ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การศึกษาเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

A Preliminary Study on Tissue Culture of Sacred Lotus cv."Buntharik"

โดย

นายสุเมธ อินทมาตย์

ได้พิจารณาเห็นชอบจาก

.....

(อาจารย์ ดร.สุเม อรัญนารถ)

อาจารย์ที่ปรึกษา

T100302

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผศ.ดร.ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่....เดือน.....พ.ศ.....

ฟพ.
ศธ๘๓๗
๒๕๓๖

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ห้องสมุด
เลขหมู่ 100302
ลงทะเบียน วันที่ 18 JUN 2009

14847

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

A Preliminary Study on Tissue Culture of Sacred Lotus cv."Buntharik"

โดย

นายสุเมธ อินทมาตย์

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ ดร.สุเม อรัญนารถ

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2536

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง	การศึกษาเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก
	A Preliminary Study on Tissue Culture of Sacred Lotus cv."Buntharik"
โดย	นายสุเมธ อินทมาตย์
สาขา	เทคโนโลยีการผลิตพืช ภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช
คณะ	เทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.สุเม อรัญนารถ

การศึกษาเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก โดยนำชิ้นส่วนตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol 70 % นาน 1 นาที mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที, calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 30 นาที, calcium hypochlorite 1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที แล้วจึงล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที ทำการทดลองชักนำชิ้นส่วนให้เกิดตา โดยนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ พบว่าอาหารสูตร 1/2 MS (Murashige and Skoog,1962) ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 μM ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 μM สามารถชักนำให้เกิดตาได้มากที่สุด เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์

Abstract

A preliminary study on tissue culture of sacred lotus cv. "Buntharik" was carried out. Surface sterilization of buds on stolon of *Nelumbo nucifera* Gaertn."Buntharik" was done with 70 % (v/v) ethanol for 1 min followed by 0.1 % (w/w) mercuric chloride for 10 min and 5 % (w/w) calcium hypochlorite for 30 min and then argitated with 1 % (w/w) calcium hypochlorite for 10 min and rinsed three times in sterile distilled water. Excised buds were cultured in liquid on solid media of half strength Murashige and Skoog medium supplemented with NAA BA and GA_3. The maximum shoot regeneration was achieved from medium containing 0.5 μM NAA and 10 μM BA after 8 weeks of incubation.

คำนิยม

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.สุเม อรัญนารถ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้คำปรึกษาและให้ข้อแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาและตรวจแก้ไขสิ่งที่บกพร่องต่างๆ จนทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จอย่างสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์ ที่ให้คำปรึกษาและข้อแนะนำต่างๆ ในเรื่องเกี่ยวกับบัวหลวง เพื่อนำมาใช้ทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณสมบัติ เสริมใส ที่ช่วยนำชิ้นส่วนตาไหลของบัวหลวงจากสระขึ้นมาให้ และเพื่อนๆ น้องๆ ที่ให้กำลังใจในการทำให้ปัญหาพิเศษสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุน และช่วยเหลือทางด้านปัจจัย เงินทอง ทุกสิ่งทุกอย่าง พร้อมกับให้กำลังใจเสมอมา

สุเมธ อินทมาตย์

มกราคม 2537

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	(ข)
สารบัญตารางภาคผนวก	(ค)
สารบัญภาพ	(ง)
คำย่อที่ใช้ในรายงานฉบับนี้	(จ)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลอง	16
วิจารณ์ผลการทดลอง	24
สรุปผลการทดลอง	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	30

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 แสดงเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของเนื้อเยื่อตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก ซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ 16

2 แสดงคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน 19

3 แสดงการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 20

4 แสดงจำนวนตาที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน 21

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

1 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของ ตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 2 สัปดาห์ 31

2 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของ ตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 4 สัปดาห์ 31

3 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของ ตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 6 สัปดาห์ 32

4 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของ ตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์ 32

5 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนใบของ บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์ 33

6 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อความยาวก้านใบของ บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์ 33

7 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อขนาดใบของ บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์ 34

8 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อความยาวรากของ บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์ 34

9 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนตาของ บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 2 สัปดาห์ 35

10 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนตาของ บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 4 สัปดาห์ 35

11 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนตาของ บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 6 สัปดาห์ 36

12 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนตาของ บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์ 36

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะของอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium	12
2	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน	14
3	แสดงการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 8 สัปดาห์	22
4	แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 μM เมื่ออายุ 8 สัปดาห์	23
5	แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 145 μM เมื่ออายุ 8 สัปดาห์	23

คำย่อที่ใช้ในรายงานฉบับนี้

BA	6-Benzylaminopurine
Clorox	เป็นชื่อทางการค้า ประกอบด้วย NaOCl 5.25 w/w
GA_3	Gibberellic acid
MS	Murashige and Skoog (1962)
NAA	α-Naphthalene acetic acid
NaOCl	Sodium hypochlorite

การศึกษาเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

A Preliminary Study on Tissue Culture of Sacred Lotus cv."Buntharik"

คำนำ

บัวหลวงเป็นพืชสกุลหนึ่งที่รู้จักกันเป็นอย่างดีในประเทศไทย พบได้ทั่วไปทั้งในเขตร้อน เขตอบอุ่น และเขตหนาว ในประเทศไทยมีหลายชนิด ใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับ นำไปถวายหรือบูชาพระ หรือรับประทานส่วนต่างๆ เป็นอาหาร บางครั้งยังส่งบางส่วนของบัวหลวงเป็นสินค้าออกของประเทศได้อีกด้วย เช่น ดอกบัวหลวง จากสถิติของกรมส่งเสริมการเกษตร (2534) ปี พ.ศ. 2531 ส่งออกมีมูลค่า 28.0 ล้านบาท เพิ่มขึ้นจาก ปี 2529 ถึง 2.0 ล้านบาท ซึ่งในอนาคตตลาดมีความต้องการดอกบัวหลวงเพิ่มมากขึ้น การเพิ่มผลผลิตของดอกบัวหลวงให้สูงขึ้นจึงเป็นสิ่งที่ควรกระทำเพราะจะช่วยให้มีการส่งออกดอกบัวหลวงได้มากขึ้น แต่ในการเพิ่มผลผลิตและการตลาดของดอกบัวหลวงพบว่ามีปัญหาหลายด้านเช่น ปัญหาเรื่องศัตรูพืช อายุการใช้ประโยชน์สั้นเกินไป ดอกสูญเสียคุณภาพเร็วมาก รูปทรงและสีของดอกมีให้เลือกจำกัด เป็นต้น (กวินหาญ 2534 ; จินตนา และ ลาวัลย์, 2536) ดังนั้นการส่งเสริมให้มีการปลูกบัวหลวงเป็นการค้ามากขึ้นจึงจำเป็นต้องมีพันธุ์บัวหลวงที่ดีให้ผลผลิตสูง ต้านทานต่อโรคและแมลง มีคุณภาพของดอกดีและมีรูปแบบของดอกให้เลือกมากขึ้นให้เกษตรกรปลูก ปัจจุบันนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคนิคหนึ่งที่สามารถใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้ ดังนั้นงานทดลองนี้จึงมุ่งศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเบื้องต้นของบัวหลวงเพื่อใช้เป็นพื้นฐานที่จะนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์บัวหลวงต่อไปในอนาคต

การตรวจเอกสาร

บัวหลวงเป็นพืชอยู่ในสกุล (genus) *Nelumbo* Adans. วงศ์ (family) Nymphaeaceae (สุชาดา, 2530; Correll and Correll, 1975) Gilbert (1982) แยกพืชสกุลบัวหลวงออกเป็น 2 ชนิด (species) คือ *Nelumbo lutea* Pers. และ *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Core, 1955; Suvatabandhu, 1958)

N. lutea Pers. หรือ *Nelumbium luteum* Willd. มีถิ่นกำเนิดอยู่ในอเมริกา มีชื่อสามัญในภาษาอังกฤษว่า American lotus, Water chinkapin หรือ Yellow lotus มีลักษณะเหมือน *N. nucifera* แต่ใบมีขนาดเล็กกว่า ดอกสีเหลือง มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกของสหรัฐอเมริกา (Core, 1955; Suvatabandhu, 1958) มีรายงานว่าเคยมีผู้นำเข้ามาปลูกในประเทศไทยแต่ไม่สามารถเจริญได้ (Suvatabandhu, 1958)

N. nucifera Gaertn. หรือ *Nelumbium speciosum* Willd. มีชื่อสามัญในภาษาอังกฤษว่า Sacred lotus มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนแถบอินเดีย จีน ทิเบต (Core, 1955)

สำหรับในประเทศไทยตามรายงานมีเพียงชนิดเดียวคือ *Nelumbo nucifera* Gaertn. ซึ่งเรียกโดยทั่วไปว่า บัวหลวงหรือปทุมชาติ (Suvatabandhu, 1958) จากการศึกษาของ วาสนา (2527) พบว่ามีหลายพันธุ์และหลายชื่อซึ่งอาจแยกออกตามลักษณะ รูปร่าง และสีของดอกได้ดังนี้

พันธุ์ที่ 1 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ปลายเรียว ดอกสีชมพู มีชื่อว่า บัวหลวงชมพู ปทุมปัทมา หรือโกกนุทะ

พันธุ์ที่ 2 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 1 ดอกสีขาว มีชื่อว่า บัวหลวงขาว บุณฑริก หรือ ปุณฑริก

พันธุ์ที่ 3 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ป้อม ดอกสีชมพู มีชื่อว่า บัวหลวงชมพูซ้อน หรือสัตตบงกช หรือบัวฉัตรชมพู

พันธุ์ที่ 4 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ป้อมเหมือนพันธุ์ที่ 3 ดอกสีขาว มีชื่อว่า บัวหลวงขาวซ้อน สัตตบุษย์ หรือบัวฉัตรขาว

พันธุ์ที่ 5 ดอกขนาดเล็ก ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 1 ดอกสีขาว มีชื่อว่า

บัวเช็มขาว บัวปักกิ่งขาว หรือบัวหลวงจีนขาว

พันธุ์ที่ 6 ดอกขนาดเล็ก ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 5 ดอกสีชมพู มีชื่อว่า บัวเช็มชมพู บัวปักกิ่งชมพู หรือบัวหลวงจีนชมพู

ลักษณะประจำพันธุ์ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

จากการศึกษาของ จารีย์ (2519) พบว่าลักษณะของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก มีดังนี้

สภาพที่อยู่ตามธรรมชาติ สามารถเจริญได้ดีในแหล่งน้ำที่มีความลึก 72.5-106.5 เซ็นติเมตร สภาพของน้ำเป็นน้ำนิ่งแต่มีการไหลถ่ายเทได้ น้ำมี pH 7.45 งอกงามดีเมื่อไม่มีวัชพืชน้ำปะปน

ลักษณะภายนอก

ลำต้น มีลักษณะเป็นเหง้าอยู่ในโคลนลึก 5-15 เซ็นติเมตร ตรงข้อส่วนบนมีตาซึ่งให้กำเนิดใบและดอก ส่วนล่างมีราก ช่วงปล้องที่ทอดไปตามดินยาว 16-20 เซ็นติเมตร

ราก ออกจากข้อ เป็นระบบรากฝอย มีจำนวนมาก รากอ่อนที่ออกมามีสีขาวและหมวกรากใหญ่ รากแก่มีรากแขนงออกมา ความยาวของรากแก่ 4-12 เซ็นติเมตร

ใบ ออกจากข้อตั้งตรงขึ้นมาในอากาศ มีก้านใบแข็ง อวบและมีหนามขนาดเล็กสีน้ำตาลแดงกระจายอยู่ทั่วไป และมีจำนวนของหนามลดน้อยลงในส่วนของต้นที่อยู่ในโคลน โดยทั่วไปก้านใบมีสีเขียวแต่ส่วนที่อยู่ใต้น้ำมีสีจางลง ก้านใบยาว 86.3-145.7 เซ็นติเมตร มีน้ำยางขาวเมื่อถูกกับอากาศแล้วเหนียวเป็นเส้นใย ก้านใบติดกับตัวใบทางด้านใต้ตรงกลางใบ ใบมีรูปร่างเกือบกลม มีส่วนเว้า บริเวณตอนกลางของตัวใบจะบุ๋มลง ทำให้ส่วนขอบใบและบริเวณใกล้เคียงสูงขึ้นเล็กน้อย ขนาดของใบวัดส่วนที่กว้างที่สุด 33.5-55.2 เซ็นติเมตร วัดจากส่วนปลายถึงฐาน 26.2-47.5 เซ็นติเมตร และวัดจากส่วนยื่นของฐานถึงปลายยาว 30.1-51.5 เซ็นติเมตร ขอบใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ด้านบนใบมีสีเขียว การจัดระเบียบของเส้นใบเป็นแบบ palmately netted venation

ดอก เป็นดอกเดี่ยวขนาดใหญ่สีขาว ขณะตูมจะมีลักษณะเป็นรูปไข่เรียว เมื่อบานมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 13-18.5 เซ็นติเมตร ก้านดอกมีสีและลักษณะคล้ายก้านใบ ก้านดอกยาว 85.0-149.5 เซ็นติเมตร กลีบดอกมี 4-5 กลีบ เรียงตัวเป็นสองชั้นสับหว่างกัน ด้านนอกของกลีบมีสีขาวปนเขียว ส่วนด้านในมีสีจางลง เส้นบนกลีบมีขนาดใกล้เคียงกันและมีจำนวนมากแต่ไม่นูนเด่น

ชัด กลีบนอกมีรูปร่างรี โค้งป่องตรงกลาง กลีบในมีประมาณ 12-14 กลีบ เรียงตัวเป็นชั้นประมาณ 3 ชั้นโดยรอบฐานรองดอก กลีบในชั้นนอกและชั้นในมีขนาดเล็กกว่าชั้นกลาง ด้านนอกของกลีบจะมีสีเหลืองปนเขียว ด้านในสีอ่อนกว่าเห็นเส้นบนกลีบสีขาวและมีขนาดใกล้เคียงกันจำนวนมาก ชั้นที่อยู่ตรงกลางจะมีขนาดใหญ่ที่สุด มีรูปร่างรูปไข่แต่มีส่วนกว้างอยู่ตอนบน (obovate) เห็นเส้นบนกลีบในชัดเจนประมาณ 5 เส้น มีสีขาวนวลโดยตลอดทั้งด้านนอกและด้านในยกเว้นตรงส่วนที่ติดกับฐานรองดอกจะมีสีเหลือง เกสรตัวผู้มี 90-117 อันอยู่เหนือชั้นกลีบในโดยเรียงติดรอบฐานรองดอก ก้านชูเกสรตัวผู้เรียวเล็ก มีสีเหลืองนวล ตอนบนมีอับเรณูสีเหลืองสดติดตามความยาวของแกนเหนืออับเรณูขึ้นไปมีส่วนปลายสีขาวขุ่น รูปร่างเล็กเรียวที่ฐานและใหญ่ที่ส่วนปลาย ความยาวของส่วนปลาย 0.25-0.3 เซ็นติเมตร เกสรตัวผู้มีกลิ่นหอม เกสรตัวเมียมีรังไข่อยู่สูงกว่าชั้นเกสรตัวผู้ สีเหลืองนวล มีผนังหนาฝังอยู่ส่วนบนของฐานรองดอกที่มีลักษณะรูปกรวยและมีสีเหลือง ก้านชูเกสรตัวเมียสั้น ยอดเกสรตัวเมียแบนกลมสีเหลืองเป็นมันแข็ง ในดอกหนึ่งจะมี carpel 15-30 อันและอยู่กระจายไม่ติดกัน ภายในแต่ละรังไข่จะมีไข่อยู่ 1 อัน

ผล เกิดจากฐานรองดอกที่รองรับรังไข่เจริญมาเป็นผลแบบ aggregate fruit มีขนาดกว้าง 5-7 เซ็นติเมตร สูง 5-6 เซ็นติเมตร สีเขียว ผลย่อยแต่ละผลเป็นแบบ nut มีเปลือกหนาสีเขียว แต่ส่วนที่ฝังตัวอยู่ในฐานรองดอกจะมีสีเหลืองปนเขียว

เมล็ด มีเปลือกหุ้มหนาแต่นิ่ม ภายในมีใบเลี้ยงใหญ่ 2 ใบและต้นอ่อน 1 ต้น

<u>การขยายพันธุ์ของบัวหลวงโดยทั่วไป</u>

1.การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือใช้เมล็ด การขยายพันธุ์แบบนี้เหมาะที่จะใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อให้ได้พันธุ์แปลกๆใหม่ๆขึ้นมาหลายๆพันธุ์ ตามปกติแล้วบัวจัดเป็นพืชพวกผสมข้าม ทั้งนี้เพราะเกสรตัวผู้จะแก่พร้อมที่จะผสมพันธุ์ในวันที่ 2 หลังจากดอกเริ่มบาน ซึ่งในสภาพธรรมชาติแล้วจะมี แมลง และลม ช่วยในการผสมเกสรอยู่แล้ว

2.การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ การขยายพันธุ์แบบนี้นิยมใช้กันมาก เพราะเป็นการขยายพันธุ์ที่ทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว โดยการตัดแยกต้นอ่อนที่เจริญขึ้นมาใหม่ จากส่วนลำต้นของต้นแม่ ที่ใช้เป็นส่วนในการขยายพันธุ์มีดังนี้

1) ขยายพันธุ์จากส่วนของเหง้า (rhizome) เหง้าจัดเป็นส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ผิวดิน การเจริญเติบโตของเหง้าจะเจริญทั้งในแนวนอนใต้ผิวดิน และขยายออกรอบทิศ เมื่อ

เหง้าแก่ก็จะขยายออก และมีการสะสมอาหาร หลังจากนั้นตาก็จะแตกเป็นต้นอ่อนเจริญขึ้นมา ให้ตัดเหง้าที่ต้นอ่อนเจริญขึ้นมา โดยให้มีส่วนของเหง้าเดิมติดไป 2-3 นิ้ว เหง้าเดิมที่ตัดไปจะมีอาหารสะสมไว้อย่างเหลือเฟือ สำหรับการสร้างใบและรากเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่

2) ขยายพันธุ์จากส่วนของไหล (stolon) ไหลจะเจริญเติบโตจากส่วนของหัวหรือเหง้าของต้นแม่ แล้วงอกเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่จากนั้นให้ตัดแยกไหลดังกล่าวนำไปขยายพันธุ์ได้ แต่ไหลที่ตัดแยกจากต้นแม่ควรมีการผลิใบลอยเหนือน้ำ 2-3 ใบ ในระยะนี้สามารถตัดแยกไหลนำไปขยายพันธุ์ต่อไป (สุรเชษฐ และ ปัญญา, 2533)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture) หมายถึงเทคนิคการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะพืช เนื้อเยื่อ เซล หรือเซลที่ไม่มีผนังที่เรียกว่า โปรโตพลาส (Protoplast) มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วย เกลือ แร่ธาตุ น้ำตาล และไวตามิน ในสภาพปลอดเชื้อรา แบคทีเรีย และสาหร่าย ในสภาพแวดล้อมที่ควบคุม ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง (อรดี, 2522)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้มีการศึกษาค้นคว้ากันครั้งแรกตั้งแต่ปี ค.ศ. 1902 โดยชาวเยอรมันชื่อ Haberlandt เขาพยายามเอาเซลจากใบของพืชมาเลี้ยงโดยหวังว่าเซลเพียงเซลเดียวจะสามารถแบ่งตัวและสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นพืชใหม่ได้ แต่ทำไม่สำเร็จ เนื่องจากเซลของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวเพาะเลี้ยงยาก และในสมัยนั้นยังไม่มีการค้นพบหรือรู้จักเกี่ยวกับการใช้ฮอร์โมนพืช (Sharp and Larsen, 1977)

Sharp and Larsen (1977)ได้อ้างถึงว่าในปี ค.ศ. 1939 Guatheretได้ศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ชิ้นส่วนเล็กๆ ของหัวแครอท ที่เลี้ยงในอาหารประกอบด้วยสารประกอบอนินทรีย์ น้ำตาลกลูโคส ไวตามินบี 1 (thiamine), crystein hydrochloride และ IAA ได้สำเร็จ และในปี ค.ศ.1939 ได้มีชาวฝรั่งเศส 2 ท่าน คือ Nobercourt และ Guatheret กับ White ชาวอเมริกา ต่างก็รายงานพ้องกันว่า สามารถเลี้ยงเนื้อเยื่อของแคลลัส (Callus) ในอาหาร (media) ที่สังเคราะห์ขึ้นได้อย่างไม่จำกัด ต่อมาในปี ค.ศ. 1953 Skoog and Miller ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ pith ของยาสูบโดยใช้ kinetin กระตุ้นให้เกิดการสร้างตา นอกจากสูตรอาหารที่เป็นปัจจัยสำคัญ ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้สำเร็จแล้วในปี ค.ศ. 1957

Skoog และ Miller ได้พบว่า การพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นต้นหรือราก ขึ้นอยู่กับความสมดุลย์ของฮอร์โมน 2 กลุ่ม คือ ออกซิน (Auxins) และไซโตไคนิน (Cytokinins) โดยพบว่าหากอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสูงกว่าอัตราส่วนสมดุลย์แล้ว เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นแคลลัส (Callus) และราก แต่ในทางตรงข้ามถ้าอัตราของออกซิน และไซโตไคนินต่ำกว่าอัตราสมดุลย์ เนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นยอด ถ้าอัตราของสาร 2 กลุ่มนี้สมดุลย์เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นยอดและราก จากการทดลองค้นคว้าเรื่องฮอร์โมนนี้ ทำให้ความสำเร็จของการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแผ่กระจายกว้างขวางยิ่งขึ้นทุกที (ไพบูลย์, 2524)

ชิ้นส่วนเริ่มต้นหรือชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชที่นำมาใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องมีการพิจารณาเกี่ยวกับตำแหน่งและขนาดของชิ้นส่วน อายุและความสมบูรณ์ของต้นพืช ตลอดจนฤดูกาลที่จะขยายพันธุ์ (Murashige, 1974) ส่วนต่างๆของพืชโดยทั่วๆไปที่นำมาขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แก่ ปลายยอด ใบ ราก ช่อดอก ลำต้น และอื่นๆ ไพบูลย์ (2524)ได้รายงานว่าเนื้อเยื่อที่ได้จากต้นกล้าหรือส่วนของพืชที่ยังอ่อนจะใช้ได้ดีกว่าเนื้อเยื่อของพืชที่เจริญเติบโตจนเต็มที่แล้ว Murashige (1974) รายงานว่าชิ้นส่วนของพืชที่มีขนาดเล็กจะทำความสะอาดได้ง่ายกว่าชิ้นส่วนขนาดใหญ่ แต่อัตราการอยู่รอดและการเจริญต่ำกว่าชิ้นส่วนขนาดใหญ่

จากรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลายพืชซึ่งใช้ส่วนยอดสุดที่มีขนาดต่ำกว่า 0.1 มิลลิเมตร พบว่าการรอดตายและอัตราการเจริญต่ำกว่า ทั้งนี้เพราะชิ้นส่วนพืชมีขนาดเล็กเกินไป แต่มีผลดีคือต้นพืชที่ได้ปราศจากโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส (Kehr, 1975)

การทำความสะอาดชิ้นส่วน

Nickerson (1978) รายงานว่า การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดของ Lowbush Blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.) โดยใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที และ calcium hypochlorite 5 % นาน 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาดที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปรากฏว่าชิ้นส่วนของใบเลี้ยงและ hypocotyl ที่ตัดมาเลี้ยงในอาหารมีการเกิดยอด 5-70 ยอดต่อชิ้นส่วนหลังจากเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

สรรลาภ (2526) ทำการศึกษาการทำความสะอาดชิ้นส่วนของลำต้นที่มีตาติดอยู่ ของหน้าวัวพันธุ์ดวงสมร และดาราทอง โดยใช้ clorox ที่มีความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที พบว่าการใช้ clorox 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที

ลอกกาบหุ้มตาออก 2-3 ชั้น แล้วแช่ใน clorox 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 45 นาที ให้ผลดีที่สุด

Quynh and Uyen (1987) รายงานว่า การฟอกฆ่าเชื้อส่วนตาจากหัว (tuber) ของ *Xanthosoma violaceum* โดยล้างน้ำไหล แล้วใช้ ethanol 70 % นาน 3 นาที และ calcium hypochlorite 10 % นาน 30 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ปรากฏว่า มีการเจริญของ corm-like bodies เกิดขึ้น หลังจากเลี้ยงนาน 8-10 สัปดาห์

ธีรวัฒน์ (2536) ได้ศึกษาผลของสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีต่อการทำความสะอาดชิ้นส่วนตาที่เกิดจากต้นหรือเหง้าใต้ดินของเฮลิโคเนีย พบว่าวิธีการที่ทำให้มีการปนเปื้อนน้อยที่สุดคือ การใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที, mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที, calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 20 นาที แล้วลอกกาบของหน่อออกก่อน ประมาณ 2-3 ชั้น, calcium hypochlorite 1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งนานครั้งละ 5 นาที ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 10 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองเป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ และมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชน้ำ

Kane *et al.* (1988a) ได้เลี้ยงส่วนของ rhizome ของบัวหลวง American lotus [*Nelumbo lutea* (Willd.) Pers.] ที่ได้จากการเลี้ยงส่วนของ embryos ในอาหารเหลวสูตร 1/2 MS ปรากฏว่า rhizome สามารถเจริญได้สูงสุดในสูตรอาหารที่เติม GA_3 290 μM (100 mg/l)

Kane *et al.* (1988b) รายงานว่าการเลี้ยงส่วนปลายยอดของ *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdcourt (Parrot-feather) และ *Limnophila indica* (L.) Druce (Ambulia) ใน liquid basal medium (BM) 1/2 MS + sucrose 87.6 mM + 2iP ความเข้มข้น 10 μM และ BA ความเข้มข้น 2.5 μM สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 19 ยอดต่อชิ้นส่วน และ 11 ยอดต่อชิ้นส่วนตามลำดับ หลังจากเลี้ยงนาน 14 วัน

Kane *et al.* (1988c) รายงานว่าการเลี้ยงตาที่ติดกับข้อของ Parrot-feather [*Myriophyllum aquaticum* (Vellozo) Verdcourt] โดยฟอกฆ่าเชื้อด้วยการล้างน้ำไหลนาน 1 ชั่วโมง, sodium hypochlorite 1.0 % (w/v) นาน 12 นาที และล้างออกด้วยน้ำ

กลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งนานครั้งละ 5 นาที โดยเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร 1/2 MS + sucrose 87.6 mM, TC agar(Hazleton Research Products, Inc.,Lenexa, Kan.) 15 g/l จะชักนำให้เกิดยอดยาว 5-6 ข้อ หลังจากเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ แล้วนำไปเลี้ยงในอาหาร MS+sucrose 87.6 mM, thiamine-HCl 1.2 μM myo-inositol 0.56 mM และวุ้น 8 g/l + 2iP ความเข้มข้น 10 μM (2 mg/l) สามารถชักนำให้เกิดยอดได้

Jenks *et al.* (1990) รายงานว่าการเลี้ยง *Nymphaea* 'Daubeniana' โดยใช้ส่วนของใบอ่อนของต้นพืชที่ได้ชักนำให้เกิดตามธรรมชาติมาฟอกฆ่าเชื้อโดยล้างน้ำไหลนาน 30 นาที ethanol 50 % (v/v) นาน 90 วินาที, ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วนาน 5 นาที, sodium hypochlorite 1.31 % (v/v)+tween20 2 หยด/100 ml นาน 12 นาที, ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งนานครั้งละ 5 นาที นำไปเลี้ยงใน liquid basal medium (BM) MS (1962) + sucrose 87.6 mM, myo-inositol 0.56 mM, thiamine-HCl 1.2 μM + 2iP ความเข้มข้น 10 μM และ IAA ความเข้มข้น 3 μM เมื่อเลี้ยงนาน 5 สัปดาห์ก็ย้ายไปเลี้ยงในอาหารแข็ง BM + TC agar (Hazleton Research Products, Inc.,Lenexa, Kan.) 0.8 % (w/v) เลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงในอาหาร BM + thidiazuron 3 μM ในภาชนะ Magenta GA-7 ขนาด 7.5x7.5x10 เซ็นติเมตร โดยวางชิ้นส่วนบน polypropylene membrane ขนาด 53 x 53 มิลลิเมตร เลี้ยงนาน 5 สัปดาห์ ปรากฏว่า ชิ้นส่วน 12 ชิ้น จาก 16 ชิ้น สามารถเกิด aerial leaves 8 ใบ/ชิ้นส่วน

Kane *et al.* (1990) ทำการเลี้ยงปลายยอดของ *Cryptocoryne lucens* de Witt. โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol 50 % (v/v) นาน 1 นาที และ clorox 1.05 % (w/v) นาน 12 นาที แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Linsmaier and Skoog (LS) (1965) ที่เติม BA 20 μM และ NAA 0.5μM สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด (7.7 ยอด/ชิ้นส่วน) หลังจากเลี้ยงนาน 35 วัน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก
2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
   2.1. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสูตรอาหาร Basic Medium (BM) ซึ่งประกอบด้วย อาหารสูตร 1/2 MS [Murashige and Skoog (1962) (ดูส่วนประกอบในภาคผนวก)] + NAA 0.5 μM
   2.2. สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่
      - BA (6-benzylaminopurine)
      - GA_3 (Gibberellic acid)
      - NAA (α-naphthalene acetic acid)
3. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหารประกอบด้วย เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ บีกเกอร์, ปิเปต, กระบอกตวง, Filter, ขวดแก้วสำหรับใส่อาหารพร้อมฝาปิด, เครื่องชั่งชนิดหยาบ, เครื่องชั่งชนิดละเอียด, เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) และหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
4. สารเคมีที่ใช้สำหรับฆ่าเชื้อ ได้แก่ ethylalcohol 70 %, clorox, calcium hypochlorite, mercuric chloride, tween20
5. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนพืช ได้แก่ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar flow), มีดผ่าตัด, ปากคีบ, ตะเกียงแอลกอฮอล์และจานแก้ว (Petri-dish)
6. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ 25$\pm$3 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอด cool white 12 ชั่วโมงต่อวัน
7. อุปกรณ์อื่นๆ ปากกาเขียนเครื่องแก้ว, นาฬิกาจับเวลา, กระดาษ foil, ถุงพลาสติก เป็นต้น

<u>วิธีการ</u> แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 การศึกษาการฆ่าเชื้อตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

ใช้ตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก มาทำความสะอาดด้วยวิธีการต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 20 ซ้ำ 6 วิธีการ ดังนี้

วิธีการที่ 1

1.ethanol 70 % นาน 1 นาที

2.clorox 20 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

3.clorox 10 % + tween20 2 หยด นาน 20 นาที

4.ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

วิธีการที่ 2

1.ethanol 70 % นาน 1 นาที

2.mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

3.clorox 20 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

4.clorox 10 % + tween20 2 หยด นาน 20 นาที

5.ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

วิธีการที่ 3

1.ethanol 70 % นาน 1 นาที

2.mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

3.calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 20 นาที

4.calcium hypochlorite 1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

5.ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

วิธีการที่ 4

1.ethanol 70 % นาน 1 นาที

2.mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

3.clorox 20 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

4.ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 1 ครั้ง นาน 5 นาที

5.ลอกกาบของตาไหลออกก่อนประมาณ 2-3 ชั้น

6.clorox 10 % + tween20 2 หยด นาน 20 นาที

7.ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

วิธีการที่ 5

1.ethanol 70 % นาน 1 นาที

2.mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

3.calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 20 นาที

4.ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 1 ครั้ง นาน 5 นาที

5.ลอกกาบของตาไหลออกก่อนประมาณ 2-3 ชั้น

6.calcium hypochlorite 1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

7.ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

วิธีการที่ 6

1.ethanol 70 % นาน 1 นาที

2.mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

3.calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 30 นาที

4.calcium hypochlorite 1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที

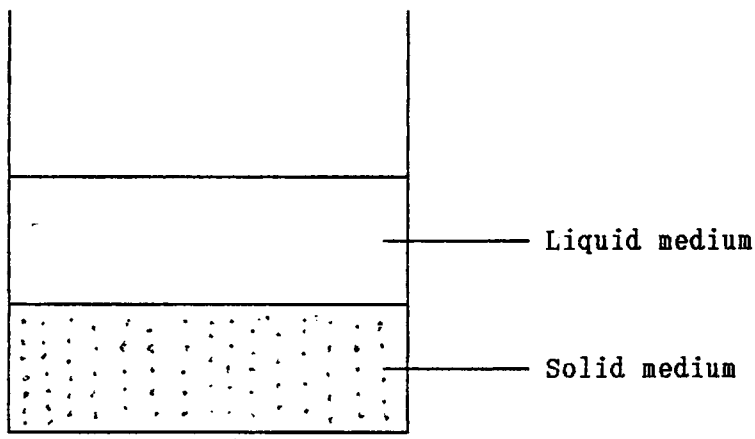
5.ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

แล้วตัดส่วนตาไปเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง(ภาพที่ 1) สูตร Basic Medium ที่เติม BA ความเข้มข้น 20 μM เป็นเวลา 2 เดือน

<u>การบันทึกข้อมูลของการทดลองที่ 1</u>

บันทึกการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเป็นระยะๆในวันที่ 5, 10 และ 15 ของการทดลอง โดยบันทึกดังนี้

- จำนวนชิ้นของการปนเปื้อน
- จำนวนชิ้นที่ตาย
- จำนวนชิ้นที่ปราศจากการปนเปื้อนและมีชีวิตรอด



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium

<u>**การทดลองที่** 2 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของตา</u>

โดยการนำต้นที่ได้จากการทดลองที่ 1 มาเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง (ภาพที่ 1) สูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 4 วิธีการ (treatment) 10 ซ้ำ ดังนี้

1. 1/2 MS + NAA 0.5 μM + BA 10 μM
2. 1/2 MS + NAA 0.5 μM + BA 20 μM
3. 1/2 MS + NAA 0.5 μM + BA 30 μM
4. 1/2 MS + NAA 0.5 μM + GA_3 145 μM

การบันทึกข้อมูลของการทดลองที่ 2

บันทึกการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนโดยการให้คะแนน ซึ่งมีหลักเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

คะแนน 1 : ชิ้นส่วนมีลักษณะเหมือนเมื่อเริ่มทดลอง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาด แต่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือดำ (ภาพที่ 1a)

คะแนน 2 : ชิ้นส่วนมีสีเหลือง มีลักษณะเหมือนเมื่อเริ่มทดลอง แสดงอาการเริ่มตาย (ภาพที่ 1b)

คะแนน 3 : ชิ้นส่วนมีสีเขียว มีลักษณะเหมือนเมื่อเริ่มทดลอง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ (ภาพที่ 1c)

คะแนน 4 : การเจริญเติบโตน้อย ชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้น 1-2 ใบ ใบมีขนาดเล็กกว่า 1.0 เซ็นติเมตร ก้านใบสั้นกว่า 2.0 เซ็นติเมตร (ภาพที่ 1d)

คะแนน 5 : การเจริญเติบโตพอใช้ ชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้น 1-2 ใบ ใบมีขนาดใหญ่กว่า 1.0 เซ็นติเมตร ก้านใบยาวกว่า 2.0 เซ็นติเมตร มีตาเกิดขึ้น 1-3 ตา (ภาพที่ 1e)

คะแนน 6 : การเจริญเติบโตดี ชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้น 3-4 ใบ ใบมีขนาดใหญ่กว่า 1.0 เซ็นติเมตร ก้านใบยาวกว่า 2.0 เซ็นติเมตร มีตาเกิดขึ้น 4-6 ตา (ภาพที่ 1f)

คะแนน 7 : การเจริญเติบโตดีมาก ชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้นมากกว่า 4 ใบ ใบมีขนาดใหญ่กว่า 1.0 เซ็นติเมตร ก้านใบยาวกว่า 2.0 เซ็นติเมตร มีตาเกิดขึ้นมากกว่า 6 ตา (ภาพที่ 1g)

เวลาและสถานที่

เวลา ... เริ่มการทดลอง เดือน มีนาคม 2536

สิ้นสุดการทดลอง เดือน พฤศจิกายน 2536

สถานที่ .. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาพที่ 2 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบ
อาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กั

a แสดงการให้คะแนน 1 (กำลังขยาย 0.40 x)

b แสดงการให้คะแนน 2 (กำลังขยาย 0.40 x)

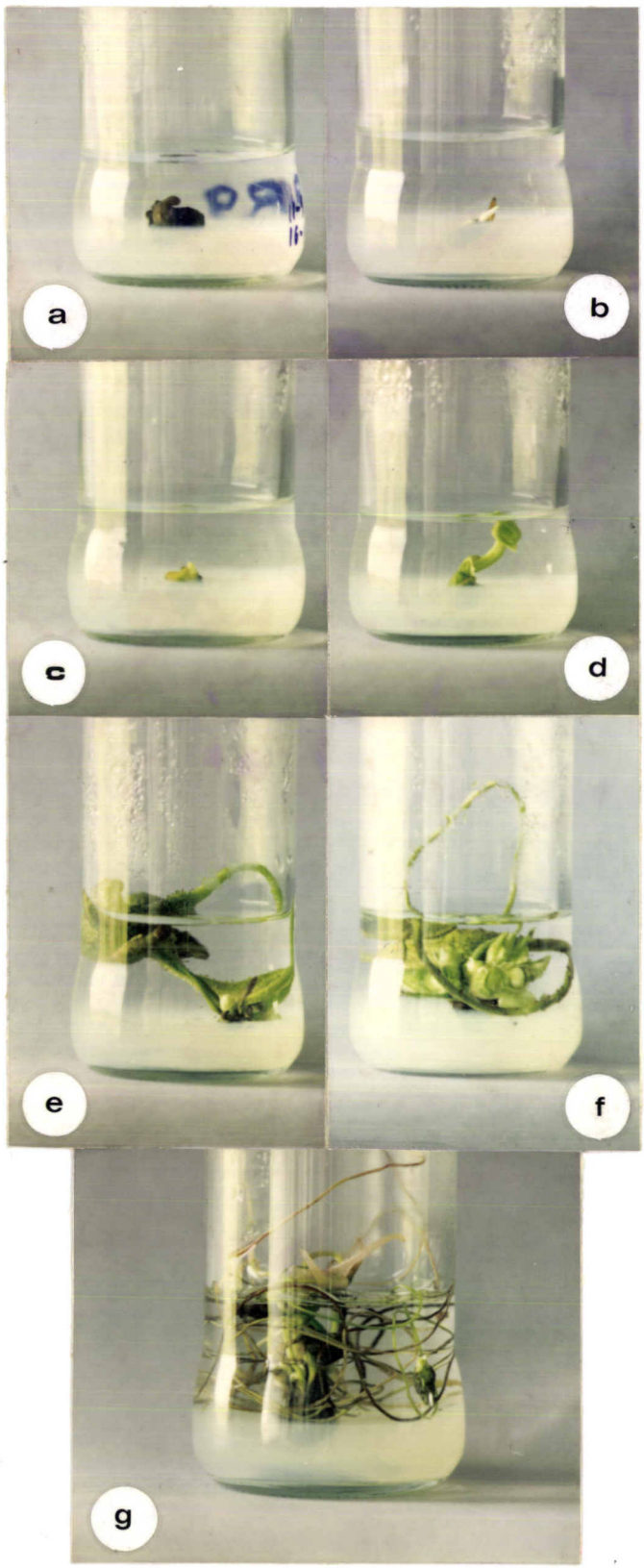
c แสดงการให้คะแนน 3 (กำลังขยาย 0.41 x)

d แสดงการให้คะแนน 4 (กำลังขยาย 0.41 x)

e แสดงการให้คะแนน 5 (กำลังขยาย 0.41 x)

f แสดงการให้คะแนน 6 (กำลังขยาย 0.42 x)

g แสดงการให้คะแนน 7 (กำลังขยาย 0.49 x)


a
b
c
d
e
f
g

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก โดยใช้วิธีการต่างๆ ดังแสดงไว้ในวิธีการทดลองที่ 1 ปรากฏผลดังนี้

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ

วิธีการที่	เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ			เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตาย
	5 วัน	10 วัน	15 วัน	
1.	70	60	55	0.00
2.	95	80	60	0.00
3.	100	95	85	0.00
4.	100	65	65	0.00
5.	100	85	75	0.00
6.	100	95	90	0.00

จากตารางที่ 1 การฟอกฆ่าเชื้อตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก ในช่วง 5 วันแรกของการทดลอง วิธีการที่ 1 และ 2 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยลง คือ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนวิธีการอื่นๆ ยังไม่มีการปนเปื้อนแต่อย่างใด ต่อจากนั้นอีก 5 วัน เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อลดลงทุกวิธีการ โดยวิธีการที่ 3 และ 6 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุดคือ 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวิธีการที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยที่สุดคือ 60 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อ 15 วันหลังการทดลอง วิธีการที่ 6 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด ซึ่งใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 30 นาที calcium hypochlorite 1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5

นาที ทำให้เนื้อเยื่อมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อสูงที่สุดคือ 90 % (ตารางที่ 1) รองลงมาคือวิธีการที่ 3 โดยใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 20 นาที calcium hypochlorite 1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที ทำให้เนื้อเยื่อมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 85 % ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการที่ 1 คือใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที clorox 20 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที clorox 10 % + tween20 2 หยด นาน 20 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที ทำให้เนื้อเยื่อมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อต่ำที่สุดคือ 55 เปอร์เซ็นต์ และทุกวิธีการมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายเท่ากับ 0.00 คือ ตาไหลที่นำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆทุกชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นพืชใหม่ได้ตามปกติ

การทดลองที่ 2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนยอดของชิ้นส่วน

1. การเจริญเติบโตของชิ้นส่วน

ในช่วง 2 สัปดาห์แรกตาไหลที่เลี้ยงในอาหาร Basic Medium ที่เติม BA และ GA_3 มีการเจริญเติบโตน้อยและไม่ต่างกัน โดยชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้น 1-2 ใบ ใบมีขนาดเล็กกว่า 1.0 เซ็นติเมตร ก้านใบสั้นกว่า 2.0 เซ็นติเมตร แต่ที่ความเข้มข้นของ GA_3 145 μM การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนไม่ดีนักเนื่องจากชิ้นส่วนมีการตาย (ตารางที่ 2) สัปดาห์ที่ 4 การเจริญเติบโตไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยมีการเจริญเติบโตน้อย ชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้น 1-2 ใบ ใบมีขนาดเล็กกว่า 1.0 เซ็นติเมตร ก้านใบสั้นกว่า 2.0 เซ็นติเมตร ในสัปดาห์ที่ 6 การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนมีเพิ่มมากขึ้น ชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้น 1-2 ใบ ใบมีขนาดใหญ่กว่า 1.0 เซ็นติเมตร ก้านใบยาวกว่า 2.0 เซ็นติเมตร มีตาเกิดขึ้น 1-3 ตา ยกเว้นที่ความเข้มข้นของ BA 20 μM ไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้น 1-2 ใบ ใบมีขนาดเล็กกว่า 1.0 เซ็นติเมตร ก้านใบสั้นกว่า 2.0 เซ็นติเมตร สัปดาห์ที่ 8 เห็นได้ชัดว่าที่ความเข้มข้นของ BA 10 μM ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตดีที่สุด (ตารางที่ 2) ชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้นเฉลี่ย 1.880 ใบ ขนาดใบเฉลี่ย 2.438 ตารางเซ็นติเมตร ก้านใบยาวเฉลี่ย 2.110 เซ็นติเมตร มีตาเกิดขึ้นเฉลี่ย 2.018 ตาต่อชิ้นส่วน(ภาพที่ 3a) รองลงมาคือ ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม GA_3

100302

ความเข้มข้น 145 μM โดยชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้นเฉลี่ย 1.760 ใบ ขนาดใบเฉลี่ย 1.342 ตารางเซ็นติเมตร ก้านใบยาวเฉลี่ย 2.967 เซ็นติเมตร มีตาเกิดขึ้นเฉลี่ย 1.840 ตาต่อชิ้นส่วน และมีรากเกิดขึ้นยาวเฉลี่ย 1.225 เซ็นติเมตร(ภาพที่ 3d) ในอาหารที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 20 μM การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนไม่ดีนัก(ภาพที่ 3b) คือ ชิ้นส่วนมีสีเขียว มีใบเกิดขึ้นเฉลี่ย 1.555 ใบ ขนาดใบเฉลี่ย 2.843 ตารางเซ็นติเมตร ก้านใบยาวเฉลี่ย 1.658 เซ็นติเมตร มีตาเกิดขึ้นเฉลี่ย 1.514 ตาต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 3) และชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี BA เป็นส่วนประกอบจะมีตาเกิดขึ้นเป็นกระจุกไม่มีการยืดยาวของตา (ภาพที่ 4) แต่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี GA_3 เป็นส่วนประกอบจะมีการยืดยาวของตา(ภาพที่ 5)

2.<u>การเพิ่มจำนวนตา</u>

ในช่วง 2 สัปดาห์แรกพบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA และ GA_3 มีจำนวนตาเฉลี่ยเท่ากับ 1.10 ตา ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 (ตารางที่ 4) ในสัปดาห์ที่ 4 ที่ความเข้มข้นของ GA_3 145 μM ชิ้นส่วน มีจำนวนตาเฉลี่ยเท่ากับ 1.27 ตา ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ treatment อื่น สัปดาห์ที่ 6 ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 145 μM จำนวนตาเพิ่มมากขึ้นกว่าเดิม ในสัปดาห์ที่ 8 อาหารที่เติม BA 20 μM จำนวนตาที่แตกขึ้นมาใหม่มีน้อย แต่ที่ BA ความเข้มข้น 10 μM มีจำนวนตาเพิ่มขึ้นมากที่สุดในการทดลองนี้ซึ่งเมื่อพิจารณาร่วมกันระหว่าง BA ความเข้มข้น 20 และ 30 μM แล้วไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนที่ความเข้มข้นของ GA_3 145 μM มีชิ้นส่วนตายโดยมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์(ตารางที่ 3)

ตาที่เกิดขึ้นจากการชักนำของ BA และ GA_3 จะมีความแตกต่างกันโดยเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วย BA เนื้อเยื่อจะมีการเจริญเติบโตเป็นตายอดเล็กๆจำนวนมาก ตามีลักษณะเป็นกระจุกไม่ยืดยาว และไม่มีรากเกิดขึ้น (ภาพที่ 4) ส่วนการเจริญของเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วย GA_3 ตายอดจะยืดยาว เกิดข้อปล้อง มีการยืดยาวของปล้อง และมีรากเกิดขึ้นด้วย (ภาพที่ 5)

ตารางที่ 2 แสดงคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน

เวลา (สัปดาห์)	คะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ				F-test	CV %
	BA 10 μM	BA 20 μM	BA 30 μM	GA_3 145 μM		
2	4.10	3.70	3.75	3.66	NS	38.264
4	4.40	4.00	4.14	3.62	NS	22.977
6	4.60	4.00	4.28	4.00	NS	33.986
8	5.40	4.00	4.66	3.87	NS	36.210

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 3 แสดงการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Treatment	จำนวนชิ้นส่วน (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตาย	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ)	ขนาดใบเฉลี่ย (cm^2)	ความยาวก้านใบเฉลี่ย (cm)	ความยาวรากเฉลี่ย (cm)
BA 10 μM	10	0.00	1.880	2.438^{a}	2.110^{a}	1.000^{b}
BA 20 μM	9	0.00	1.555	2.843^{ab}	1.658^{ac}	1.000^{b}
BA 30 μM	6	0.00	1.699	2.166^{a}	1.802^{a}	1.000^{b}
GA_3 145 μM	8	20.00	1.760	1.342^{ac}	2.967^{ab}	1.225^{a}
F-test			NS	*	NS	*
CV %			33.592	47.781	55.406	15.269

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test.

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

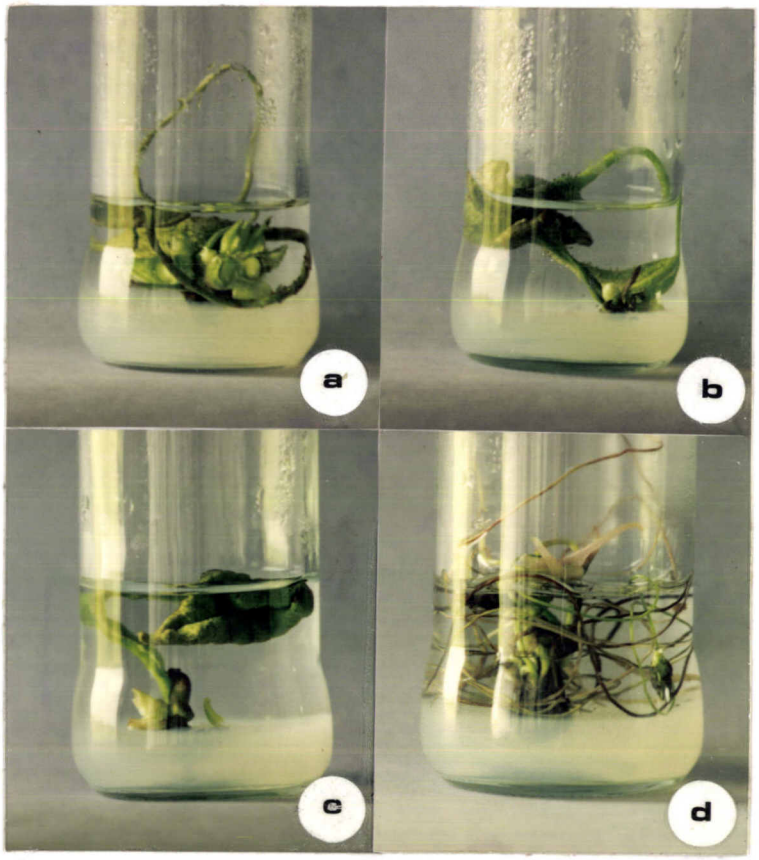
14547

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนตาที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน

เวลา (สัปดาห์)	จำนวนตา				F-test	CV %
	BA 10 μM	BA 20 μM	BA 30 μM	GA_3 145 μM		
2	1.124	1.082	1.103	1.092	NS	17.007
4	1.270	1.138	1.177	1.273	NS	23.873
6	1.270	1.138	1.177	1.274	NS	23.731
8	2.018	1.514	1.701	1.840	NS	38.068

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ห้องสมุดกระทรวงเทคโนโลยีการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร
เข้าสมุดเมื่อวันที่



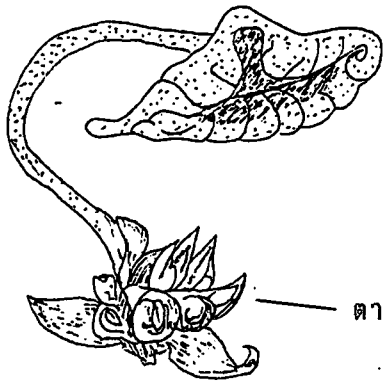
ภาพที่ 3 แสดงการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี GA_3 และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

a : BA ที่ระดับความเข้มข้น 10 μM (กำลังขยาย 0.41 x)

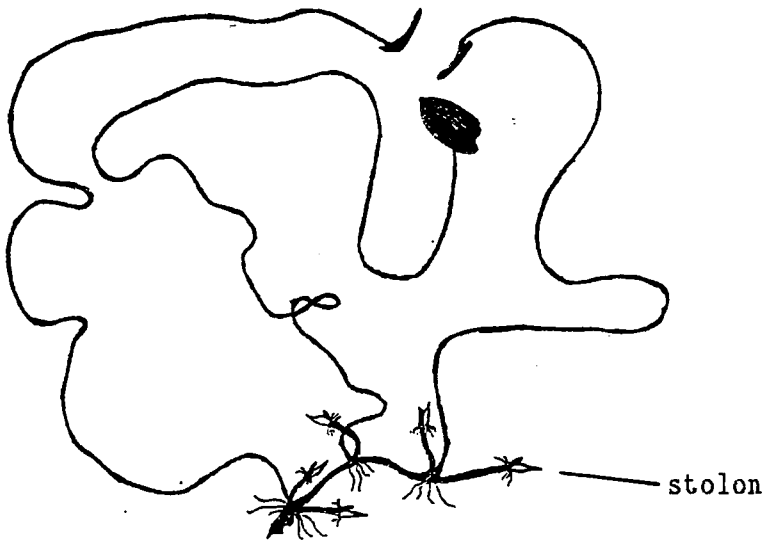
b : BA ที่ระดับความเข้มข้น 20 μM (กำลังขยาย 0.41 x)

c : BA ที่ระดับความเข้มข้น 30 μM (กำลังขยาย 0.45 x)

d : GA_3 ที่ระดับความเข้มข้น 145 μM (กำลังขยาย 0.49 x)



ภาพที่ 4 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 μM เมื่ออายุ 8 สัปดาห์



ภาพที่ 5 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 145 μM เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

วิจารณ์ผลการทดลอง

การฟอกฆ่าเชื้อตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

จากผลการทดลองพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกด้วยวิธีการที่ 3 ที่ใช้ calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 20 นาที จะมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนมากกว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการที่ 6 ที่ใช้ calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 30 นาที ถึงแม้ว่าการปฏิบัติอื่นๆจะเหมือนกัน เนื่องจากว่า calcium hypochlorite สามารถซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ลึกกว่า แต่ถ้าใช้เวลาน้อยเกินไปจะไม่ได้ผล เนื่องจากบัวหลวงเป็นพืชน้ำ โอกาสที่จะมีเชื้อปลอมปนมีมาก การเพิ่มเวลาให้มากขึ้นก็เพื่อต้องการฆ่าเชื้อที่อาจจะหลงเหลืออยู่บ้างให้หมดไป เช่นเดียวกับการทดลองของ ชะอ้อน(2531) ที่รายงานว่า การแช่ใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ของหน้าวัวพันธุ์ Double Spathe ในสารฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลานานที่สุดจะได้ผลดีที่สุด

สำหรับการฟอกฆ่าเชื้อตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก ด้วยวิธีการที่ 1 และวิธีการที่ 2 โดยใช้ clorox ปรากฏว่าเนื้อเยื่อมีการปนเปื้อนมากที่สุดตามลำดับ ซึ่งความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่สูงสุดและต่ำสุดจะแสดงให้เห็นว่า calcium hypochlorite มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อได้ดีกว่า clorox ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของธีรวัฒน์ (2536) ที่ได้ศึกษาผลของสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีต่อการทำความสะอาดชิ้นส่วนตาที่เกิดจากต้นหรือเหง้าใต้ดินของเฮลิโคเนีย โดยใช้ clorox 20 % จะมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 20 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าใช้ calcium hypochlorite 5 % จะมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เวลาในการฟอกฆ่าเชื้อนานเท่ากันคือ 20 นาที

ผลของ BA และ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

การเลี้ยงเนื้อเยื่อตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร Basic Medium ที่มี BA ระดับ 10, 20, 30 μM และ GA_3 145 μM พบว่าในอาหารที่มี BA ทุกความเข้มข้นทำให้ตามีการเจริญเติบโตมากกว่า GA_3 (ตารางที่ 2) โดยเฉพาะ BA

ความเข้มข้น 10 μM ทำให้เกิดตามากที่สุด(ตารางที่ 4) ทั้งนี้เนื่องจาก BA เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินซึ่งมีผลต่อการชักนำการแบ่งเซลของชิ้นส่วนที่เลี้ยงใน culture จึงทำให้สามารถกระตุ้นการเกิดตา (สัมพันธ์, 2526) ทำให้มีจำนวนตามากกว่า GA_3 แต่ที่ BA ความเข้มข้นสูงเกินไปจะไปมีผลยับยั้งการเพิ่มปริมาณตา ทำให้การเกิดตาลดน้อยลง (ตารางที่ 4) ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อเยื่อตามีปริมาณฮอร์โมนภายในเนื้อเยื่อแตกต่างกันซึ่งปลายยอดเป็นแหล่งสร้างฮอร์โมนออกซิน (Leopold, 1975) ซึ่งในการพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นยอดหรือรากนั้นขึ้นอยู่กับสมดุลย์ของออกซินและไซโตไคนิน ถ้าในระดับที่ไซโตไคนินสูงกว่าสมดุลย์จะมีการพัฒนาเป็นยอด (จินดา, 2524) ส่วนความยาวของก้านใบนั้น GA_3 จะยาวกว่า BA มากและจะทำให้เกิดข้อปล้องยาวขึ้นในอาหารที่มี GA_3 เป็นส่วนประกอบ ซึ่งจินดา(2524) กล่าวว่า GA_3 จะเป็นตัวควบคุมการสร้างและความยาวของ internode โดย GA_3 จะไปมีผลต่อบริเวณ sub-apical meristem ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ที่บริเวณนี้มากกว่าปกติทำให้มีปล้องยาว และทำให้ก้านใบยาวกว่าชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับ GA_3 และที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี GA_3 จะมีการเกิดราก แต่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี BA จะไม่มีการเกิดราก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี GA_3 เป็นส่วนประกอบมีออกซินอยู่จึงทำให้พัฒนาไปเป็นราก ส่วน BA นอกจากจะกระตุ้นให้ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตและพัฒนาไปเป็นตายอดจำนวนมากแล้วยังไปยับยั้งการเกิดรากของชิ้นส่วนด้วย

จากการทดลองจะเห็นได้ว่ากลุ่มของเนื้อเยื่อที่มีตาจำนวนมาก ความยาวของตาจะน้อย (BA) ส่วนกลุ่มที่มีตาน้อย ความยาวตาจะมาก (GA_3) ทั้งนี้เพราะว่าในการชักนำให้เกิดตานั้นต้องการ BA ความเข้มข้นที่ระดับสูง แต่ที่ BA ความเข้มข้นสูงเกินไปจะมีผลยับยั้งการเพิ่มปริมาณตา ส่วนในการเจริญเติบโตของตานั้นต้องการ BA ความเข้มข้นในระดับต่ำ จึงทำให้ตาไหลที่เลี้ยงในอาหารที่มี GA_3 มีความยาวมากกว่าตาไหลที่เลี้ยงในอาหารที่มี BA เช่นเดียวกับการทดลองของ ธวัชชัย (2532) ในการเลี้ยงกลุ่มยอดขนุนในอาหารที่มี GA_3 มีผลต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มตายอดโดยชักนำให้ตายอด ปล้อง และก้านใบ ยืดยาวมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ GA_3 ที่เพิ่มขึ้น ส่วนในอาหารที่มี BA ในระดับ 0-88 μM มีผลต่อการเจริญของปลายยอดโดยชักนำให้ปลายยอดเกิดยอดจำนวนมากที่ระดับของ BA เท่ากับ 61.6 μM ซึ่งที่ BA ระดับสูงกว่านี้มีผลลดปริมาณการเกิดตาลงเช่นเดียวกัน

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อทำความสะอาดชิ้นส่วนตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกวิธีที่ดีที่สุด คือ ใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที, mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที, calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 30 นาที calcium hypochlorite 1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งนานครั้งละ 5 นาที สำหรับการชักนำให้เกิดตาจากเนื้อเยื่อส่วนตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตรต่างๆ พบว่าอาหารสูตร 1/2 MS (Murashige and Skoog, 1962) ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 μM ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 μM สามารถชักนำให้เกิดตาได้มากที่สุด เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2534. ทะเบียนผู้ประกอบการ ไม้ดอกไม้ประดับ ปี 2534. กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร. 45 หน้า.

กวินหาญ พลหาญ. 2534. นาบัวตัดดอก อ.บางกรวย จ.นนทบุรี. วารสารเคหการเกษตร. 15(11):37-40.

จารีย์ หอยทอง. 2519. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวบางชนิดในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

จินดา ศรศรีวิชัย. 2524. สรีรวิทยาพืช ภาคการเจริญเติบโตและการควบคุม. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 280 หน้า.

จินตนา ไทยลิ่มทอง และ ลาวัลย์ สุธนมนตรี. 2536. การใช้ซิลเวอร์ไธโอซัลเฟตก่อนเก็บเกี่ยวเพื่อยืดอายุการปักแจกันของดอกบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ชะอ้อน หิรัญรัตน์. 2531. การขยายพันธุ์หน้าวัวโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ธวัชชัย วรรธนะวลัญช์. 2532. การขยายพันธุ์และการเก็บรักษาพันธุ์ขนุนในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ธีรวัฒน์ เลิศลอยปัญญาชัย. 2536. การศึกษาการเพิ่มปริมาณของเฮลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 133 หน้า.

วาสนา มิตรานนท์. 2527. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวสกุลบัวหลวง (*Nelumbo* Adans.) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สรรลาภ สงวนดีกุล. 2526. การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สุชาดา ศรีเพ็ญ. 2530. พรรณไม้น้ำ. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 233 หน้า.

สุรเชษฐ จิตตะวิกุล และ ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2533. เทคนิคการปลูกบัว. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 52 หน้า.

สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2526. หลักสรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 330 หน้า.

อรดี สหวัชรินทร์. 2522. ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้านการเกษตร. วารสารพืชสวน. 14(4):35-44.

Core, L.E. 1955. Plant Taxonomy. Englewood Cliffs. New Jersey: Prentice-Hall,Inc. 459 p.

Correll, D.S. and H. B. Correll. 1975. Aquatic and Wetland Plants of Southwestern United States. Standford:Standford University Press. 1,777 p.

Gilbert, S. 1982. The culture of water lilies and water lotuses. Horticulture. August:16-23.

Jenks, M., M. Kane, F. Marousky, D. McConnell and T. Sheehan. 1990. *In vitro* establishment and epiphyllous plantlet regeneration of *Nymphaea* 'Daubeniana'. HortScience. 25(12):1664.

Kane, M.E., T.J. Sheehan, and F.H. Ferwerda. 1988a. *In vitro* growth of American lotus embryos. HortScience 23(3):611-613.

Kane, M.E., D.B. McConnell and T.J. Sheehan. 1988b. *In vitro* Regeneration studies on ornamental aquatic plants : *Myriophyllum aquaticum* and *Limnophila indica*. HortScience. 23(3):780.

Kane, M.E., D.B. 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, and T.J. Sheehan. 1990. Micropro pagation of the aquatic plant *Cryptocoryne lucens*. HortScience 25(6):687-689.

Kehr, A.E. 1975. New developments in plant cell and tissue culture. HortScience. 10(1):4-5.

Leopold, A.C. 1975. Plant Growth and Development. McGraw-Hill Book Co. New York. 545 p.

Linsmaier, E.M. and F. Skoog. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 18:100-127.

Murashige, T. 1974. Propagation through tissue culture. HortScience. 9(3):170.

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

Nickerson, N.L. 1978. *In vitro* shoot formation in Lowbush Blueberry seeding explants. HortScience. 13(6):698.

Quynh, N.T. and N.V. Uyen. 1987. Aroids propagation by tissue culture: I. Shoot tip culture and propagation of *Xanthosoma violaceum*. HortScience. 22(4):671-672.

Sharp, W.R. and P.O. Larsen. 1977. Plant cell and tissue culture: Current application and potential. In Sharp, W.R ; P.O. Larsen ; E.F. Poddock ; and V. Raghavan. 1977. Plant Cell and Tissue Culture. Columbus: Ohio State University Press. 892 p.

Suvatabandhu, K. 1958. On the Nymphaeaceae of Thailand. Nat. Hist. Bull. Siam. Soc. 17:11-15.

ภาคผนวก

สูตรอาหาร Murashige & Skoog (1962)

สารเคมี	ปริมาณ (mg/l)
$(NH_4)NO_3$	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
$FeSO_4.7H_2O$	27.8
Na_2EDTA	37.3
$MnSO_4.4H_2O$	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-inositol	100
nicotinic acid	0.5
pyridoxine.HCl	0.5
thiamine HCl	0.1
glycine	2.0
sucrose	30,000

ตารางภาคผนวกที่ 1 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 2 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	1.176	0.392	0.454^{NS}	2.90	4.45
Ex.Error	33	28.500	0.863			
Total	36	29.676				

Grand Mean = 3.810 CV = 22.977 % SE 0.149

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 2 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 4 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	2.75	0.916	0.609^{NS}	2.92	4.51
Ex.Error	30	45.133	1.504			
Total	33	47.883				

Grand Mean = 4.058 CV = 38.264 % SE 0.206

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 3 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 6 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	2.289	0.763	0.370^{NS}	2.92	4.51
Ex.Error	30	61.829	2.060			
Total	33	64.118				

Grand Mean = 4.235 CV = 33.986 % SE 0.239

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	13.634	4.544	1.720^{NS}	2.935	4.54
Ex.Error	29	76.609	2.641			
Total	32	90.243				

Grand Mean = 4.515 CV = 36.210 % SE 0.292

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 5 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนใบของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	0.515	0.171	0.510^{NS}	2.935	4.54
Ex.Error	29	9.717	0.335			
Total	32	10.232				

Grand Mean = 1.729 CV = 33.592 % SE 0.098

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 6 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อความยาวก้านใบของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	8.266	2.755	1.970^{NS}	2.935	4.54
Ex.Error	29	40.545	1.398			
Total	32	48.811				

Grand Mean = 2.138 CV = 55.406 % SE 0.214

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 7 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อขนาดใบของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	10.15	3.383	3.069*	2.935	4.54
Ex.Error	29	31.98	1.102			
Total	32	42.13				

Grand Mean = 2.234 CV = 47.781 % SE 0.199

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 8 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อความยาวรากของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	0.308	0.102	3.923*	2.935	4.54
Ex.Error	29	0.773	0.026			
Total	32	1.081				

Grand Mean = 1.054 CV = 15.269 % SE 0.031

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 9 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนตาของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 2 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	0.009	0.003	0.085^{NS}	2.90	4.45
Ex.Error	33	1.158	0.035			
Total	36	1.167				

Grand Mean = 1.100 CV = 17.007 % SE 0.029

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 10 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนตาของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 4 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	0.121	0.040	0.476^{NS}	2.92	4.51
Ex.Error	30	2.524	0.084			
Total	33	2.645				

Grand Mean = 1.216 CV = 23.873 % SE 0.048

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 11 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนตาของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 6 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	0.122	0.040	0.481^{NS}	2.92	4.51
Ex.Error	30	2.495	0.083			
Total	33	2.617				

Grand Mean = 1.217 CV = 23.731 % SE 0.048

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 12 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนตาของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F.05	F.01
Treatment	3	1.268	0.422	0.931^{NS}	2.935	4.54
Ex.Error	29	13.142	0.453			
Total	32	14.410				

Grand Mean = 1.780 CV = 38.068 % SE 0.116

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง