



ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

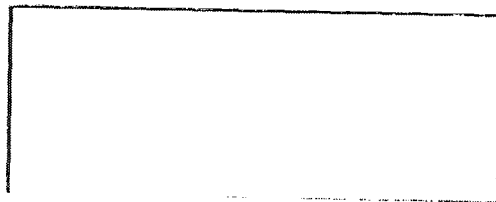
ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการเพิ่มปริมาณ
บัวหลวงพันธุ์บุนทรภักในสภาพปลอดเชื้อ
Effect of Some Plant Growth Regulators for *In Vitro* Shoot
Multiplication of Sacred Lotus cv. "Buntharik"

โดย

นางสาวพรทิพย์ จิรกิตขางกูร

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก

(อาจารย์ ดร.สุเม อรัณนารถ)
อาจารย์ที่ปรึกษา



ภาควิชารับรองแล้ว

(ผศ. ดร.ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ _____ เดือน _____ พ.ศ. _____

นพ.

พ 239 ๗

2587

วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีสุพรรณบุรี

ปัญหาพิเศษ



T100765

เรื่อง

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการเพิ่มปริมาณ
บัวหลวงพันธุ์บุณฑริกในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Some Plant Growth Regulators for *In Vitro* Shoot
Multiplication of Sacred Lotus cv. "Buntharik"

โดย

นางสาวพรทิพย์ จิรกิตยางกูร

ป.ศ.

พ 239 ๘

2534

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ ดร. สุเม อรัญนารถ

เลขที่.....

เลขทะเบียน.....

100765

รับเดือนปี.....

21 JUN 2009

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2537

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการเพิ่มปริมาณบัวหลวง
พันธุ์บุณฑริกในสภาพปลอดเชื้อ
Effect of Some Plant Growth Regulators for *In Vitro* Shoot Multiplication
of Sacred Lotus cv. "Buntharik"

โดย นางสาวพรทิพย์ จิรกิตยางกูร

สาขา พืชสวน ภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะ เทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. สุเม อรัญนารถ

การขยายพันธุ์บัวหลวงพันธุ์บุณฑริกโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำชิ้นส่วนของ
ตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol 70% นาน 1 นาที , mercuric chloride 0.1%
+ tween 20 2 หยด นาน 10 นาที , calcium hypochlorite 5% + tween 20 2 หยด นาน 30 นาที
และ calcium hypochlorite 1% + tween 20 2 หยด นาน 10 นาที แล้วจึงล้างออกด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ
แล้ว 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง สูตร
1/2 MS (Murashige and Skoog ,1962) เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 , 0.5 , 1 และ 2.5 μM และ
BA ที่ระดับความเข้มข้น 0 , 2.5 , 5 , 7.5 และ 10 μM เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงใน
อาหารที่เติม NAA 1 μM และ BA 7.5 μM ชิ้นส่วนมีแนวโน้มในการเจริญเติบโตดีกว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยง
ในอาหารสูตรอื่น ๆ ส่วนอาหารที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 5 μM ชักนำชิ้นส่วนให้มีการเกิดตา และ
อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 μM สามารถชักนำชิ้นส่วนให้มีการเกิดรากได้ดีกว่าอาหารสูตรอื่น

Abstract

Propagation of sacred lotus cv. "Buntharik" through tissue culture was investigated. Buds were surface sterilized with 70 % (v/v) ethanol for 1 minute followed by 0.1% (w/w) mercuric chloride and tween 20 2 drops for 10 minutes and 5% (w/w) calcium hypochlorite with tween 20 2 drops for 30 minutes and then argitated in 1%(w/w) calcium hypochlorite with tween 20 2 drops for 10 minutes and rinsed three times in sterile distilled water for 5 minutes each time. Buds were cultured in liquid on solid media of half strength Murashige and Skoog medium supplemented with combination of 0 , 0.5 , 1 and 1.5 μM NAA and 0 , 2.5 , 5 , 7.5 and 10 μM BA respectively. The maximum shoot regeneration was achieved from medium containing 1 μM NAA and 7.5 μM BA but root induction was obtained from medium containing 1.5 μM NAA and 5 μM BA strongly favoured shoot formation.

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จอย่างสมบูรณ์ได้ ต้องผ่านการทดลองที่มีการเอาใจใส่และมีความอดทนสูง อาจมีอุปสรรคบ้างบางครั้ง แต่ก็ทำให้เกิดงานทดลองที่สมบูรณ์ขึ้น

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร. สุเมธ อรัญนารถ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้ความสนใจในการทำงานทดลองครั้งนี้ ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำ และช่วยแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น ตรวจสอบตราแก้ไขสิ่งที่บกพร่อง จนทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จอย่างสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุก ๆ ท่านที่ให้ความสนใจและให้คำแนะนำที่ดีตลอดมา

ขอบคุณเพื่อน ๆ น้อง ๆ ที่เป็นกำลังใจ ให้คำแนะนำ และเป็นแรงผลักดันในการทำงานทดลอง ตลอดจนช่วยแก้ไขยามเกิดปัญหาในห้องปฏิบัติการ

ขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้การศึกษาและให้สถานที่ในการปฏิบัติการ

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติ พี่น้องที่ให้การสนับสนุนปัจจัยต่าง ๆ ในการดำเนินงานและคำสอนพร้อมกำลังใจตลอดมา

พรทิพย์ จิรจิตขางกูร

(ก)

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	(ข)
สารบัญตารางภาคผนวก	(ค)
สารบัญภาพ	(ง)
คำย่อที่ใช้ในรายงานฉบับนี้	(จ)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	6
ผลการทดลอง	12
วิจารณ์ผลการทดลอง	19
สรุปผลการทดลอง	21
เอกสารอ้างอิง	22
ภาคผนวก	25

(๗)

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แสดงคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุษกริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	15
2. แสดงผลของ NAA และ BA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุษกริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS เมื่ออายุครบ 4 สัปดาห์.....	16
3. แสดงการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุษกริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	17
4. แสดงผลของ NAA และ BA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่มีผลต่อจำนวนการเกิดตาของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุษกริก ที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร1/2MS เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์.....	18

(ค)

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
1. สูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962).....	25
2. วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโต ของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 4 สัปดาห์.....	26
3. วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโต ของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์.....	26
4. วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโต ของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 12 สัปดาห์.....	27
5. วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโต ของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์.....	27
6. วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อจำนวนใบของบัว หลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์.....	28
7. วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อขนาดใบของบัว หลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์.....	28
8. วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อความยาวก้านใบ ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์.....	29
9. วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อจำนวนตา ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์.....	29

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. แสดงอาหารเหลวบนอาหารแข็งที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวง พันธุ์บุณชกริก.....	8
2. แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกที่เลี้ยง ในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มี NAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน.....	11

(จ)

คำย่อที่ใช้ในรายงานฉบับนี้

BA	6-Benzylaminopurine
IAA	Indole-3-acetic acid
IBA	Indole-3-butyric acid
MS	Murashige and Skoog (1962)
NAA	α -Naphthalene acetic acid
2,4-D	2,4-dichlorophenoxy acetic acid

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการเพิ่มปริมาณบัวหลวง
พันธุ์บุนทรภักในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Some Plant Growth Regulators for *In Vitro* Shoot Multiplication
of Sacred Lotus cv. "Buntharik"

คำนำ

บัวหลวงเป็นไม้ดอกที่มีคนนิยมกันมากอยู่ในวงศ์ Nymphaeaceae (สุชาติ , 2530) เป็นพืชที่ขึ้นได้ง่าย ทั้งในเขตร้อน , เขตอบอุ่นและเขตหนาว จึงพบว่ามีทั้งขึ้นเองตามธรรมชาติหรือที่มีผู้นำมาปลูกเป็นไม้ประดับ หรือปลูกเป็นจำนวนมาก เพื่อทำการค้า ที่เรียกว่า "นาบัว" ซึ่งในปัจจุบันได้มีคนหันมาปลูกนาบัวแทนนาข้าวเพราะให้ผลผลิตในแต่ละปีได้หลายครั้งซึ่งทำรายได้ให้แก่เกษตรกรเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้จะมีคนนิยมนำมาทำเป็นไม้ตัดดอกแล้วยังนำมาปลูกเป็นไม้ประดับและนำส่วนอื่น ๆ มาใช้ประโยชน์อย่างอื่นได้อีกด้วย คือ เป็นอาหาร ยาบำรุงกำลัง ยาแก้ร้อนใน รักษาโรคริดสีดวงทวาร บางครั้งรับประทานดิบ ๆ หรือนำมาทำสลัด (อุทัย , 2526 ; Burkill , 1966) นอกจากนี้ยังใช้เป็นยาบำรุงกำลัง แก้โรคกษัยและลำไส้อักเสบ (สมาคมสมุนไพรแห่งประเทศไทย , 2518) และยังใช้ในกิจกรรมทางศาสนา กลีบดอกเป็นยาแก้โรคหนองใน ใช้ทำเครื่องสำอางเป็นต้น

ในด้านการเพิ่มผลผลิตและด้านการตลาดพบว่ามีปัญหาหลายด้าน ไม่ว่าจะเป็นเรื่องคุณภาพของดอก รูปทรงและสีของดอกที่มีให้เลือกจำกัด (กวิหาญ , 2534 ; จินตนาและลาวัลย์ , 2536) จึงต้องมีการปรับปรุงให้ได้พันธุ์บัวหลวงที่ดีมีคุณภาพ และมีผลผลิตมากพอที่จะส่งเสริมให้มีการปลูกบัวหลวงเพื่อเป็นการค้า เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็เป็นการขยายพันธุ์วิธีหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตจำนวนมากในเวลาอันรวดเร็วและได้พืชที่ปราศจากโรค

จุดมุ่งหมายของการทดลองนี้ จึงมุ่งศึกษาเทคนิคพื้นฐานของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณบัวพันธุ์ที่ดีที่มีคุณภาพต่อไป

การตรวจเอกสาร

บัวหลวงเป็นพืชอยู่ในวงศ์ (family) Nymphaeaceae (สุชาติ , 2530 ; Correll and Correll , 1975) ซึ่งพืชวงศ์นี้มี 4 สกุล (Genus) คือ Nelumbo (บัวหลวง) Nymphaea (บัวสาย) Victoria (บัวกระดังง์) และ Barclaya (กสิน , 2500) ในประเทศไทยมีเพียง 3 สกุล คือ Nelumbo Nymphaea และ Victoria

บัวหลวงเป็นพืชในสกุล (Genus) Nelumbo Adans. (Backer and Bakhuizen , 1963 ; Subramanyam , 1962) พืชสกุลนี้มี 2 ชนิด (Species) คือ *Nelumbo nucifera* Gaertn และ *Nelumbo lutea* Pers.(Burkill,1966)

N. lutea Pers. มีถิ่นกำเนิดอยู่ในอเมริกา (Core , 1959) มีชื่อสามัญว่า American lotus , Water chinkapin หรือ Yellow lotus (Harris and Leavy , 1975) บัวหลวงชนิดนี้ขึ้นได้เฉพาะในเขตอากาศหนาวเท่านั้น มีรายงานว่าเคยมีผู้นำเข้ามาปลูกในประเทศไทย แต่ไม่สามารถเจริญได้ เพราะทนอากาศร้อนไม่ไหว (วินิจฉัยนักร , 2498)

N. nucifera Gaertn มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน แถบทะเลสาบแคสเปียนจนถึงญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ อินเดีย เปอร์เซียตะวันออก และออสเตรเลีย (Core , 1959) มีชื่อสามัญว่า Sacred lotus หรือ East Indian Lotus แต่บางคนก็เรียกว่า Egyptian lotus

ในประเทศไทยตามรายงานมีเพียงชนิดเดียว คือ *N. nucifera* Gaertn ซึ่งเรียกว่า บัวหลวง หรือ บัวปทุมชาติ (วินิจฉัยนักร, 2498 และกสิน, 2500) อุทัย สันตุสสาร (2526) และอำไพ ขงบุญเกิด (2514) รายงานว่าบัวหลวงมีหลายพันธุ์และหลายชื่อซึ่งอาจแยกออกตามรูปร่าง ลักษณะ และสีของดอกได้ 6 พันธุ์คือ

พันธุ์ที่ 1 มีชื่อว่าบัวหลวงชมพู ปทุมปีทมา หรือ โภกกระมต มีลักษณะดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ปลายเรียว ดอกสีชมพู

พันธุ์ที่ 2 มีชื่อว่าบัวหลวงขาว นุชเทริก หรือ ปุณเทริก มีลักษณะดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 1 ดอกสีขาว

พันธุ์ที่ 3 มีชื่อว่า บัวหลวงชมพูซ้อน หรือ สัตตบงกช หรือบัวฉัตรชมพู มีลักษณะดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ป้อม ดอกสีชมพู

พันธุ์ที่ 4 มีชื่อว่าบัวหลวงขาวซ้อน สัตตบุษย์ หรือบัวฉัตรขาว มีลักษณะดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ป้อม เหมือนพันธุ์ที่ 3 ดอกสีขาว

พันธุ์ที่ 5 มีชื่อว่า บัวเข้มขาว บัวปักกิ่งขาว หรือบัวหลวงจีนขาว มีลักษณะดอกขนาดเล็ก ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 1 ดอกสีขาว

พันธุ์ที่ 6 มีชื่อว่า บัวเข้มชมพู บัวปักกิ่งชมพู หรือบัวหลวงจีนชมพู มีลักษณะดอกขนาดเล็ก ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 5 ดอกสีชมพู

วาสนา (2527) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของบัวหลวงพันธุ์บรูซซารีค พบว่า

ลักษณะภายนอก

ลำต้น : ลำต้นในดินใต้น้ำซึ่งเรียกว่าเหง้า อยู่ในดินลึกประมาณ 5-15 ซม. ลำต้นอ่อนมีสีขาว เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ปล้องเป็นรูปทรงกระบอก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.25-3.6 ซม. ในลำต้นมีน้ำขางสีขาวขุ่น ตรงข้อมีตาซึ่งให้กำเนิดใบและดอก ส่วนล่างมีราก

ราก : เป็นแบบระบบรากฝอยเกิดตรงบริเวณข้อของลำต้น รากอ่อนมีสีขาว และหวมรากใหญ่ พอแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแก่

ใบ : เป็นใบเดี่ยว ออกจากข้อตั้งตรงชูขึ้นมาเหนือน้ำ โดยจะอยู่ที่ผิวหน้าและชูเหนือหน้า ใบมีรูปร่างเกือบกลม มีส่วนเว้าเข้ามาตรงข้ามกันที่ขอบใบ 2 ตำแหน่ง ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่นเล็กน้อย ก้านใบแข็งมีหนามสั้น ๆ เส้นใบแตกออกจากจุดกึ่งกลางใบ

ดอก : ออกตรงข้อของลำต้นใต้ดินคู่กับใบแล้วส่งดอกให้ขึ้นมาลอยอยู่เหนือหน้า ก้านดอกจะแข็ง ดอกมีขนาดใหญ่ ขณะที่ดอกตูม จะมีลักษณะเป็นรูปไข่ปลายเรียวกลีบดอกมี 4-5 กลีบ เรียงตัวเป็นสองชั้นสลับหว่างกัน ด้านนอกของกลีบมีสีขาวปนเขียว ส่วนด้านในมีสีจางลง เส้นบนกลีบมีขนาดใกล้เคียงกัน และมีจำนวนมากแต่ไม่พูนเด่นชัด กลีบนอกมีรูปร่างรีโค้ง ป่องตรงกลาง

กลีบในมีประมาณ 12-14 กลีบ เรียงตัวเป็นชั้นประมาณ 3 ชั้น โดยรอบของฐานรองดอก เกสรตัวผู้เรียวเล็ก มีสีเหลืองนวล ตอนบนมีอับเรณูสีเหลืองสดติดตามความยาวของแกน เหนืออับเรณูขึ้นไปมีส่วนปลายสีขาวขุ่น รูปร่างเล็กเรียวยาวที่ฐาน และใหญ่ที่ส่วนปลาย เกสรตัวผู้มีกลิ่นหอม เกสรตัวเมียมีรังไข่อยู่สูงกว่าชั้นเกสรตัวผู้ มีสีเหลืองนวล มีผนังหนาฝังอยู่ส่วนบนของฐานรองดอกที่มีลักษณะรูปกรวยและมีสีเหลือง ก้านชูเกสรตัวเมียสั้นยอดเกสรตัวเมียแบนกลมสีเหลืองเป็นมันแข็ง ในรังไข่จะมีไข่อยู่ 1 อัน (จารีช, 2519)

ผล : เกิดจากฐานรองดอกที่รองรับรังไข่เจริญมาเป็นผลแบบ aggregate fruit มีขนาดกว้าง 5-7 เซนติเมตร. สูง 5-6 เซนติเมตร. สีเขียวผลอ่อนแต่ละผลเป็นแบบ nut มีเปลือกหนาสีเขียว แต่ส่วนที่ฝังตัวอยู่ในฐานรองดอกจะมีสีเหลืองปนเขียว

เมล็ด : มีเปลือกหุ้มหนาแต่นิ่ม ภายในมีใบเลี้ยงใหญ่ 2 ใบ และต้นอ่อน 1 ต้น

การขยายพันธุ์บัวหลวง

1. การปลูกด้วยหน่อและหัว หน่อและหัวที่ตาและต้นเริ่มผลิ ให้วางตาหน่อตามแนวนอนให้ส่วนตาอยู่ด้านบน ถ้าปลูกโดยหัวให้ส่วนยอดของหัวขึ้นด้านบน กลบด้วยดินหนาประมาณ 1 นิ้ว ถ้าเป็นดินร่วนควรใช้ก้อนหินแบน ๆ ทับด้านบนของดิน โดยอย่าทับส่วนของตา เติมน้ำให้สูงกว่าระดับหน้าดิน ประมาณ 2-3 นิ้ว แล้วนำภาชนะไปวางในที่ได้รับแสงแดดเต็มที่

2. การปลูกด้วยเมล็ด ใส่ดินร่วนหนาประมาณ 1-2 นิ้ว โรยเมล็ดเป็นแถวให้ห่างแถวละประมาณ 1 นิ้ว กลบด้วยดินร่วนละเอียดหนา 5 ซม. แล้วค่อย ๆ พ่นน้ำฟอยจนดินอุ้มน้ำเต็มที่ ปล่อยให้แห้ง 1-2 วัน กดรื้อหน้าดินให้แน่นพอสมควร นำภาชนะไปแช่น้ำในอ่างให้ผิวหน้าดินอยู่ต่ำกว่าระดับน้ำ 1/2 นิ้ว

3. การปลูกด้วยเหง้า เหง้าเป็นส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ผิวดิน มีการสะสมอาหาร หลังจากนั้นถ้าจะมีการแตกเป็นต้นอ่อน เจริญขึ้นมาให้ตัดต้นอ่อนโดยมีส่วนของเหง้าติดไป 2-3 นิ้ว นำไปปลูก (สุรเชษฐ และปัญญา, 2533)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth regulators)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช คือ สารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นหรือสารที่สังเคราะห์ขึ้นโดยกรรมวิธีทางเคมี ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถกระตุ้น ชับชั่ง หรือเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาของพืชได้

ออกซิน : เป็นสารที่มีหน้าที่ควบคุมการขยายตัวของเซลล์ เร่งการเจริญเติบโตของพืช ควบคุมการเจริญของตาข้าง และยังควบคุมการออกรากและเนื้อเยื่อของพืชในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ไซโตไคนิน : เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ การขยายตัวของเซลล์ โดยเฉพาะการเจริญเติบโตของตาข้าง เร่งการเจริญเติบโตของแคลลัส (callus)

ถ้าอัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนินไม่เหมาะสมการเจริญของเนื้อเยื่อจะไม่ดีเท่าที่ควร ถ้ามีออกซินมากเกินไป เนื้อเยื่อจะมีรากมาก แต่จะมีการเจริญของตาเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และในทางกลับกัน ถ้าอาหารที่ใช้เลี้ยงมีไซโตไคนินมากเกินไปเนื้อเยื่อจะมีการเจริญของตา แต่จะมีการเจริญของรากน้อย อัตราส่วนที่พอเหมาะระหว่างฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้ จะแตกต่างกันออกไปแล้วแต่นิคมของเนื้อเยื่อ (สัมพันธ์, 2526)

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Kane et al. (1988) เลี้ยงส่วนปลายยอดของ *Myriophyllum aquaticum* (Vell) Verdcourt (Parrot - feather) และ *Limnophila indica* (L.) Druce (Ambulia) ในอาหารเหลว 1/2MS ปรากฏว่าอาหารที่ชักนำให้เกิดยอดได้ คืออาหารที่เติม 2iP 10 μM ร่วมกับ BA 2.5 μM สามารถชักนำให้เกิดยอดได้

Kane et al. (1990) ทำการเลี้ยงปลายยอดของ *Cryptocoryne lucens* . บนอาหารแข็งสูตร Linsmaier and Skoog (LS) (1965) ที่เติม BA 20 μM และ NAA 0.5 μM สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด(7.7 ยอด/ชิ้นส่วน) หลังจากเลี้ยงนาน 35 วัน

Kane et al.(1991) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Myriophyllum aquaticum* ในอาหารเหลวสูตร Basal medium พบว่า อาหารที่เติม 2iP 40 μM ร่วมกับ NAA 0.1 และ 1 μM จะชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด

สุเมธ (2536) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์มูณทริก โดยนำตาไหลของบัวหลวงพันธุ์มูณทริกมาเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 μM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 10 μM สามารถชักนำให้เกิดตาได้มากที่สุด เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์

Lakshmanan (1994) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ *Nymphaea hybrid* "James Brydon" บนอาหารสูตร MS โดยเติมน้ำตาล sucrose 3% และใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตดังนี้ คือ NAA BA 2iP ปรับ pH อาหารให้ได้ 5.7 และทำการย้ายอาหารทุก 5 สัปดาห์ ปรากฏว่า อาหารที่เติม NAA 4 μM ,BA 11.1 μM และ 2iP 32 μM จะชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด ช่วงแสงที่เหมาะสมคือ 16 ชม./วัน เมื่ออายุครบ 45 วัน ทำการย้ายต้นพืชไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และใส่ผงถ่าน 0.5 g/l ปรากฏว่า มีการพัฒนาระบบรากขึ้นภายใน เวลา 4 สัปดาห์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. บัวหลวงพันธุ์มณฑลชวริก
2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
 - 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร สูตร 1/2MS (Murashige and Skoog (1962) ส่วนประกอบในภาคผนวก)
 - 2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่
 - BA (6-benzylaminopurine)
 - NAA (*o*-naphthalene acetic acid)
3. เครื่องมือในการเตรียมอาหาร
 - 3.1 เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
 - บีกเกอร์
 - ปีเปต
 - กระบอกตวง
 - แuantงแก้วคนสาร
 - ขวดแก้วสำหรับใส่เนื้อเยื่อในการเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ พร้อมฝาปิด
 - ขวดแก้วปากเล็กพร้อมฝาปิด
 - 3.2 เครื่องวัดค่าต่าง ๆ
 - เครื่องชั่งชนิดหยาบ
 - เครื่องชั่งชนิดละเอียด
 - เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
 - 3.3 เครื่องมือในการฆ่าเชื้อ
 - หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
4. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ
 - Ethanol 70%
 - Mercuric chloride
 - Calcium hypochlorite
 - Tween 20

5. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนพืช

5.1 ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar Flow)

5.2 มีดผ่าตัด

5.3 ปากคีบ

5.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์

5.5 จานแก้ว (Petridish)

6. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส แสงจากหลอด cool white ชั่วโมงต่อวัน

7. ชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

8. อื่น ๆ ได้แก่ กรวย อลูมิเนียมฟอยล์ กระดาษ ถุงพลาสติก ผ้า หนัวยาง นาฬิกาจับเวลา

วิธีการ

1. การเตรียมอาหารเหลวบนอาหารแข็ง

1.1 การเตรียมอาหารแข็ง

เป็นการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร 1/2 MS โดยการเติม major, minor element, iron stock และ organic component ผันแปรด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 กลุ่ม คือ ออกซิน และ ไซโตไคนิน

กลุ่มออกซิน ใช้ NAA

กลุ่มไซโตไคนิน ใช้ BA

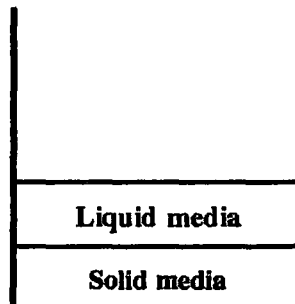
โดยการชั่งสารเคมีชนิดต่าง ๆ ตามสูตรอาหาร MS(1962) ทำเป็น Stock solution โดยเตรียม Macroelements ให้มีความเข้มข้นของ Stock solution เป็น 10 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการใช้ ส่วน Microelement และ Organic compound ให้มีความเข้มข้นของ stock เป็น 100 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการใช้ เมื่อเตรียมอาหารสูตร 1/2 MS จำนวน 1 ลิตรให้ใส่น้ำกลั่นประมาณ 300 ml ลงในบีกเกอร์แล้วนำ Stock solution ของ Macroelement แต่ละชนิดมาอย่างละ 50 ml เทใส่ลงในบีกเกอร์ หลังจากนั้นดูด Stock solution ของ Microelement และ Organic compound มาอย่างละ 5 ml ใส่ลงในบีกเกอร์แล้วเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมน้ำตาล Sucrose ลงไปทำปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่นวัดและปรับ pH ด้วย pH meter ให้ได้ค่า 5.5-5.7 เติมน้ำตามปริมาตร นำไปต้มจนละลายแบ่งใส่ขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อขวดละ 10 ml ปิดฝาให้สนิทและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

1.2 การเตรียมอาหารเหลว

เป็นการเตรียมอาหารสูตรเดียวกับอาหารแข็ง เพียงแต่ไม่ต้องใส่วุ้น แบ่งใส่ขวดปากแคบ ขนาด 10 ml ใช้กระดาษอลูมิเนียมฟลอยด์และถุงพลาสติก รัดปากถุงอีกชั้นหนึ่ง นำไปฆ่าเชื้อด้วย หม้อนึ่ง ความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

1.3 การเทอาหารเหลวบนอาหารแข็ง

นำอาหารเหลวและอาหารแข็ง เข้าตู้ Laminar flow และเทอาหารเหลวลงบนอาหารแข็ง ขนาด 10 ml ปิดฝาให้แน่น ระวังอย่าให้อาหารเลอะปากขวดและควรให้อาหารเย็นก่อนที่จะทำการเทอาหาร



ภาพที่ 1 แสดงอาหารเหลวบนอาหารแข็งที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์มจทริก

2. การเตรียมชิ้นส่วนในการเพาะเลี้ยง

2.1 ใช้ตาไหลบัวหลวงพันธุ์มูซทริก มาทำความสะอาด และทำการล้างน้ำไหล (rinning) โดยการใช้ผ้าขาวบางปิดปากขวดที่ใส่ชิ้นส่วนลงไปและเปิดน้ำไหลผ่านนานอย่างน้อย 1 ชั่วโมง

2.2 นำตาไหลมาทำการฟอกฆ่าเชื้อ โดยวิธีการดังนี้

1.แช่ใน etanol 70%	นาน 1 นาที
2.แช่ใน Mercuric chloride 0.1%+tween 20 2 หยด	นาน 10 นาที
3.แช่ใน Calcium hypochlorite 5% +tween 20 2 หยด	นาน 30 นาที
4.แช่ใน Calcium hypochlorite 1%+tween 20 2 หยด	นาน 10 นาที
5.ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง	นานครั้งละ 5 นาที ซึ่งต้องทำ

ภายในสภาพปลอดเชื้อในตู้ย่ำเนื้อเยื่อ

นำตาไหลที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาตัดเอาส่วนตาไปเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

3. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Random Complete Block Design 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ชิ้นส่วน โดยให้ NAA เป็น Factor A มี 4 ระดับ คือ 0 , 0.5 , 1 , 1.5 μM และ ให้ BA เป็น Factor B มี 5 ระดับ คือ 0 , 2.5 , 5 , 7.5 และ 10 μM

4. สภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นำไปเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อภายในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส โดยได้รับแสงจากหลอด cool white 12 ชั่วโมงต่อวัน

ทำการทดลองเป็นเวลา 4 เดือน โดยเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ และทำการบันทึกข้อมูล

5. การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อแต่ละชิ้นส่วนในอาหารแต่ละสูตร เป็นคะแนน โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนเป็นดังนี้

คะแนนที่ 1 : ชิ้นส่วนมีสีเหลืองซีด ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดตั้งแต่เริ่มต้น แสดงอาการตาย (ภาพที่ 2a)

คะแนนที่ 2 : ชิ้นส่วนมีสีเขียวตรงฐาน แต่ปลายชิ้นส่วนดำ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาด (ภาพที่ 2b)

คะแนนที่ 3 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโต โดยเริ่มแตกออกจากกานของตาไหลบัว มีสีเขียว มีขนาดใหญ่กว่า 5 ซม. (ภาพที่ 2c)

คะแนนที่ 4 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตโดยเริ่มแตกใบ ก้านใบชี้ยาวออก ลักษณะเป็นสีเขียว (ภาพที่ 2d)

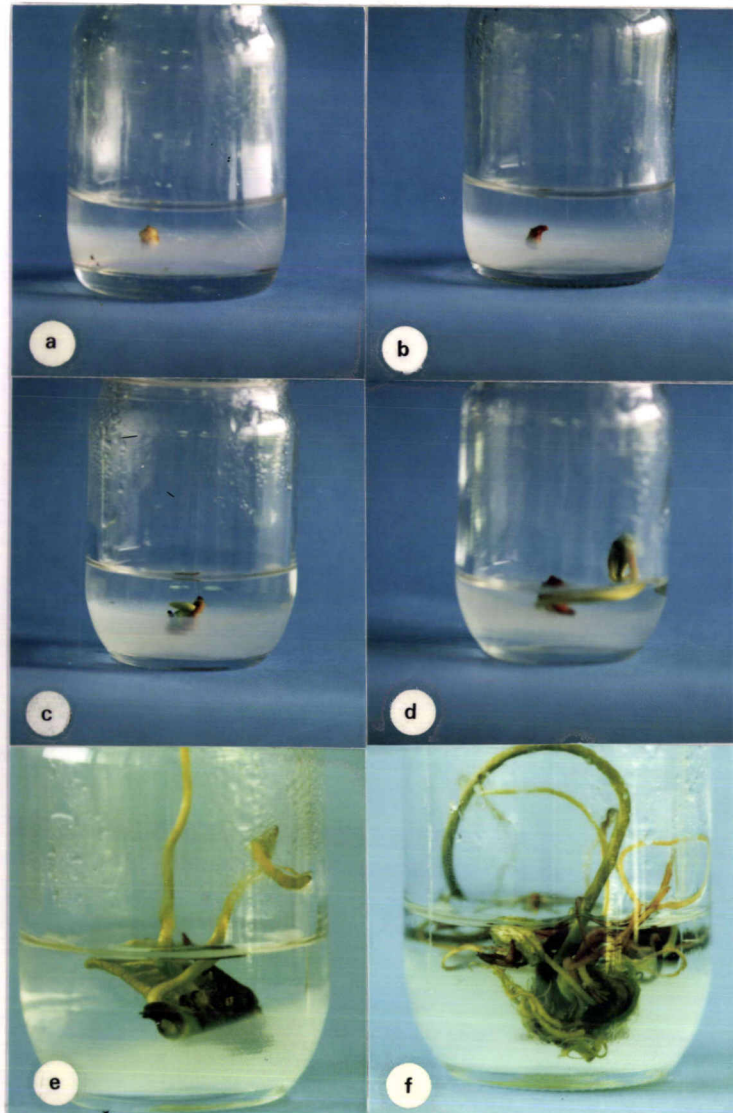
คะแนนที่ 5 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโต โดยเริ่มมีการแตกตา มีใบเกิดขึ้นจริง ก้านใบชี้ยาวออก (ภาพที่ 2e)

คะแนนที่ 6 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโต โดยเริ่มมีการออกราก มีตามากกว่า 10 ตา มีใบเกิดขึ้นจริง ก้านใบเริ่มชี้ยาวออก ลักษณะเป็นสีเขียว (ภาพที่ 2f)

2. บันทึกจำนวนใบ,ขนาดใบ และความยาวก้านใบที่เกิดขึ้น
3. บันทึกจำนวนตาที่เกิดขึ้น
4. บันทึกจำนวนรากที่เกิดขึ้น

6. เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มการทดลอง เดือน กรกฎาคม 2537
	สิ้นสุดการทดลอง เดือน พฤศจิกายน 2537
สถานที่	ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง



ภาพที่ 2 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตาไหลบว้หวงพันธุ์มูซิกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มี NAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

- a แสดงการให้คะแนน 1 (กำลังขยาย 0.62 X)
- b แสดงการให้คะแนน 2 (กำลังขยาย 0.62 X)
- c แสดงการให้คะแนน 3 (กำลังขยาย 0.60 X)
- d แสดงการให้คะแนน 4 (กำลังขยาย 0.64 X)
- e แสดงการให้คะแนน 5 (กำลังขยาย 0.91 X)
- f แสดงการให้คะแนน 6 (กำลังขยาย 0.89 X)

ผลการทดลอง

การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเมื่ออายุ 4 สัปดาห์

ในช่วง 4 สัปดาห์แรก การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนตาไหลบัวหลวงพันธุ์อนุชกริกที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม NAA และ BA ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ การเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยชิ้นส่วนในอาหารที่มี NAA 0.5 μM เพียงอย่างเดียวจะมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 3 มีลักษณะเป็นสีเขียว มีการแตกออกจากกาบของตาไหลบัว และมีขนาดใหญ่กว่า 0.5 ซม. ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA 5 μM เพียงอย่างเดียว และอาหารที่มี NAA 1 μM ร่วมกับ BA 2.5 , 5 และ 7.5 μM ตามลำดับ มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตต่ำที่สุด เท่ากับ 2.11 มีลักษณะเป็นสีเขียวตรงฐานชิ้นส่วนแต่ตรงปลายชิ้นส่วนดำ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาด (ตารางที่ 1)

อาหารที่เติม NAA ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ มีผลทำให้ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$ โดยอาหารที่มี NAA ระดับความเข้มข้น 0.5 μM ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ชิ้นส่วนมีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 2.57 และที่ความเข้มข้นของ NAA 1 μM ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ชิ้นส่วนมีคะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตต่ำที่สุดเท่ากับ 2.23 (ตารางที่ 2)

การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์

สัปดาห์ที่ 8 การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนตาไหลบัวหลวงพันธุ์อนุชกริกไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก มีการเจริญเติบโตน้อย ชิ้นส่วนมีสีเขียว และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 1) โดยชิ้นส่วนในอาหารที่มี NAA 1.5 μM ร่วมกับ BA 10 μM มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 3.89 ชิ้นส่วนเริ่มมีการแตกใบ ก้านใบยืดยาวประมาณ 0.5-0.7 เซนติเมตร ลักษณะเป็นสีเขียว และจะสังเกตได้ว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี NAA 1.5 μM ร่วมกับ BA ในระดับความเข้มข้น 0 , 2.5 , 5 , 7.5 และ 10 μM ตามลำดับ มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงกว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหาร NAA ระดับต่าง ๆ โดยชิ้นส่วนเริ่มมีการแตกใบออก ลักษณะเป็นสีเขียวสด แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) ส่วนชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหาร NAA 0.5 μM ร่วมกับ BA 2.5 μM มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่ำที่สุดเท่ากับ 2.44 (ตารางที่ 1) ชิ้นส่วนมีสีเขียวตรงฐาน แต่ปลายชิ้นส่วนดำ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาด บางชิ้นส่วนแสดงอาการเหลืองซีด ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดเช่นเดียวกัน แสดงอาการตาย

การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเมื่ออายุครบ 12 สัปดาห์

สัปดาห์ที่ 12 ชิ้นส่วนเริ่มมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีการแตกใบ ก้านใบเริ่มยืดยาวออกลักษณะของชิ้นส่วนเป็นสีเขียว โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA ร่วมกับ BA ในความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลทำให้ชิ้นส่วนมีคะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$ (ตารางที่ 1) โดยอาหารที่เติม NAA ในระดับความเข้มข้นที่ $1 \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA $7.5 \mu\text{M}$ มีคะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตสูงที่สุดเท่ากับ 4.44 ลักษณะของชิ้นส่วนมีสีเขียว เริ่มมีการแตกตา 1-3 ตา มีใบเกิดขึ้นจริง 1-2 ใบ ก้านใบยืดยาวกว่า 1 เซนติเมตร ลักษณะของตามีสีเขียว ขนาดใบเฉลี่ย 1 เซนติเมตร ใบคลี่ออกหมด มีสีเขียวเข้ม ส่วนอาหารที่เติม BA 2.5, 5 และ $7.5 \mu\text{M}$ เพียงอย่างเดียวชิ้นส่วนมีคะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตเท่ากับ 4.22 ในขณะที่ BA $10 \mu\text{M}$ ชิ้นส่วนมีคะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตเท่ากับ 4.00 ชิ้นส่วนมีก้านใบยืดยาว เริ่มมีการแตกใบ อาหารที่เติม NAA 0.5 และ $1.5 \mu\text{M}$ เพียงอย่างเดียวชิ้นส่วนมีคะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตเท่ากับ 4.11 ชิ้นส่วนมีการแตกใบ ก้านใบยืดยาว ลักษณะเป็นสีเขียว ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี NAA $0.5 \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA $7.5 \mu\text{M}$ ชิ้นส่วนจะมีการแตกตาสีขาวนวล มีใบเกิดขึ้นจริง ก้านใบยืดยาวออก ลักษณะเป็นสีเขียวสด ส่วนอาหารที่มี NAA $1 \mu\text{M}$ เพียงอย่างเดียวและ NAA $1 \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA $10 \mu\text{M}$ ชิ้นส่วนมีการแตกใบ ใบมีสีเขียวเข้ม มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 3.39 และ 3.5 ตามลำดับ ส่วนในอาหารที่มี NAA $0.5 \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA $2.5 \mu\text{M}$ และในอาหารที่มี NAA $1.5 \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA $7.5 \mu\text{M}$ ชิ้นส่วนมีคะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตต่ำที่สุดเท่ากับ 3.11 มีลักษณะเป็นสีเขียวตรงฐาน แต่ตรงปลายชิ้นส่วนมีสีดำ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาด และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ชิ้นส่วนมีคะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.78 ชิ้นส่วนมีการแตกใบเช่นกัน ก้านใบยืดยาวแต่สั้นกว่าชิ้นส่วนที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ตารางที่ 1)

การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์

สัปดาห์ที่ 16 การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุษกริกโดยส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตดี โดยเริ่มมีการแตกตามากขึ้น ก้านใบยืดยาว ใบมีสีเขียวเข้ม ตามีสีเขียวนวล คะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 1) ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA $1 \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA $7.5 \mu\text{M}$ จะมีคะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตสูงที่สุด เท่ากับ 4.44 มีการแตกตา มีความยาวก้านใบ 2.38 เซนติเมตร มีใบ 1 ใบ ขนาดใบ 1.17 เซนติเมตร (ตารางที่ 4) ส่วนชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี NAA $0.5 \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA $2.5 \mu\text{M}$ จะมีคะแนนเฉลี่ยในการเจริญเติบโตต่ำที่สุดเท่ากับ 3.22 ชิ้นส่วนไม่มีการเปลี่ยนแปลงจากสัปดาห์ที่ 12 มากนัก (ตารางที่ 1) มีจำนวนตา 1.66 ตา

ความยาวก้านใบ 1.48 เซนติเมตร จำนวนใบ 1 ใบ ขนาดใบ 2.3 เซนติเมตร (ตารางที่ 4) ชี้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 1.5 μM เพียงอย่างเดียว ชี้นส่วนมีการเกิดราก แต่มีจำนวนการแตกตาน้อยกว่าในอาหารที่มี BA 5 μM และมีความยาวก้านใบสั้นกว่า ขนาดใบเล็กกว่า ชี้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับ 1 และ 7.5 μM ตามลำดับ โดยชี้นส่วนมีการแตกตา 2.17 ตา ความยาวก้านใบ 1.67 เซนติเมตร มีใบ 1 ใบ ขนาดใบ 1.01 เซนติเมตร (ตารางที่ 4) และชี้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA 5 μM เพียงอย่างเดียว ชี้นส่วนมีจำนวนตามากที่สุด เท่ากับ 3.17 ส่วนอาหารที่มี NAA 1 μM โดยไม่มี BA ร่วมด้วยจะมีการเกิดตาน้อยที่สุด เท่ากับ 1.33 (ตารางที่ 4)

อาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลทำให้ชี้นส่วนมีการเพิ่มจำนวนตาแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$ โดยอาหารที่ไม่มี NAA มีผลทำให้ชี้นส่วนมีการเพิ่มจำนวนตาแตกต่างกันกับอาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 , 1.0 และ 1.5 μM ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยในอาหารที่เติม NAA 0 μM มีจำนวนตาเฉลี่ยเท่ากับ 2.80 รองลงมาคืออาหารที่เติม NAA 1 μM มีจำนวนตาเฉลี่ยเท่ากับ 2.06 อาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 μM จะมีจำนวนตาเฉลี่ยเท่ากับ 2.00 และอาหารที่เติม NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 μM มีจำนวนตาเฉลี่ยเท่ากับ 1.99 (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 1 แสดงคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์มูซซากริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ระดับความเข้มข้น (μM)	คะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่อายุต่าง ๆ (สัปดาห์)($\pm\text{SE}$)			
	4	8	12	16
NAA 0 BA 0	2.78 \pm 0.09	3.67 \pm 0.15	3.78 ^{abc} \pm 0.18	3.78 \pm 0.09
NAA 0 BA 2.5	2.67 \pm 0.27	3.56 \pm 0.32	4.22 ^{ab} \pm 0.32	4.22 \pm 0.32
NAA 0 BA 5.0	2.11 \pm 0.09	2.89 \pm 0.09	4.22 ^{ab} \pm 0.32	4.22 \pm 0.32
NAA 0 BA 7.5	2.44 \pm 0.09	3.11 \pm 0.09	4.22 ^{ab} \pm 0.09	4.33 \pm 0.15
NAA 0 BA 10	2.56 \pm 0.29	3.22 \pm 0.18	4.00 ^{abc} \pm 0.15	4.11 \pm 0.24
NAA 0.5 BA 0	3.00 \pm 0.00	3.56 \pm 0.23	4.11 ^{abc} \pm 0.09	4.39 \pm 0.05
NAA 0.5 BA 2.5	2.33 \pm 0.71	2.44 \pm 0.32	3.11 ^c \pm 0.45	3.22 \pm 0.50
NAA 0.5 BA 5.0	2.11 \pm 0.28	3.22 \pm 0.09	3.56 ^{abc} \pm 0.23	3.67 \pm 0.27
NAA 0.5 BA 7.5	2.83 \pm 0.18	3.50 \pm 0.40	4.11 ^{abc} \pm 0.48	4.22 \pm 0.50
NAA 0.5 BA 10	2.56 \pm 0.24	3.00 \pm 0.57	3.72 ^{abc} \pm 0.35	3.94 \pm 0.22
NAA 1 BA 0	2.44 \pm 0.09	3.44 \pm 0.09	3.39 ^{bc} \pm 0.04	3.39 \pm 0.04
NAA 1 BA 2.5	2.11 \pm 0.09	3.00 \pm 0.57	4.17 ^{ab} \pm 0.13	4.17 \pm 0.13
NAA 1 BA 5.0	2.11 \pm 0.09	3.44 \pm 0.32	3.89 ^{abc} \pm 0.23	4.00 \pm 0.15
NAA 1 BA 7.5	2.11 \pm 0.09	3.11 \pm 0.09	4.44 ^a \pm 0.24	4.44 \pm 0.24
NAA 1 BA 10	2.39 \pm 0.04	3.05 \pm 0.19	3.50 ^{bc} \pm 0.07	3.50 \pm 0.07
NAA 1.5 BA 0	2.22 \pm 0.09	3.44 \pm 0.18	4.11 ^{abc} \pm 0.32	4.22 \pm 0.39
NAA 1.5 BA 2.5	2.67 \pm 0.15	3.44 \pm 0.29	4.00 ^{abc} \pm 0.10	3.78 \pm 0.18
NAA 1.5 BA 5.0	2.78 \pm 0.56	3.56 \pm 0.26	3.67 ^{abc} \pm 0.31	3.78 \pm 0.32
NAA 1.5 BA 7.5	2.44 \pm 0.24	3.33 \pm 0.54	3.11 ^c \pm 0.09	3.44 \pm 0.18
NAA 1.5 BA 10	2.22 \pm 0.09	3.89 \pm 0.45	3.61 ^{abc} \pm 0.16	3.94 \pm 0.27
F-test	NS	NS	*	NS
CV%	23.32	28.42	24.29	6.59

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$

เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 0.05

ตารางที่ 2 แสดงผลของ NAA และ BA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS เมื่ออายุครบ 4 สัปดาห์

ระดับความเข้มข้นของ BA (μM)	คะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโต ($\pm\text{SE}$)				ค่าเฉลี่ย
	ระดับความเข้มข้นของ NAA (μM)				
	0	0.5	1.0	1.5	
0	2.78 \pm 0.09	3.00 \pm 0.00	2.44 \pm 0.09	2.22 \pm 0.09	2.61 \pm 0.15
2.5	2.67 \pm 0.27	2.33 \pm 0.71	2.11 \pm 0.09	2.67 \pm 0.15	2.44 \pm 0.12
5.0	2.11 \pm 0.09	2.11 \pm 0.28	2.11 \pm 0.09	2.78 \pm 0.56	2.28 \pm 0.14
7.5	2.44 \pm 0.09	2.83 \pm 0.18	2.11 \pm 0.09	2.44 \pm 0.24	2.46 \pm 0.13
10	2.56 \pm 0.29	2.56 \pm 0.24	2.39 \pm 0.04	2.22 \pm 0.09	2.43 \pm 0.07
ค่าเฉลี่ย*	2.51 \pm 0.10b	2.57 \pm 0.15a	2.23 \pm 0.07c	2.47 \pm 0.10b	2.44 \pm 0.05

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 3 แสดงการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวงพันธุ์มณฑลฑริกที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

ระดับความเข้มข้น (μM)	จำนวนใบ ($\pm\text{SE}$)	ขนาดใบ ($\pm\text{SE}$)	ความยาวก้านใบ ($\pm\text{SE}$)	จำนวนตา ($\pm\text{SE}$)	จำนวนราก ($\pm\text{SE}$)
NAA 0 BA 0	1.00 \pm 0.00	1.43 \pm 0.19	2.27 \pm 0.47	3.00 \pm 0.47	0.00 \pm 0.00
NAA 0 BA 2.5	1.00 \pm 0.00	1.40 \pm 0.28	1.86 \pm 0.17	2.66 \pm 0.72	0.00 \pm 0.00
NAA 0 BA 5.0	1.00 \pm 0.00	1.57 \pm 0.29	1.60 \pm 0.14	3.17 \pm 0.75	0.00 \pm 0.00
NAA 0 BA 7.5	1.00 \pm 0.00	1.47 \pm 0.34	1.97 \pm 0.16	3.00 \pm 0.62	0.00 \pm 0.00
NAA 0 BA 10	1.00 \pm 0.00	1.30 \pm 0.27	1.76 \pm 0.23	2.17 \pm 0.13	0.00 \pm 0.00
NAA 0.5 BA 0	1.00 \pm 0.00	1.25 \pm 0.10	1.71 \pm 0.04	2.33 \pm 0.15	0.00 \pm 0.00
NAA 0.5 BA 2.5	1.00 \pm 0.00	2.30 \pm 0.93	1.48 \pm 0.24	1.66 \pm 0.28	0.00 \pm 0.00
NAA 0.5 BA 5.0	1.00 \pm 0.00	1.16 \pm 0.08	1.53 \pm 0.35	1.66 \pm 0.28	0.00 \pm 0.00
NAA 0.5 BA 7.5	1.330 \pm 0.27	1.39 \pm 0.28	1.94 \pm 0.46	2.66 \pm 0.73	0.00 \pm 0.00
NAA 0.5 BA 10	1.00 \pm 0.00	1.52 \pm 0.30	1.73 \pm 0.08	1.66 \pm 0.28	0.00 \pm 0.00
NAA 1.0 BA 0	1.00 \pm 0.00	1.40 \pm 0.08	2.16 \pm 0.33	1.33 \pm 0.28	0.00 \pm 0.00
NAA 1.0 BA 2.5	1.00 \pm 0.00	1.30 \pm 0.14	1.35 \pm 0.27	2.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
NAA 1.0 BA 5.0	1.00 \pm 0.00	1.61 \pm 0.32	1.39 \pm 0.25	2.33 \pm 0.55	0.00 \pm 0.00
NAA 1.0 BA 7.5	1.00 \pm 0.00	1.17 \pm 0.10	2.38 \pm 0.39	3.00 \pm 0.47	0.00 \pm 0.00
NAA 1.0 BA 10	1.00 \pm 0.00	1.03 \pm 0.08	1.56 \pm 0.23	1.66 \pm 0.28	0.00 \pm 0.00
NAA 1.5 BA 0	1.00 \pm 0.00	1.01 \pm 0.10	1.67 \pm 0.16	2.17 \pm 0.49	5.00 \pm 0.47
NAA 1.5 BA 2.5	1.00 \pm 0.00	1.35 \pm 0.14	1.53 \pm 0.34	2.00 \pm 0.47	0.00 \pm 0.00
NAA 1.5 BA 5.0	1.11 \pm 0.08	1.27 \pm 0.16	1.82 \pm 0.32	2.00 \pm 0.47	0.00 \pm 0.00
NAA 1.5 BA 7.5	1.00 \pm 0.00	1.29 \pm 0.21	1.47 \pm 0.23	2.17 \pm 0.49	0.00 \pm 0.00
NAA 1.5 BA 10	1.00 \pm 0.00	1.27 \pm 0.02	2.04 \pm 0.35	1.66 \pm 0.28	0.00 \pm 0.00
F-test	NS	NS	NS	NS	
CV%	13.23	29.90	40.72	52.15	

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4 แสดงผลของ NAA และ BA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่มีผลต่อจำนวนการเกิดตาของตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก ที่เลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์

ระดับความเข้มข้นของ BA (μM)	คะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโต($\pm\text{SE}$)				ค่าเฉลี่ย
	ระดับความเข้มข้นของ NAA μM				
	0	0.5	1.0	1.5	
0	3.00 \pm 0.47	2.33 \pm 0.15	1.33 \pm 0.28	2.17 \pm 0.49	2.21 \pm 0.29
2.5	2.66 \pm 0.72	1.66 \pm 0.28	2.00 \pm 0.00	2.00 \pm 0.47	2.08 \pm 0.19
5.0	3.17 \pm 0.75	1.66 \pm 0.28	2.33 \pm 0.55	2.00 \pm 0.47	2.21 \pm 0.41
7.5	3.00 \pm 0.62	2.66 \pm 0.73	3.00 \pm 0.47	2.17 \pm 0.49	2.71 \pm 0.17
10.0	2.17 \pm 0.13	1.66 \pm 0.28	1.66 \pm 0.28	1.66 \pm 0.28	1.79 \pm 0.11
ค่าเฉลี่ย*	2.80a \pm 0.16	2.00b \pm 0.19	2.06b \pm 0.26	1.99b \pm 0.12	2.21 \pm 0.13

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาไหล บัวหลวงพันธุ์อนุชกริก ในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง สูตร 1/2 MS ที่เติม NAA ในระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 1.5 μM ร่วมกับ BA ในระดับความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 μM พบว่าในอาหารที่มี BA เพียงชนิดเดียว ชิ้นส่วนมีแนวโน้มในการแตกตาเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของ BA เท่ากับ 5 μM ชิ้นส่วนมีการแตกตามากที่สุด การที่ BA มีผลต่อการแตกตาเนื่องมาจาก BA เป็นสารในกลุ่มของไซโตไคนิน ซึ่งมีผลต่อการชักนำการแบ่งเซลล์ของชิ้นส่วนที่เลี้ยงใน culture จึงสามารถกระตุ้นการเกิดตาได้ (สัมพันธ์ , 2526) แต่ถ้าในอาหารที่มี BA ความเข้มข้นสูงเกินไป BA จะมีการยับยั้งการเพิ่มปริมาณตา ซึ่ง Leopold (1975) กล่าวว่า ถ้ามี BA มากเกินสมควร จะมีการยับยั้งการแตกตา ในการทดลองยังพบอีกว่าอาหารที่เติม NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ก็มีผลต่อการแตกตาด้วยเช่นกัน โดยอาหารที่มีการเติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ชิ้นส่วนจะมีปริมาณการแตกตาน้อยกว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีการเติม NAA ทั้งนี้เนื่องจาก NAA เป็นสารในกลุ่ม ออกซิน มีผลต่อการยับยั้งการแตกตาข้างของเนื้อเยื่อ (สัมพันธ์ , 2526) ซึ่งในการทดลองนี้การใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสั้นเกินไป อาจทำให้เนื้อเยื่อยังไม่เจริญเต็มที่ ทำให้มีผลต่อการเพิ่มปริมาณตาของบัวหลวงพันธุ์อนุชกริก

ส่วนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน ในอาหารที่มี NAA ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลทำให้ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีก้านใบสีเขียว มีใบเกิดขึ้นมากมาย มีต้นที่แข็งแรงกว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA หรือ BA เพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะอาหารที่มีความเข้มข้นของ NAA เท่ากับ 1 μM ร่วมกับ BA 7.5 μM ชิ้นส่วนจะมีการเจริญเติบโตดีที่สุด ซึ่ง Okazawa *et al.* (1966) และ Skoog (1951) อธิบายว่า exogenous auxin มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ ซึ่งจะไปกระตุ้นให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตดีขึ้นกว่าเดิม ส่วนไซโตไคนินจะไปส่งเสริมการทำงานของออกซิน และกระตุ้นการแตกตาข้างของเนื้อเยื่อ จึงมีผลทำให้มีการเจริญเติบโตดีขึ้นเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมออกซิน และไซโตไคนินร่วมกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Moriguchi *et al.* (1987) ที่นำ Anther ของ Strawberry มาเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม NAA 1 μM ร่วมกับ BA 10 μM ทำให้การเจริญเติบโตของ Anther ดีที่สุด

จากการทดลองนี้ ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม NAA เพียงอย่างเดียว ชิ้นส่วนมีรากเกิดขึ้น ซึ่งสัมพันธ์ (2526) กล่าวถึงสาร NAA ว่าเป็นสารในกลุ่มออกซิน จึงมีผลเร่งการเจริญเติบโตของราก ทำให้มีจำนวนรากมากกว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA ซึ่งสอดคล้องกับ (Leopold , 1967) ที่กล่าวว่า NAA เป็นสารในกลุ่มออกซิน ซึ่งมีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของราก , การยึดตัวของเซลล์ , การขยายขนาดของเซลล์และการแบ่งตัวของเซลล์ ซึ่งจากการทดลองพบว่าสูตรอาหาร 1/2 MS ที่เติม NAA ในระดับความเข้มข้น $1.5 \mu\text{M}$ ชิ้นส่วนมีรากเกิดขึ้น ส่วนอาหารที่เติม BA เพียงอย่างเดียวจะไม่มีรากเกิดขึ้น ซึ่ง Hussey (1976) ได้อธิบายว่า BA มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากด้วย

สรุปผลการทดลอง

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA $1 \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA $7.5 \mu\text{M}$ ในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS มีการเจริญเติบโตดี และเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ ส่วนอาหารที่มี NAA $1.5 \mu\text{M}$ เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดรากได้ และอาหารที่มี BA $5 \mu\text{M}$ สามารถชักนำให้เกิดจำนวนตามากที่สุด เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 16 สัปดาห์

เอกสารอ้างอิง

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

กสิน สุวตะพันธ์. 2500. บัวนานาพันธุ์. พฤษชาติ. 1(1) : 40-47.

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

จินตนา ไทยลุ่มทอง และ ดาวัลย์ สุชนมนตรี. 2536. การใช้ซิลเวอร์ไซโอซิลเฟตก่อนเก็บเกี่ยวเพื่อยืดอายุการปักแจกันของดอกบัวหลวงพันธุ์บุษกริก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

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

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

วินิจนันดร พระยา. 2498. ไม้ประดับบางชนิดของไทย. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์รุ่งเรืองธรรม.

สมาคมสมุนไพรแห่งประเทศไทย. 2518. งานนิทรรศการสมุนไพร. กรุงเทพฯ : มงคลการพิมพ์.

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

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

- สุเมธ อินทมาตย์. 2536. การศึกษาเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์อนุชกริก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. 2526. หลักสรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 330 หน้า.
- อุทัย สีนุสาร. 2526. สารานุกรมไม้ประดับในประเทศไทย. เล่มที่ 3. กรุงเทพฯ : อัมรินทร์การพิมพ์
- อำเภอ ขงบุญเกิด. 2514. บัว. กสิกร. 44(1): 3-8.
- Backer, C.A. and R.A. Bakhuizen van den Brink. 1963. Flora of Java. Nethaland (Groningen): N.V.P. Noordhoff. อ้างโดย วาสนา มิตรานนท์. 2527. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวสกุลบัวหลวง (*Nelumbo Adans.*) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- Burkill, I.H. 1966. A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula. Vo. II. Kuala Lumpur; Ministry of Agriculture and Cooperatives. อ้างโดย วาสนา มิตรานนท์. 2527. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวสกุลบัวหลวง (*Nelumbo Adans.*) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- Core, L.E. 1959. Plant Taxonomy. Englewood Cliffs. New Jersey: Prentice-Hall, Inc. 459 p.
- Correll, D.S. and H.B. Correll. 1975. Aquatic and Wetland Plant of Southwestern United States. Standford University Press. 1,777 p.
- Harris, W.H. and J.S. Leavy. 1975. The New Columbia Encyclopedia. 4 th ed. New York : Columbia University Press. อ้างโดย วาสนา มิตรานนท์. 2527. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวสกุลบัวหลวง (*Nelumbo Adans.*) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- Hussey, G. 1976. Plantlet Regeneration from Callus and Parent Tissue in *Ornithogalum thyrosoides*. J. Exp. Bot. 27:237.
- Kane, M.E. , D.B. McConnell and T.J. Sheehan. 1988. *In vitro* Regeneration studies on ornamental aquatic plants : *Myriophyllum aquaticum* and *Limnophila indica* HortScience 23(3) : 780.

- Kane, M.E. and L.S. Albert. 1989. Comparative shoot and root regeneration from juvenile and adult aerial leaf explants of variable-leaf milfoil. *Journal of Aquatic Plant Management*. 27:1-10.
- Kane, M.E. , E.F.Gilman , M.A. Jenks , and T.J. Sheehan. 1990. Micropropagation of the aquatic plant *Cryptocoryne lucens*. *HortScience*. 25(6) : 687-689.
- Kane, M.E.,E.F. Gilman and M.A.Jenks.1991.Regenerative capacity of *Myriophyllum aquaticum* culture *in vitro*.*Journal of Aquatic Plant Management*. 29:102-109.
- Lakshmanan, Prakash. 1994.*in vitro* Establishment and multiplication of *Nymphaea* hybrid 'James Brydon'.*Plant Cell Tissue and Organ Culture*.36: 145-148.
- Leopold, A.C. 1967. Auxin and Plant Growth. Barkely. University of California Press.354 p.
- _____.1975. Plant Growth and Development. McGraw-Hill Book Co. New York. 545 p.
- Moriguchi, T.;Omura, M.;Matsuta, N. and I.Kozaki.1987.*In vitro* adventitious shoot formation from anther of pomegranate.*HortScience*.22(5):947-948.
- Murashige, T. and F. Skoog.1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol.Plant*.15:473-497.
- Okasawa, Y ; N. Katsura ; and T. Tagawa. 1966. Effect of auxin and kinetin on the development and differentiation of potato tissue culture *in vitro* . *Physiol Plant*. 20: 862-869.
- Skoog, F. 1951. Plant growth Substance Virginia : the William Byrd Press Inc. อ้างโดย ชะอ้อน หิรัญรัตน์.2531. การขยายพันธุ์หน้าวัวโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.
- Start, N.D. and B.G.Cumming.1976. *In vitro* propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl. *HortScience*. 11(3) : 204-206.
- Subramanyam, K. 1962. Aquatic Angiosperms. Nea Delhi : Council of Scientific and Industrial Research.อ้างโดย วาสนา มิตรานนท์.2527. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวสกุลบัวหลวง (*Nelumbo Adans.*) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.

ภาคผนวก

สูตรอาหาร Murashige & Skoog (1962)

สารเคมี	ปริมาณ
$(\text{NH}_4)_2\text{NO}_3$	1,650
KNO_3	1,900
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	440
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8
Na_2EDTA	37.3
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
H_3BO_3	6.2
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
myo-inositol	100
nicotinic acid	0.5
pyridoxine.HCl	0.5
thiamine HCl	0.1
glycine	2.0
sucrose	30,000

ตารางภาคผนวกที่ 2 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวง
พันธุ์บุษกริก เมื่ออายุครบ 4 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-test	F 0.05	F 0.01
Block	2	0.9176	0.4588	3.429NS	3.65	5.21
Treatment	19	4.0776	0.2146	1.6039NS	1.87	2.43
NAA	3	1.2626	0.4209	3.4455*	2.85	4.34
BA	4	0.4076	0.1019	0.7616NS	2.62	3.86
NAA.BA	12	2.4074	0.2006	1.4994NS	2.02	2.69
Ex.Error	38	5.0825	0.1338			
Total	59	10.0777				

Grand Mean = 2.4611 CV = 23.32% SE = 0.0529 RE = 1.0823

ตารางภาคผนวกที่ 3 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวง
พันธุ์บุษกริก เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-test	F 0.05	F 0.01
Block	2	1.451	0.7255	2.7274NS	3.65	5.21
Treatment	19	6.0736	0.3197	1.2019NS	1.87	2.43
NAA	3	1.2924	0.4308	1.6195NS	2.85	4.34
BA	4	1.0692	0.2673	1.0049NS	2.62	3.86
NAA.BA	12	3.712	0.3093	1.1628NS	2.02	2.69
Ex. Error	38	10.1068	0.266			
Total	59	17.6314	0.2988			

Grand Mean = 3.2944 CV = 28.42% SE = 0.07 RE = 1.0586

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวง
พันธุ์บุณชกริก เมื่ออายุครบ 12 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-test	F 0.05	F 0.01
Block	2	2.9833	1.4917	6.5714**	3.65	5.21
Treatment	19	8.4932	0.447	1.9692*	1.87	2.43
NAA	3	1.7042	0.5681	2.5026NS	2.85	4.34
BA	4	0.6852	0.1713	0.7546NS	2.62	3.86
NAA.BA	12	6.1038	0.587	2.2407*	2.02	2.69
Ex. Error	38	8.6276	0.227			
Total	59	20.1041	0.3407			

Grand Mean = 3.8467 CV=24.29% SE = 0.0743 RE = 1.1889

ตารางภาคผนวกที่ 5 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของตาไหลบัวหลวง
พันธุ์บุณชกริก เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-test	F 0.05	F 0.01
Block	2	3.2147	1.6074	6.1728**	3.65	5.21
Treatment	19	7.2758	0.3829	1.4704NS	1.87	2.43
NAA	3	0.7945	0.2648	1.017 NS	2.85	4.34
BA	4	0.5128	0.1282	0.4924NS	2.62	3.86
NAA.BA	12	5.9685	0.4974	1.91 NS	2.02	2.69
Ex.Error	38	9.8965	0.2604			
Total	59	20.387	0.3455			

Grand Mean = 3.9389 CV = 6.59% SE = 0.0753 RE = 1.1753

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 6 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อจำนวนใบของบัวหลวงพันธุ์มุลชากริก
เมื่ออายุ ครอบ 16 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-test	F 0.05	F 0.01
Block	2	0.0589	0.0295	1.6453NS	3.65	5.21
Treatment	19	0.3401	0.0179	1.0000NS	1.87	2.43
NAA	3	0.0444	0.0148	0.8268NS	2.85	4.34
BA	4	0.0629	0.0157	0.8785NS	2.62	3.86
NAA.BA	12	0.2328	0.0194	1.0838NS	2.02	2.69
Ex.Error	38	0.6804	0.0179			
Total	59	1.0794				

Grand Mean = 1.0222 CV = 13.23% SE = 0.0173 RE = 1.0218

ตารางภาคผนวกที่ 7 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อขนาดใบของบัวหลวงพันธุ์มุลชากริก
เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-test	F 0.05	F 0.01
Block	2	2.9848	1.4924	12.5520**	3.65	5.21
Treatment	19	1.5972	0.084	0.7070NS	1.87	2.43
NAA	3	0.2731	0.091	0.7656NS	2.85	4.34
BA	4	0.221	0.553	0.4647NS	2.62	3.86
NAA.BA	12	1.1031	0.092	0.7731NS	2.02	2.69
Ex. Error	38	4.5195	0.1189			
Total	59	9.1015				

Grand Mean = 1.3 CV = 29.9% SE = 0.051 RE = 1.3916

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ 0.01

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 8 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อความยาวก้านใบของบัวหลวงพันธุ์
บุญชริก เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-test	F 0.05	F 0.01
Block	2	3.1006	1.5503	5.3020**	3.65	5.21
Treatment	19	4.8772	0.2567	0.8779NS	1.87	2.43
NAA	3	0.416	0.1387	0.4742NS	2.85	4.34
BA	4	1.6892	0.4223	1.4443NS	2.62	3.86
NAA.BA	12	2.7720	0.2310	0.7900NS	2.02	2.69
Ex.Error	38	11.1122	0.2924			
Total	59	19.09				

Grand Mean = 1.7633 CV = 40.7235% SE = 0.0729 RE = 1.1458

ตารางภาคผนวกที่ 9 วิเคราะห์ทางสถิติผลของ NAA และ BA ต่อจำนวนตาของบัวหลวงพันธุ์บุญชริก
เมื่ออายุครบ 16 สัปดาห์

SOURCE	df	SS	MS	F-test	F 0.05	F 0.01
Block	2	20.1083	10.0542	16.4499**	3.65	5.21
Treatment	19	16.8499	0.8868	1.4510NS	1.87	2.43
NAA	3	6.85	2.2833	3.7358*	2.85	4.34
BA	4	5.35	1.3375	2.1883NS	2.62	3.86
NAA.BA	12	4.649	0.3874	0.6339NS	2.02	2.69
Ex.Error	38	23.2251	0.6112			
Total	59	60.1833				

Grand Mean = 2.2167 CV = 52.51% SE = 0.1292 RE = 1.5237

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

