัปดาห์

### 3.4.การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ในระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

### 3.5.สถานที่ดำเนินงาน

ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### 3.6.ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

เริ่มทดลอง	มีนาคม	2548
สิ้นสุดการทดลอง	พฤษภาคม	2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4 ผลการทดลอง

### 4.1. ผลการทดลอง

ผลการศึกษาสถานะอาหารของอาหาร 5 สถานะ ในอาหารสูตร  $\frac{1}{2}$  MS ที่เติม 2iP 30  $\mu$ M, NAA 10  $\mu$ M และ BA 10  $\mu$ M ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้นอ่อนของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ในเวลา 6 สัปดาห์มีดังนี้

#### การเจริญเติบโตของใบ

ในทุกสถานะอาหาร ขึ้นส่วนจะเริ่มแตกใบตั้งแต่ในระยะสัปดาห์แรก เมื่อนำผลของจำนวนใบเฉลี่ยไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) โดยสัปดาห์แรกอาหารเหลวมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 15.75 ใบต่อต้น รองลงมาเป็นอาหารแข็ง อาหารเหลวบนอาหารแข็ง อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และอาหารเหลวแบบ wick paper โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 10, 8.42, 8.25 และ 7.42 ใบต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) โดยใบจะเริ่มแตกยอดขึ้นมาจากบริเวณแนวกลางขึ้นส่วนในทุกสถานะอาหาร มีลักษณะเป็นใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ตัวทำให้มีลักษณะแหลม มีก้านใบชูออกมา ขึ้นส่วนในอาหารเหลวและอาหารเหลวบนอาหารแข็งส่วนมากจะมีใบและก้านเป็นสีเขียวอ่อน แต่ในสถานะอาหารอื่นๆ ใบและก้านจะมีสีเขียวเข้ม บริเวณขึ้นส่วนที่ถูกตัดจะมีสีดำคล้ำ พบรอยสีน้ำตาลดำกระจายบนผิวอาหารรอบๆ ขึ้นส่วนในอาหารแข็ง ส่วนในสถานะอาหารอื่นๆ ไม่พบลักษณะดังกล่าว ขึ้นส่วนในอาหารเหลวจะลอยตัวอยู่ที่ระดับผิวน้ำ ใบที่งอกออกมาจะมีลักษณะที่ชี้ไปในทุกทิศทาง ส่วนในอาหารอื่นๆ ใบส่วนมากจะชี้ขึ้นใบตรงๆ หรือเฉียงไปด้านข้างเพียงเล็กน้อย

สัปดาห์ที่สอง จำนวนใบเฉลี่ยในทุกสถานะอาหารมีจำนวนเพิ่มขึ้น เมื่อนำผลของจำนวนใบเฉลี่ยไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) โดยอาหารเหลวมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 21.32 ใบต่อต้น รองลงมาเป็นอาหารแข็ง อาหารเหลวบนอาหารแข็ง อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และอาหารเหลวแบบ wick paper โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 12.83, 11.58, 10.75 และ 10.33 ใบต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) และพบว่า ในอาหารแข็ง อาหารเหลวแบบ wick paper และอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว ใบที่งอกออกมาในช่วงสัปดาห์แรกบางใบเริ่มคลี่ตัวในสัปดาห์นี้ แต่ยังมีลักษณะงออยู่บ้างเล็กน้อย รูปทรงใบเป็นทรงกลมรีแหลม ขอบใบเรียบ ก้านใบเป็นสีเขียวเข้ม ส่วนในอาหารเหลว และอาหารเหลวบนอาหารแข็งใบยังคงม้วนตัวอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัปดาห์ที่สาม เมื่อนำผลของจำนวนใบเฉลี่ยไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) โดยอาหารเหลวมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 27.53 ใบต่อต้น รองลงมา เป็นอาหารแข็ง อาหารเหลวบนอาหารแข็ง ส่วนอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และอาหารเหลวแบบ wick paper โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 15.5, 12.75, 12.33 และ 11.92 ใบต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ใบในอาหารแข็ง และอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว จะกางออกเต็มที่ ส่วนในอาหารเหลวและในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง ใบก็เริ่มคลี่ตัวแล้วเช่นกัน โดยในอาหารแข็งโดยเริ่มพบความแตกต่างระหว่างก้านใบ ซึ่งจะพบลักษณะก้านใบได้สองลักษณะ คือ ป้อมสั้น(รูปที่ 4.2) และก้านใบเรียวแหลม(รูปที่ 4.3) ซึ่งจะมองเห็นได้อย่างชัดเจนในระยะสัปดาห์ที่ 4 ซึ่งในสัปดาห์ที่สาม ขึ้นส่วนในอาหารแข็งและอาหารเหลวแบบ wick paper จะมีลักษณะสับลง ไม่เป็นทรงเหมือนเช่นเคย ซึ่งเดิมจะเป็นทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ในอาหารเหลวตัวขึ้นส่วนที่รวมถึงใบเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้นจนบางส่วนสามารถเจริญเหนือผิวน้ำ ในอาหารเหลวแบบ wick paper ก้านใบจะมีลักษณะป้อมสั้น ใบบางส่วนยังไม่คลี่กาง และในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง พบว่า ในขึ้นส่วนมีส่วนที่ใบยื่นถึงอากาศ จะมีการเจริญเติบโตดีกว่าขึ้นที่ยังคงจมอยู่ในอาหารเหลว ใบจะมีสีเขียวเข้มขึ้นและก้านใบค่อนข้างยาวเมื่อเทียบกับอาหารสถานะอื่นๆ

สัปดาห์ที่ 4 เมื่อนำผลของจำนวนใบเฉลี่ยไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) โดยอาหารเหลวมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 34.89 ใบต่อต้น รองลงมา เป็นอาหารแข็ง อาหารเหลวบนอาหารแข็ง โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 17.92, 14.58 ตามลำดับ ส่วนอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และอาหารเหลวแบบ wick paper นั้นมีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 13.25 ใบต่อต้น (ตารางที่ 4.1)(รูปที่ 4.8) ในอาหารเหลว ใบจะเจริญเต็มที่ มีสีเขียวเข้มขึ้นในส่วนที่ลอยอยู่บนอากาศ บางขึ้นส่วนพบการเกิดใบรอบขึ้นส่วนจนมองเห็นเป็นก้อนกลม ใบจะเจริญอย่างหนาแน่นจนไม่สามารถมองเห็นก้านใบได้ บางใบที่อยู่เหนือผิวน้ำจะแตกก้านยาวออกมาจนเห็นได้ชัด ซึ่งใบดังกล่าวจะมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่นๆอย่างเห็นได้ชัดเช่นกัน พบว่าในส่วนของใบที่สัมผัสกับอากาศโดยตรงใบจะมีขนาดใหญ่กว่าในใบที่อยู่ใต้น้ำ และในอาหารเหลวแบบ wick paper พบว่า บริเวณใบและก้านใบจะปกคลุมผิวน้ำของขึ้นส่วนทั้งหมด (รูปที่ 4.8) เมื่อทำการเปลี่ยนถ่ายเนื้อเยื่อ พบรอยเยื่อสีน้ำตาลคล้ำบนกระดาษเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยกระดาษบางขึ้นจะเป็นสีเหลืองอ่อนทั้งชิ้น แต่ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อยังคงใส ไม่ขุ่น

สัปดาห์ที่ 5 เมื่อนำผลของจำนวนใบเฉลี่ยไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) โดยอาหารเหลวมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 39.54 ใบต่อต้น รองลงมา เป็นอาหารแข็ง อาหารเหลวบนอาหารแข็ง อาหารเหลวแบบ wick paper และอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวโดยมี

จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 21.67, 19.20, 15.92 และ 14.75 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ซึ่งในสัปดาห์นี้ ในทุกสถานะอาหาร ใบจะเจริญจนเต็มขึ้นส่วน โดยเฉพาะในอาหารเหลว พบว่าส่วนมาก ส่วนของขึ้นส่วนหนึ่งในสามจะอยู่เหนือผิวน้ำ ซึ่งใบจะมีขนาดใหญ่มากเมื่อเทียบกับใบที่อยู่ใต้น้ำ และในอาหารเหลวบนอาหารแข็งมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก เนื่องจากส่วนของใบบางส่วนสามารถเจริญจนอยู่เหนือระดับน้ำทำให้ขึ้นส่วนมีขนาดใบที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และก้านมีขนาดยาวกว่าในทุกๆ สถานะอาหาร บางขึ้นส่วนต้นมีการแตกใบจนมีใบขึ้นหนาแน่นเหมือนขึ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารเหลว ซึ่งในขึ้นส่วนแบบนี้ไม่สามารถปักให้ขึ้นส่วนอยู่ในอาหารแข็งได้ และในขึ้นส่วนที่ไม่สามารถเจริญใบถึงผิวน้ำได้ ใบจะมีขนาดเล็ก ทั้งใบและก้านใบมีสีเขียวอ่อน

และสัปดาห์ที่ 6 เมื่อนำผลของจำนวนใบเฉลี่ยไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) โดยอาหารเหลวมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 47.55 ใบต่อต้น(รูปที่ 4.2) รองลงมาเป็นอาหารแข็ง อาหารเหลวบนอาหารแข็ง อาหารเหลวแบบ wick paper และอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 28.5, 25.08, 20.68 และ 18.58 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ในอาหารแข็ง พบลักษณะก้านใบได้ 2 ลักษณะ คือ ลักษณะก้านใบป้อม สั้น(รูปที่ 4.3) และก้านใบแบบเรียวยาว(รูปที่ 4.4) ส่วนในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง มีลักษณะการเจริญเติบโต 2 ลักษณะเช่นกัน คือ ในขึ้นส่วนที่ใบสามารถเจริญพ้นผิวน้ำอาหารเหลว(รูปที่ 4.5) จะมีการเจริญเติบโตได้ดี ก้านใบจะยาวกว่าในขึ้นส่วนที่ไม่สามารถเจริญพ้นผิวน้ำอาหารได้(รูปที่ 4.6) ซึ่งในขึ้นส่วนดังกล่าว ก้านใบจะสั้น มีการเจริญเติบโตได้ดีไม่เท่ากับในขึ้นส่วนที่สามารถเจริญพ้นผิวน้ำอาหารได้ และในสัปดาห์นี้จะทำการวัดขนาดใบกว้างxยาวเฉลี่ยด้วย ซึ่งเมื่อนำขนาดใบกว้างxยาวเฉลี่ยไปวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) โดยอาหารเหลวมีขนาดใบกว้างxยาวเฉลี่ยสูงสุด คือ  $0.47 \times 0.56$  เซนติเมตร รองลงมาเป็นอาหารเหลวบนอาหารแข็ง อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว อาหารแข็ง และอาหารเหลวแบบ wick paper โดยมีขนาดใบกว้างxยาวเฉลี่ย คือ  $0.38 \times 0.38$ ,  $0.23 \times 0.31$ ,  $0.21 \times 0.30$  และ  $0.21 \times 0.28$  เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

#### การเจริญเติบโตของยอด

ทำการนับจำนวนยอดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในสัปดาห์ที่ 6 และเมื่อนำจำนวนยอดที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) (ตารางที่ 4.2) โดยขึ้นส่วนในอาหารเหลวมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด คือ 8.8 ยอดต่อต้น(รูปที่ 4.2) โดยจะมีทั้งยอดที่เกิดจากขึ้นส่วน และยอดที่เกิดขึ้นจากใบ (epiphyllous plantlet) (รูปที่ 4.7) สามารถพบยอดที่เกิดจากใบนี้ได้ในทุกสถานะอาหารนี้เท่านั้น ซึ่งพบทั้งหมดจำนวน 9 ยอด และสามารถแยกต้นบัวจากขึ้นส่วนออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นต้นเล็กๆได้(รูปที่ 4.8 ) ซึ่งพบว่าสามารถแยกต้นบัวออกเป็นต้นได้เฉพาะในสถานะอาหารนี้เท่านั้น และสถานะอาหารที่มีจำนวนยอดเฉลี่ยรองลงมาคือ อาหารแข็ง อาหารเหลวบนอาหารแข็ง อาหารกึ่งเหลวกึ่งแข็ง และอาหารเหลวแบบ wick paper คือ 4.58, 3.92, 3.17 และ 2.75 ยอดต่อต้น ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 100 เปอร์เซ็นต์ในทุกสถานะอาหาร(ตารางที่ 4.2)

## น้ำหนักของยอด

เมื่อนำน้ำหนักของยอดในสัปดาห์ที่ 4 ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) (ตารางที่ 4.3) โดยขึ้นส่วนในอาหารเหลวมีน้ำหนักของยอดเฉลี่ยสูงสุด คือ 1.04 กรัม(รูปที่ 4.2) รองลงมาคือ อาหารเหลวบนอาหารแข็ง และอาหารแข็ง คือ 0.70 , 0.18 กรัม ตามลำดับ ส่วนอาหารเหลวแบบ wick paper และอาหารกึ่งเหลวกึ่งแข็ง มีน้ำหนักของยอดเฉลี่ยเท่ากันคือ 0.14 กรัม และเมื่อนำน้ำหนักของยอดในสัปดาห์ที่ 6 ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) (ตารางที่ 4.3) โดยยอดในอาหารเหลวมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด คือ 1.29 กรัม รองลงมาคืออาหารเหลวบนอาหารแข็ง อาหารกึ่งเหลวกึ่งแข็ง อาหารแข็ง และอาหารเหลวแบบ wick paper คือ 0.82, 0.26, 0.19 และ 0.13 กรัม ตามลำดับ

## 4.2. วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต และการเพิ่มปริมาณยอดของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ในอาหารสูตร  $\frac{1}{2}$  MS ที่เติม 2iP 30  $\mu$ M, NAA 10  $\mu$ M และ BA 10  $\mu$ M พบว่า ในสถานะอาหารเหลว บัวมีการเจริญเติบโตและมีปริมาณยอดเฉลี่ยดีที่สุดใน น้ำหนักของยอดเฉลี่ย 1.12 กรัม และมีจำนวนยอดเฉลี่ย 8.8 ยอด ซึ่งอาหารเหลวนั้นสามารถสัมผัสกับพื้นที่ผิวของชิ้นส่วนได้ดีกว่า ทำให้พืชได้รับธาตุอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ดี ทำให้มีการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานเกิดขึ้นได้ดีขึ้น (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2538; รั้งสฤษฎ์ กาวีตะ, 2540) นอกจากนี้ธรรมชาติของบัวสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพน้ำนิ่ง (Gilbert, 1982) จึงสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสถานะอาหารเหลว นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการเพิ่มปริมาณยอดของ *Centaurium erythaea* โดย Piatczak et al. (2004) ที่ทำการทดสอบเปรียบเทียบจำนวนยอดเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารแข็งและอาหารเหลว ซึ่งในอาหารเหลวสามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุดจำนวน 60 ยอดต่อชิ้นในระยะเวลา 4 สัปดาห์ และงานของ Lal et al. (1993) ที่ทำการเพาะเลี้ยง *Rheum emodi* ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.2 ยอดเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยเพื่อเพิ่มปริมาณเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยอดของ Chu *et al.* (1993) ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.7 ยอดในอาหารเหลว เมื่อเทียบกับอาหารแข็งและ อาหารแข็งบนอาหารเหลว

จากผลการทดลอง พบว่า อุบลชาติที่เพาะเลี้ยงในสถานะเหลวบนอาหารแข็ง มีปริมาณใบเฉลี่ย(ตารางที่ 4.1) และจำนวนยอด(ตารางที่4.2) ต่ำกว่าในอาหารเหลว เนื่องจาก ในอาหารเหลว ชั้นส่วนอุบลชาติสามารถลอยและผิวน้ำได้ ทำให้ชั้นส่วนสามารถแลกเปลี่ยนก๊าซได้ดีกว่าในสถานะอาหารเหลวบนอาหารแข็ง ที่ชั้นส่วนต้องปักลงในอาหารแข็ง ทำให้ชั้นส่วนต้องจมอยู่ใต้น้ำในระยะเวลาแรกของการเจริญเติบโต ซึ่งทำให้ชั้นส่วนไม่สามารถแลกเปลี่ยนก๊าซได้อย่างพอเพียง ส่งผลให้ชั้นส่วนบางชั้นเจริญเติบโตไม่เต็มที่(รูปที่4.6) จึงทำให้มีระดับการเจริญเติบโตต่ำกว่าในอาหารเหลว แต่ชั้นส่วนที่สามารถแตกใบได้เหนือผิวน้ำ จะสามารถเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่(รูปที่ 4.5) ซึ่งชั้นส่วนเหล่านี้สามารถพัฒนาได้น้อยกว่าอาหารเหลวเพียงเล็กน้อย

เมื่อพิจารณาอาหารแข็งและอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว พบว่า จำนวนใบเฉลี่ย ขนาดใบ(กว้างX ยาว)เฉลี่ย(ตารางที่ 4.1) จำนวนยอด(ตารางที่ 4.2) และน้ำหนักรายยอดเฉลี่ย(ตารางที่ 4.3) พบว่า ไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติ และอาหารทั้งสองสถานะมีระดับการเจริญเติบโตต่ำกว่าในสถานะอาหารเหลวและอาหารเหลวบนอาหารแข็ง เนื่องจากบัวเป็นพืชน้ำ และนอกจากนี้สภาพอาหารแข็งทำห้ ศักยภาพในการแพร่กระจายน้ำ (water potential) ลดลง ธาตุอาหารต่างๆ จะถูกตรึงไว้ในอาหาร ทำให้ความสามารถในการใช้น้ำ ธาตุอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตได้น้อยลงด้วย(บุญยืน กิจวิจารณ์,2540)

และสถานะอาหารเหลวแบบ wick paper มีปริมาณยอดเฉลี่ยและขนาดใบไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของบัว ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของสุทธิพร(2537) ที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวง ที่เพาะเลี้ยงในสถานะอาหารเหลวแบบ wick paper สามารถเกิดยอดและจำนวนใบได้ดีที่สุด แต่ในการทดลองชิ้นนี้ พบว่า สถานะอาหารเหลวแบบ wick paper มีจำนวนยอดเฉลี่ยต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับสถานะอาหารอื่นๆ (ตารางที่ 4.2) เนื่องจาก พืชในแต่ละชนิดมีความต้องการและความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน (ประศาสตร์ เกื้อมณี,2536;รังสฤษฏ์ กาวีติะ,2540)

ตารางที่ 4.1 แสดงจำนวนใบเฉลี่ยและขนาดใบ(กว้างxยาว)เฉลี่ยของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ที่เพาะเลี้ยงในสถานะอาหารต่างๆ

สถานะอาหาร	จำนวนใบเฉลี่ย(±SE) <sup>a</sup>					
	อายุ(สัปดาห์)					
	1	2	3	4	5	6
อาหารแข็ง	10.00±0.51 <sup>b</sup>	2.83±0.45 <sup>b</sup>	15.50±0.60 <sup>ab</sup>	17.92±0.88 <sup>ab</sup>	21.67±1.41 <sup>ab</sup>	28.50±1.61 <sup>b</sup>
อาหารเหลว	12.56±0.94 <sup>a</sup>	15.78±1.21 <sup>a</sup>	17.00±1.53 <sup>a</sup>	23.42±1.59 <sup>a</sup>	26.64±1.89 <sup>a</sup>	52.50±4.87 <sup>a</sup>
อาหารเหลว wick paper	7.42±0.27 <sup>b</sup>	10.33±0.39 <sup>b</sup>	11.92±0.66 <sup>b</sup>	13.25±0.36 <sup>b</sup>	15.92±0.49 <sup>b</sup>	20.67±0.86 <sup>b</sup>
อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว	8.25±0.56 <sup>b</sup>	10.75±0.70 <sup>b</sup>	12.33±0.81 <sup>b</sup>	13.25±0.79 <sup>b</sup>	14.75±0.87 <sup>b</sup>	18.58±0.94 <sup>b</sup>
อาหารเหลวบนอาหารแข็ง	8.42±0.42 <sup>b</sup>	11.58±0.61 <sup>b</sup>	12.75±0.70 <sup>b</sup>	14.56±0.92 <sup>b</sup>	17.75±1.01 <sup>b</sup>	25.08±1.63 <sup>b</sup>
F-test	**	**	**	**	**	**
CV%	20.17	19.20	20.90	20.54	22.21	26.81
					7.02	6.74

\* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ 4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ย ของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ที่เพาะเลี้ยง  
ในสถานะอาหารต่างๆ เมื่ออายุ 6 สัปดาห์

สถานะอาหาร	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย* (±SE)
อาหารแข็ง	100	4.58±0.31 <sup>b</sup>
อาหารเหลว	100	8.83±0.77 <sup>a</sup>
อาหารเหลว wick paper	100	2.75±0.09 <sup>b</sup>
อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว	100	3.17±0.24 <sup>b</sup>
อาหารเหลวบนอาหารแข็ง	100	3.92±0.22 <sup>b</sup>
F-test		**
CV%		23.65

\* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

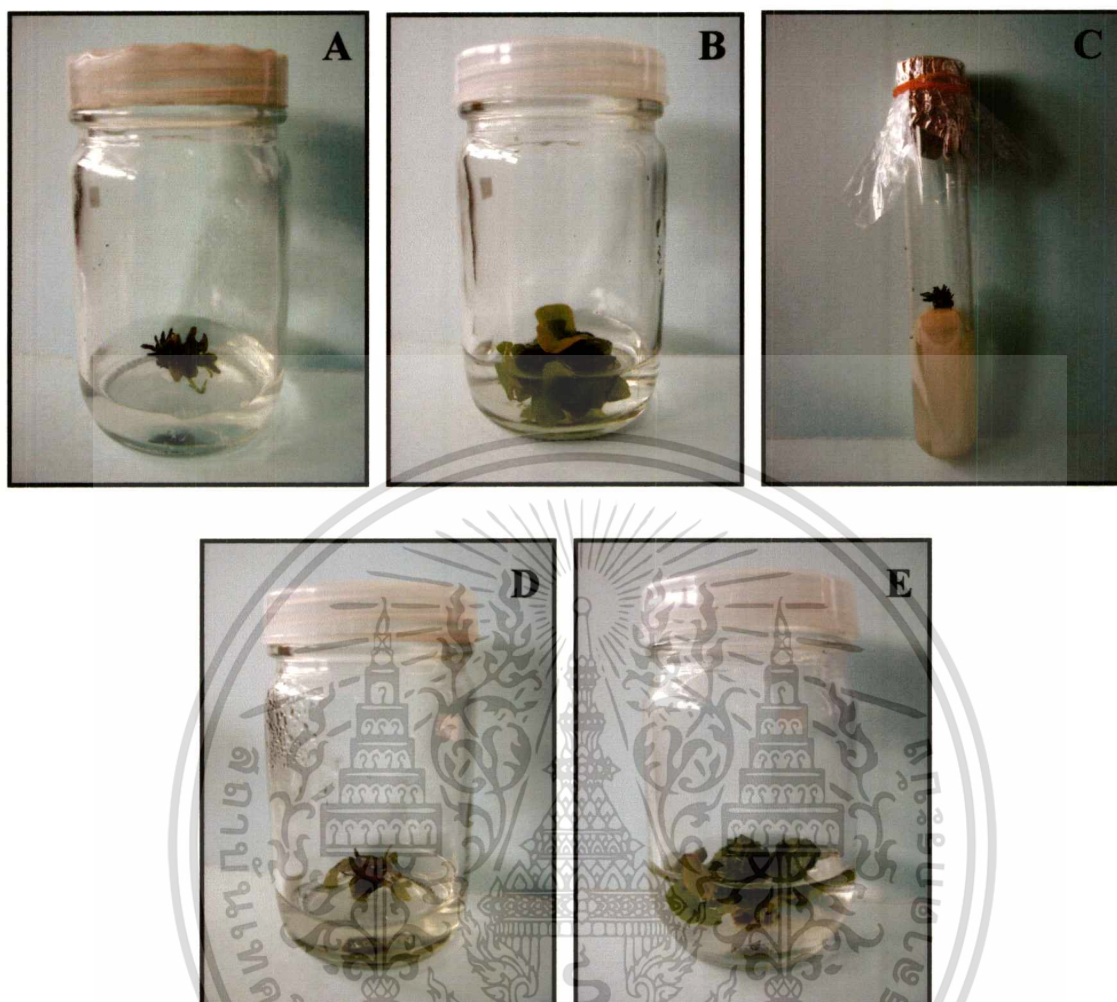
\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4.3 แสดงน้ำหนักของยอดเฉลี่ยของอุบลชาติพันธุ์ Hillary ที่เพาะเลี้ยงในสถานะอาหารต่างๆ เมื่ออายุ 4 และ 6 สัปดาห์

สถานะอาหาร	น้ำหนักของยอดเฉลี่ย(กรัม) ( $\pm$ SE)*	
	อายุ(สัปดาห์)	
	4	6
อาหารแข็ง	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>
อาหารเหลว	1.04 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1.12 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>
อาหารเหลว wick paper	0.13 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.13 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>
อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว	0.13 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.26 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>
อาหารเหลวนอาหารแข็ง	0.70 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.85 $\pm$ 0.10 <sup>ab</sup>
F-test	**	**
CV%	16.69	18.72

\* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

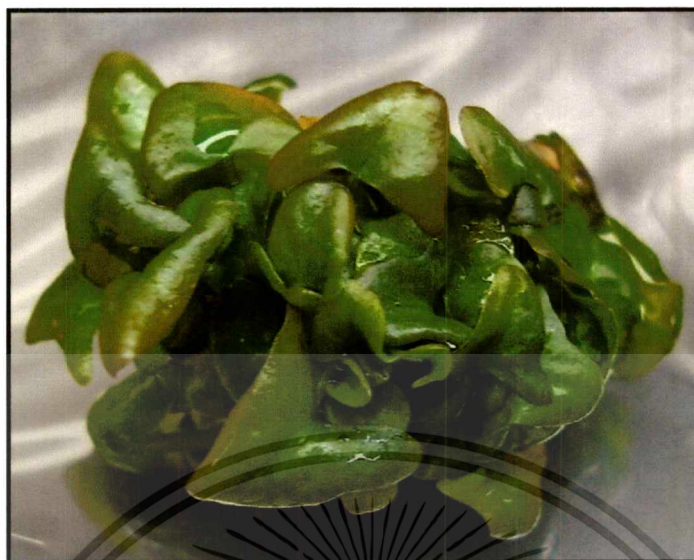


รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตในสถานะอาหารต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

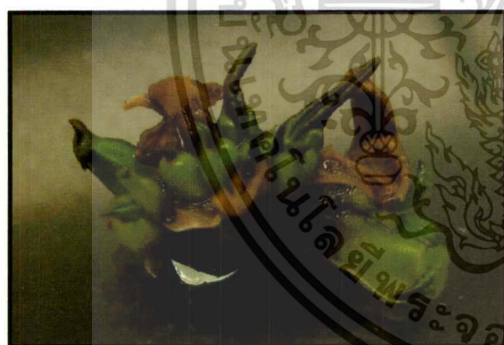
โดยกำหนดให้

- A ชั้นส่วนต้นอ่อนอุบลชาติที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง (2.2x)
- B ชั้นส่วนต้นอ่อนอุบลชาติที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว (2.x)
- C ชั้นส่วนต้นอ่อนอุบลชาติที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวแบบ wick paper (3.1x)
- D ชั้นส่วนต้นอ่อนอุบลชาติที่เพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว (2.2x)
- E ชั้นส่วนต้นอ่อนอุบลชาติที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง (2x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลว  
เมื่ออายุ 6 สัปดาห์(2.56X)



รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะชิ้นส่วนที่เลี้ยง  
ในอาหารแข็งที่มีลักษณะของก้าน  
ใบที่บวมสั้น เมื่ออายุ 6 สัปดาห์  
(2.45x)



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหาร  
แข็งที่มีลักษณะของก้านใบที่เรียวแหลม  
เมื่ออายุ 6 สัปดาห์(5.08x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



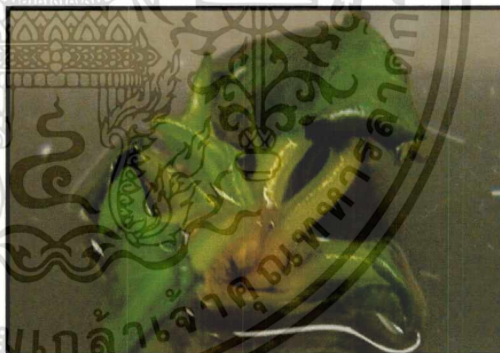
รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่ใบสามารถเจริญเหนือผิวน้ำได้และมีก้านใบยาวในสถานะอาหารเหลวบนอาหารแข็งเมื่ออายุ 6 สัปดาห์(1x)



รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่ใบไม่สามารถเจริญเหนือผิวน้ำได้ในสถานะอาหารเหลวบนอาหารแข็งเมื่ออายุ 6 สัปดาห์ (1.87x)



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะยอดที่เกิดจากใบ(epiphyllous plantlet)ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเมื่ออายุ 6 สัปดาห์ (3.56x)



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะต้นอ่อนที่แยกได้ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวนาน 6 สัปดาห์ (3.5x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุบลชาติพันธุ์ Hillary ในอาหารสูตร ½ MS ที่เติม 2iP 30  $\mu\text{M}$ , NAA 10  $\mu\text{M}$ . และ BA 10  $\mu\text{M}$  ในสถานะอาหารแข็ง อาหารเหลว อาหารเหลว wick paper อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และอาหารเหลวบนอาหารแข็ง หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์พบว่า อุบลชาติที่เลี้ยงในอาหารเหลวมีระดับการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่อเทียบกับสถานะอาหารอื่นๆ คือ มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 1.12 กรัม มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 5.25 ใบ มีขนาดใบกว้าง X ยาวเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.47 X 0.56 เซนติเมตร และจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 8.8 ยอด ทุกสถานะอาหารมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบการเกิดรากในทุกๆสถานะอาหาร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บรรณานุกรม

- จันทร์อัมพร สํ้าอังกาย. 2544. การศึกษาผลของ IAA และ 2iP ต่อการเพิ่มปริมาณต้นบัวหลวง พันธุ์สัตตบงกช. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- จารีย์ หอยทอง. 2519. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวบางชนิดในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์. มหาลััยเกษตรศาสตร์. 162หน้า.
- ธนพรรณ พร้อมมูล. 2538. ผลของ IAA และ 2iP ต่อการเพิ่มปริมาณบัวหลวงพันธุ์นุททริกในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- นิรนาม. 2544. บัวประดับ บัวสายกับวิธีขยายพันธุ์. มติชนบทเทคโนโลยีชาวบ้าน ปีที่13 ฉบับที่ 269 .38-41.
- บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. สำนักพิมพ์คลังน่านาวิทยา. 207 หน้า.
- ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ. 158 หน้า.
- มนตรี ชาติตะถนากูร. 2542. การศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช. ปัญหาพิเศษปริญญาโท คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- รังสฤษฏ์ กาวิตะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช:หลักการและเทคนิค. กรุงเทพฯ:สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 219หน้า.
- ศิริศักดิ์ สุนทรยาตร. 2537. การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการเพิ่มปริมาณบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาโท คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี. 187หน้า.
- สุทธิพร อังสะนันท์. 2537. การศึกษาสถานะของอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์นุททริก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สุเมธ อินทมาตย์. 2536. การศึกษาเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- เสริมลาภ วสุวัต. 2537. บัว:ไม้ดอกไม้ประดับ. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ. 297 หน้า.
- เสริมลาภ วสุวัต. 2547. บัวประดับในประเทศไทย. เนชั่นบุ๊คส์. กรุงเทพฯ. 192หน้า.
- อรดี สหวัชรินทร์. 2539. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 48หน้า.
- อรรถัย จิระประวัติตระกูล. 2545. การศึกษาขั้นต้นเริ่มต้นในการชักนำให้เกิดการเจริญเติบโตของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- อารีย์ วรรณภู่วัฒน์. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์. โรงพิมพ์อดิสรณ์. กรุงเทพฯ. 133หน้า.
- Asokan M.P., S.K. O'Hair and R.E. Litz. 1984. "Rapid multiplication on *Xanthosoma caracu* by *in vitro* shoot tip culture." HortScience. 19(6) : 885-886.
- Bhattacharya P. and S. Day. 1994. "Use of low-cost gelling agents and support matrices for industrial scale plant tissue culture." Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 37: 15-23.
- Chu C.Y., Knight S.L. and Smith M.A.L. 1993. "Effect of solid culture on the growth and development of miniature rose (*Rosa chinensis* Jacq. 'Minima')." Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 32 : 329-334.
- Fisher M., M. Ziv and A. Vainstein. 1993. "An efficient method for adventitious shoot regeneration from cultured carnation petals." Scientia Horticulturae. 53 : 231-237.
- Gilbert S. 1982. "The culture of water lilies and water lotuses." Horticulture. August : 16-23.
- Heriteau J. and Thomas B.C. 1994. Water gardens. Houghton Mifflin. Boston. New York.
- Jenks M.A., M.E. Kane, F. Marousky, D. Mcconnell and T. Sheehan. 1990. "*In vitro* establishment and epiphyllous plantlet regeneration of *Nymphaea* 'Daubeniana'." HortScience. 25(12) : 1664.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kane M.E., D.B. McConnell and F.H. Ferwerda. 1988b. "*In vitro* growth of American lotus embryos. *HortScience*. 23(3) : 611-613.
- Kane M.E., D.B. McConnell and T.J. Sheehan. 1988a. "*In vitro* regeneration studies on ornamental aquatic plant : *Myriophyllum aquaticum* and *Limnophila indica*." *HortScience*. 23(3) : 780.
- Kane M.E., D.E. McConnell, T.J. Sheehan and B. Dehgan. 1988c. "A laboratory exercise to demonstrate adventitious shoot formation using stem internodes of parrot-feather." *HortScience*. 23(2) : 408.
- Kane M.E., E.F. Gilman, M.A. Jenks. 1991. "Regeneration capacity of *Myriophyllum aquaticum* culture *in vitro*." *Journal of Aquatic Plant Management*. 29 : 102-109.
- Lakshmanan P. 1994. "*In vitro* establishment and multiplication of *Nymphaea hybrid 'James Brydon'*." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 36 : 145-148.
- Lal N., Ahuja P.S. 1993. "Assessment of liquid culture procedures for *in vitro* propagation of *Rheum emodi*." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 34(2) : 223-226.
- Master C.O. 1974. *Encyclopedia of the water-lily*. T.F.H. Publications, Inc. USA. 512p.
- Piatczak E., Wielanek M. and Wysokinska H. 2005. "Liquid culture system for shoot multiplication and secoiridoid production in micropropagation plants of *Centaurea erythaea* Rafn." *Plant Science*. 168 : 431-437.
- Tomas G.L. 1958. *Garden pools, water-lilies and goldfish*. D. Van Nostrand Company, Inc. Princeton. New Jersey. 222p.
- Watad A.A., A. Ahroni., A. Zuker., H. Shejtman., A. Nissim and A. Vainstein. 1996. "Adventitious shoot formation from canation stem segments : a comparison of different culture procedures." *Scientia Horticulturae*. 65 : 313-320.

## ภาคผนวก

ตารางที่ 1 สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog)(1962)

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณ (mg/l)
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1,650.00
$\text{KNO}_3$	1,900.00
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440.00
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370.00
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170.00
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.20
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.30
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60
KI	0.83
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.80
$\text{Na}_2\text{EDTA}$	37.30
Myo-inositol	100.00
Nicotinic acid	0.50
Pyridoxine HCl	0.50
Thiamine HCl	0.10
Glycine	2.00
Sucrose	30,000.00
pH	5.5-5.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อการเกิดจำนวนใบอุบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	7.887	1.972	4.73**	2.53	3.65
Ex.Error	55	22.946	0.417			
Total	59	30.834	0.523			

Grand Mean = 3.20                      CV = 20.17 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางที่ 3 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อการเกิดจำนวนใบอุบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	8.537	2.134	4.36**	2.53	3.65
Ex.Error	55	26.923	0.489			
Total	59	35.460	0.601			

Grand Mean = 3.64                      CV = 19.20 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อการเกิดจำนวนใบอุบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 3 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	9.977	2.494	3.80**	2.53	3.65
Ex.Error	55	36.125	0.657			
Total	59	46.102	0.781			

Grand Mean = 3.88                      CV = 20.90 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางที่ 5 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อการเกิดจำนวนใบอุบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	10.586	2.646	3.76**	2.53	3.65
Ex.Error	55	38.681	0.703			
Total	59	49.267	0.835			

Grand Mean = 4.08                      CV = 20.54 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อการเกิดจำนวนใบอุบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	13.900	3.475	3.61**	2.53	3.65
Ex.Error	55	52.940	0.963			
Total	59	66.841	1.133			

Grand Mean = 4.42 CV = 22.21 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางที่ 7 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อการเกิดจำนวนใบอุบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	50.221	12.555	6.37**	2.53	3.65
Ex.Error	55	108.446	1.972			
Total	59	158.667	2.689			

Grand Mean = 5.24 CV = 26.81 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อการเกิดจำนวนยอดของอุบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	8.903	2.226	7.61**	2.53	3.65
Ex.Error	55	16.095	0.292			
Total	59	24.998	0.424			

Grand Mean = 2.29                      CV = 23.65 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางที่ 9 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อขนาดใบกว้างของอุบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	0.116	0.029	4.55**	2.53	3.65
Ex.Error	55	0.351	0.006			
Total	59	0.467	0.008			

Grand Mean = 1.14                      CV = 7.02 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อขนาดไบบาวของอุบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	0.099	0.025	3.99**	2.53	3.65
Ex.Error	55	0.340	0.006			
Total	59	0.439	0.007			

Grand Mean = 1.17                      CV = 6.74 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางที่ 11 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักของอุบลชาติพันธุ์ Hillary เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	1.046	0.261	6.76**	2.53	3.65
Ex.Error	55	2.126	0.038			
Total	59	3.171	0.054			

Grand Mean = 1.18                      CV = 16.70 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสถานะอาหารที่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักของอุบลชาติพันธุ์ Hillary  
เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ( $\sqrt{x+1}$  Transformation)

Source	df	SS	MS	F	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	4	1.187	0.297	5.88**	2.53	3.65
Ex.Error	55	2.775	0.050			
Total	59	3.962	0.067			

Grand Mean = 1.20

CV = 18.72 %

\*\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้