

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและแสงต่อการเกิด
ไซมาติกเอมบริโอเจนีซิสของบัวหลวงพันธุ์บุญทริก

EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS AND LIGHT
ON SOMATIC EMBRYOGENESIS OF LOTUS
(*Nelumbo nucifera* Gaertn.) CV. BUNTHARIK



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชสวน

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2548

ISBN 974-15-1681-9

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

**การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและแสงต่อการเกิด
โซมาติกเอมบริโอเจนีซิสของบัวหลวงพันธุ์บุนทรริก**

**EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS AND LIGHT
ON SOMATIC EMBRYOGENESIS OF LOTUS**

(*Nelumbo nucifera* Gaertn.) CV. BUNTHARIK



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... **60960**
วัน,เดือน,ปี..... **- 7 พ.ศ. 2549**

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชสวน

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและข้อมูลของเอกสารทุกครั้งที่มี
ISBN 974-15-1681-9

.....
i.....

**EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS AND LIGHT
ON SOMATIC EMBRYOGENESIS OF LOTUS
(*Nelumbo nucifera* Gaertn.) CV. BUNTHARIK**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULLFILMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ISBN 974-15-1681-9
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2005

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG ที่มีการนำไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต และแสงต่อการเกิด โชมอดิเคอเมบริโอจีนีซิสของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริก
ชื่อนักศึกษา	นางสาวภักวดี ภักดีงาม
รหัสประจำตัว	43066209
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขา	พืชสวน
พ.ศ.	2548
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.สุเม อรัญนารอด

บทคัดย่อ

จากการศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริก โดยนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ภายใต้แสง cool white fluorescence เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน นาน 8 สัปดาห์ พบว่าทุกชิ้นส่วนสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ทั้งสามส่วน โดยชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะเกิดแคลลัสที่มีสีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่นแยกกันได้ยาก และมีการเพิ่มขนาดแคลลัสมากกว่าชิ้นส่วนอื่นๆ ส่วนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจากคัพภะแคลลัสที่ได้มีลักษณะแคลลัสใกล้เคียงกับแคลลัสที่เกิดใน ส่วนก้านใบจากคัพภะส่วนตาไหลสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้น้อยที่สุดแคลลัสที่ได้มีลักษณะเกาะกันหลวมๆ และเป็นสีน้ำตาล โดยชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะและตายอดจากคัพภะสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิด โชมอดิเคอเมบริโอจีนีซิส โดยนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกมาชักนำการเกิดโชมอดิเคอเมบริโอจีนีซิสในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 50 และ 60 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 0.50 1.00 และ 1.50 ไมโครโมลาร์ เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescence เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน นาน 20 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะสามารถชักนำให้เกิด โชมอดิเคอเมบริโอได้ในทุกสูตรอาหาร และการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.50 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดโชมอดิเคอเมบริโอได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโต 3.92 คะแนน และเปอร์เซ็นต์การเกิดโชมอดิเคอเมบริโอ 66.67เปอร์เซ็นต์

การศึกษาความเข้มแสง และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเกิดโวมิติกเอมบริโอจีสีส โดยนำชิ้นส่วนกันใบจากคัพพะมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวความเข้มแสง 20 30 50 และ 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ และแสงสีแดงความเข้มแสง 10 20 30 และ 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวันนาน 4 สัปดาห์หลังจากนั้นย้ายแคลลัสที่ได้ทั้งหมดไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ลดปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตจากเดิมลงครึ่งหนึ่งเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวจะมีสีเขียวลักษณะเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่น ส่วนการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงแคลลัสจะมีสีเขียวอ่อนและมีลักษณะจำน้ำเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่น หลังจากย้ายชิ้นส่วนมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ลดปริมาณความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่งพบว่า โวมิติกเอมบริโอสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่ระดับความเข้มแสง 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ร่วมกับอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโวมิติกเอมบริโอ 5.33 คะแนน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติกเอมบริโอ 50 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าเฉลี่ยจำนวนโวมิติกเอมบริโอต่อชิ้นส่วน 6.00 และเริ่มสังเกตเห็น pro-embryo ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง จากนั้น pro-embryo จะพัฒนาเป็น globular shape และ mature embryo ในสัปดาห์ที่ 10

Thesis title	Effect of Plant Growth Regulators and Light on Somatic Embryogenesis of Lotus (<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.) cv. Buntharik
Student	Miss Pakwadee Pakdeengam
Student ID	43066209
Degree	Master of Science
Programme	Horticulture
Year	2005
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr.Sumay Arunyanart

ABSTRACT

Effect of explants types on callus induction of Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) cv. Buntharik was studied. Callus was initiated by culturing petioles from embryos, buds from embryos and buds from rhizomes on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium containing a combination of 40 μM NAA (α -naphthalene acetic acid) and 0.5 μM TDZ (Thidiazuron) for 8 weeks under 16-h photoperiods cool white fluorescence. It was found that all explants produced callus within 4 weeks of incubation. The best callus induction was produced from petiole explants. The callus was green and compact glandular. On the other hand, bud explant from rhizome gave the lowest score of callus growth and induced brown friable callus.

Effect of plant growth regulators on induction of somatic embryogenesis was studied. The petioles from embryos were cultured on MS medium containing combinations of 40, 50 and 60 μM NAA and 0.25, 0.50, 1.00 and 1.50 μM TDZ for 20 weeks under 16-h photoperiods cool white fluorescence. It was found that the explants cultured on all media formed somatic embryo. However, the best score of growth (3.92) and the maximum percentage of explants formed embryos (66.67) were achieved from medium supplemented with 40 μM NAA and 0.50 μM TDZ when cultured for 12 weeks of incubation.

Effect of light and plant growth regulators on induction of somatic embryogenesis was studied. The petiole explant from embryos were cultured on MS medium containing combinations of 2.0 μM 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) and 0.5 μM BA (benzyladenine), 2.5 μM NAA and 2.0 μM BA, 40 μM NAA and 0.50 μM TDZ for 4 weeks under 16-h photoperiods of cool white fluorescence with photosynthetic photon flux of 20, 30, 50 and 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and red light with photosynthetic photon flux of 10, 20, 30 and 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. After 4 weeks

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และ III อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

of incubation, all calluses were transferred to MS medium supplemented with half concentrations of all plant growth regulators which mentioned above for 12 weeks. After 4 weeks, callus changed to green hard callus under white light exposure, in contrast callus developed to light-green hard callus under red light condition. The best score of callus growth (5.33), the maximum percentage of explants (50) formed embryos and number of somatic embryos per explant (6.00) were achieved when calluses were subjected to red light treatment with photosynthetic photon flux of $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ combined with 20 μM NAA and 0.25 μM TDZ. Callus formed pro-embryo within 6 weeks of incubations and developed to globular shape and mature embryos within 10 weeks of incubation.



กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเม อรัญนารต อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์
ที่ให้คำปรึกษาแนะนำในการทดลอง ตลอดจนจัดหาอุปกรณ์การทดลอง และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์
จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบัน
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำในการทำ
วิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ตลอดจนให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อไพฑูรย์ คุณแม่พิมพ์จันทร์ ภักดีงาม และขอบคุณ
คุณภักพงษ์ ภักดีงาม คุณนิภาพร ยลสวัสดิ์ ญาติๆ รวมทั้งพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่
สนับสนุนช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ภักวดี ภักดีงาม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูป	XVII
คำย่อและสัญลักษณ์	XVIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์การศึกษา	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา	2
1.4 ขั้นตอนการศึกษา	2
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ความรู้เกี่ยวกับแคลลัสและเอมบริโอจีนีซิส	4
2.1.1 แคลลัส	4
2.1.2 เอมบริโอจีนีซิส	5
2.1.3 แสง	6
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง	11
3.1 อุปกรณ์	11
3.2 วิธีการทดลอง	12
3.2.1 การเตรียมอาหาร	12
3.2.2 การฟอกฆ่าเชื้อ	12
3.2.3 วิธีการทดลอง	12

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 บันทึกข้อมูล	15
3.4 วิเคราะห์ผล	19
บทที่ 4 ผลการทดลอง	20
4.1 ศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสของบัวหลวง พันธุ์บุณฑริก	20
4.2 ศึกษาการเกิดไซมาติคเอ็มบริโอของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก	25
4.3 วิจัยผลผลการทดลอง	51
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	53
บรรณานุกรม	55
ภาคผนวก	60
ภาคผนวก ก	61
ภาคผนวก ข	62
ภาคผนวก ค	66
ประวัติผู้เขียน	89

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตแคลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะตายอดจากคัพภะและตาจากไหล บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น $40\ \mu\text{M}$ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น $0.5\ \mu\text{M}$	21
4.2	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะตายอดจากคัพภะและตาจากไหล บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น $40\ \mu\text{M}$ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น $0.5\ \mu\text{M}$	22
4.3	แสดงขนาดของแคลัสที่เพิ่มขึ้นจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะตายอดจากคัพภะและตาจากไหล บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น $40\ \mu\text{M}$ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น $0.5\ \mu\text{M}$	23
4.4	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของ โชมaticเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น ต่างๆ	28
4.5	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิด โชมaticเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น ต่างๆ	29
4.6	แสดงจำนวน โชมaticเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	30
4.7	แสดงการเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก ภายใต้แสงสีขาวระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ อายุ 4 สัปดาห์.....	36
4.8	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของ โชมaticเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกภายใต้แสงสีขาวระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ.....	37
4.9	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิด โชมaticเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกภายใต้แสงสีขาวระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ	38

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.10	แสดงจำนวน โชมaticเอ็มบริโอต่อชิ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพพะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกภายใต้แสงขาวระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ	39
4.11	แสดงการเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพพะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริก ภายใต้แสงสีแดงระดับความเข้มแสงต่างๆบนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ อายุ 4 สัปดาห์	45
4.12	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของ โชมaticเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพพะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริก ภายใต้แสงสีแดงระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ	46
4.13	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิด โชมaticเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพพะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกภายใต้แสงสีแดงระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ	47
4.14	แสดงจำนวน โชมaticเอ็มบริโอต่อชิ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพพะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกภายใต้แสงสีแดงระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ	48
ก.1	สูตรอาหาร Murashige and skoog (1962).....	61
ข.1	แสดงขั้นตอนการคั่งน้ำออกจากเซลล์พืช	63
ข.2	แสดงขั้นตอนการข้อมสีไลต์	64
ค.1	วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบ จากคัพพะ ตายอดจากคัพพะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกที่ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 2 สัปดาห์	66
ค.2	วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพพะ ตายอดจากคัพพะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกที่ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	66

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ค.3	วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะดาบอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มูณทริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 6 สัปดาห์	67
ค.4	วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะดาบอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มูณทริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 8 สัปดาห์	67
ค.5	วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของแคลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะดาบอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มูณทริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 2 สัปดาห์	68
ค.6	วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของแคลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะดาบอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มูณทริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	68
ค.7	วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของแคลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะดาบอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มูณทริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 6 สัปดาห์	69
ค.8	วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของแคลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะดาบอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มูณทริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 8 สัปดาห์	69
ค.9	วิเคราะห์ผลขนาดแคลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะดาบอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มูณทริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 2 สัปดาห์.....	70

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ค.10	วิเคราะห์ผลขนาดของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะตาขอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	70
ค.11	วิเคราะห์ผลขนาดของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะตาขอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	71
ค.12	วิเคราะห์ผลขนาดของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะตาขอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	71
ค.13	วิเคราะห์ผลขนาดของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะตาขอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM ($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	72
ค.14	วิเคราะห์ผลเปอร์เซ็นต์การเกิดไซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	72
ค.15	วิเคราะห์ผลเปอร์เซ็นต์การเกิดไซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	73
ค.16	วิเคราะห์ผลเปอร์เซ็นต์การเกิดไซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 19 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	73

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค.17 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิดโซมาติคคอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	74
ค.18 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิดโซมาติคคอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	74
ค.19 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิดโซมาติคคอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 19 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	75
ค.20 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคคอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 13 สัปดาห์	75
ค.21 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคคอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 16 สัปดาห์	76
ค.22 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคคอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 19 สัปดาห์($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	76
ค.23 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	77
ค.24 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคคอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	77

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค.25 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิด โชมาดิคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	78
ค.26 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิด โชมาดิคเอมบริโอจากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	78
ค.27 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	79
ค.28 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด โชมาดิคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	79
ค.29 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด โชมาดิคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	80
ค.30 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด โชมาดิคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation).....	80

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค.31 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 16 สัปดาห์	81
ค.32 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 10 สัปดาห์	81
ค.33 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 13 สัปดาห์	82
ค.34 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 16 สัปดาห์	82
ค.35 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	83
ค.36 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 10 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	83
ค.37 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	84

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค.38 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิด โชมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบิวหลวงพันธุณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	84
ค.39 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบิวหลวงพันธุณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	85
ค.40 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด โชมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบิวหลวงพันธุณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	85
ค.41 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด โชมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบิวหลวงพันธุณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)	86
ค.42 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด โชมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบิวหลวงพันธุณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 16 สัปดาห์.....	86
ค.43 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบิวหลวงพันธุณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	87
ค.44 วิเคราะห์ผลผลการเจริญเติบโตของ โชมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบิวหลวงพันธุณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 10 สัปดาห์	87

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค.45 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้าน ใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้ม แสงระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 13 สัปดาห์	88
ค.46 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้าน ใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้ม แสงระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 16 สัปดาห์	88



สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
3.1	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์มัทริก	17
3.2	แสดงคะแนนการเจริญเติบโตไซมาติกเอ็มบริโอของบัวหลวงพันธุ์มัทริก	18
4.1	เปรียบเทียบการเกิดแคลลัสในชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะ และตาจากไหล	24
4.2	แสดงลักษณะภายนอกของไซมาติกเอ็มบริโอบัวหลวงพันธุ์มัทริก	49
4.3	แสดงลักษณะภายในของไซมาติกเอ็มบริโอบัวหลวงพันธุ์มัทริก	50
ข.1	เครื่องตัดเนื้อเยื่อ (microtome).....	65
ข.2	เครื่องสุญญากาศ (vacuum).....	65
ข.3	slide drying bench.....	65



คำย่อและสัญลักษณ์

%	percent
α	alfar
μM	micromolar
2,4-D	2,4-dichlorophenoxy acetic acid
BA	benzyladenine
NAA	α -naphthalene acetic acid
TDZ	1-Phenyl-3-(1,2,3- thiadiazol-5-yl)-UREA
g	gram
MS	Murashige and Skoog (1962)
cm	centimetre
mm	millimetre



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) cv. Buntharik เป็นพืชน้ำ อยู่ในวงศ์ Nymphaeaceae (Core. 1955) มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียเขตร้อน และเขตกึ่งร้อน แถบทะเลสาบเขตร้อนจนถึง ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ อินเดีย เปอร์เซียตะวันออก ออสเตรเลียเหนือ (สุเม อริญารณ. 2537) จีน ไทย ทิเบต (Core. 1955) เป็นพรรณไม้้ำประเภทที่มีการเจริญเติบโตอยู่ใต้น้ำบางส่วน และเหนือน้ำบางส่วน หรือ emerged plant (สุชาติ ศรีเพ็ญ. 2542) ลักษณะใบชูพื้นน้ำ ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ ปลายเรียว ปัจจุบันนิยมปลูกเป็นการค้า นอกจากนี้ส่วนอื่นของบัวยังนำไปใช้ประโยชน์ เช่น ใบใช้ห่อของแทนใบตอง ไหล่นำมาประกอบอาหาร เกสรตัวผู้ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ กลีบดอกชั้นในใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง เป็นต้น (เสริมลาภ วสุวัต. 2537)

อย่างไรก็ตามการใช้ประโยชน์จากบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกยังมีปัญหาบางประการ เช่น อายุการใช้งานที่สั้นประมาณ 2-3 วัน กลีบดอกเหี่ยว และร่วงเร็ว (สายชล เกตุษา. 2531) อีกทั้งรูปทรงของดอก และสีสันของดอกยังมีให้เลือกจำกัด (กวิณาญ พลหาญ. 2534) เพื่อประโยชน์ทางการค้าควรมีการพัฒนาปรับปรุงให้มีความหลากหลาย (ณราวดี ปิย โชติสกุลชัย. 2539)

จากปัญหาด้านคุณภาพ และปริมาณการผลิตดังกล่าว จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาสายพันธุ์บัวหลวงพันธุ์บุณฑริกให้มีคุณภาพด้านสีสัน รูปทรงดอก เพื่อตอบสนองต่อความต้องการในการปลูกเป็นการค้าของเกษตรกร (สมปอง เตชะโต. 2537) การชักนำการเกิดโสมาคิคเอ็มบริโอจีนิซิสเป็นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สามารถพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงอวัยวะพืชอื่น และยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช เช่น การประยุกต์ใช้ร่วมกับการถ่ายยีนส์ เป็นต้น (อารีย์ วรรณวิวัฒน์. 2541)

จากประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์ของการชักนำการเกิดโสมาคิคเอ็มบริโอจีนิซิส จึงจำเป็นต้องศึกษาปัจจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดโสมาคิคเอ็มบริโอจีนิซิสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงคุณภาพ และปริมาณดอกของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์การศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่มีต่อการชักนำให้เกิดโคมาคิคเอมบริโอจินิกซ์ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

1.2.3 เพื่อศึกษาอิทธิพลของแสง ที่มีต่อการชักนำให้เกิดโคมาคิคเอมบริโอจินิกซ์ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

1.3 ขอบเขตการศึกษา

ศึกษาการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก โดยการนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดโคมาคิคเอมบริโอจินิกซ์ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกโดยนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 50 60 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0.25 0.50 1.00 และ 1.50 ไมโครโมลาร์ และศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและแสงต่อการเกิดโคมาคิคเอมบริโอจินิกซ์ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกโดยนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ โดยเฉพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวที่มีความเข้มแสง 20 30 50 และ 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ และแสงสีแดงความเข้มแสง 10 20 30 และ 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ หลังจากนั้นย้ายแคลลัสที่ได้ทั้งหมดไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ลดปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตจากเดิมลงครึ่งหนึ่งโดยใช้เวลาศึกษาทดลองตั้งแต่เดือนมีนาคม 2546 ถึงเดือนเมษายน 2548

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1.4.1 ศึกษาการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

1.4.2 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่มีต่อการชักนำให้เกิดโคมาคิคเอมบริโอจินิกซ์ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

1.4.3 ศึกษาอิทธิพลของแสงที่มีต่อการชักนำให้เกิดโคมาคิคเอมบริโอจินิกซ์ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบชิ้นส่วนที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดแคลสซ์ของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก

1.5.2 ทราบชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดไซมาติคเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก

1.5.3 ทราบชนิดและความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดไซมาติคเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก

1.5.4 ทราบลักษณะภายในและภายนอกของการพัฒนาเป็นไซมาติคเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้เกี่ยวกับแคลลัสและเอ็มบริโอจีนีส

2.1.1 แคลลัส (Callus) หมายถึง กลุ่มเซลล์พาราไคมา (parenchyma) เป็นเนื้อเยื่อถาวรเชิงเดี่ยวที่มีชีวิต และยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อหรืออวัยวะอื่นๆ สามารถแบ่งเซลล์ได้อย่างต่อเนื่อง ภายในเซลล์มีแวคิวโอล (vacuole) จำนวนมาก เซลล์มีรูปร่างไม่แน่นอน มีรูปร่างหลายแบบแตกต่างกันไปตามตำแหน่งที่อยู่และหน้าที่พิเศษ (ประศาสตร์ เกี่ยมณี. 2538 ; รั้งสฤษฎี กาวีตะ. 2540 ; ภูวดล บุตรรัตน์. 2538) ลักษณะของแคลลัสแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ แคลลัสชนิดที่เซลล์เกาะกันอยู่หลวมๆ แยกจากกันได้ง่าย เรียกว่า friable callus , soft callus หรือ non-embryogenic callus ซึ่งมีการเจริญเติบโตรวดเร็ว และอีกชนิดคือแคลลัสที่เซลล์เกาะกันแน่น แยกจากกันได้ยาก เรียกว่า compact callus, hard callus หรือ embryogenic callus เป็นแคลลัสที่มีการเจริญเติบโตช้า และสามารถที่จะมีการพัฒนาโครงสร้างไปเป็นออร์กาโนจีนีสและเอ็มบริโอจีนีสได้ต่อไป (Dixon and Gonzales. 1994) ทุกส่วนที่มีชีวิตของพืชสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยส่วนที่ประสบความสำเร็จมากที่สุดคือ คัพภะ (embryo) ใบเลี้ยง (cotyledon) ลำต้น (stem) ส่วนเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) ส่วนใต้ใบเลี้ยง (hypocotyls) และราก (root) ส่วนพืชใบเลี้ยงเดี่ยวคือ คัพภะ ใบอ่อน (young leaf) ดอกอ่อน (young flower) และเมล็ดที่เริ่มงอก นอกจากนี้เนื้อเยื่ออื่นๆ เช่น แคมเบีย (cambium) คอร์เทกซ์ (cortex) ไม้ (pith) ท่อลำเลียงอาหาร (phloem) (ประศาสตร์ เกี่ยมณี. 2538 ; รั้งสฤษฎี กาวีตะ. 2540 ; บุญยี่น กิจวิจารณ์. 2540) และ ส่วนหัวของพืช เช่น มันเทศ แครอท ก็สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ (Dodds and Roberts. 1995)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดแคลลัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ประศาสตร์ เกี่ยมณี. 2538 ; รั้งสฤษฎี กาวีตะ. 2540)

1. ขนาดและรูปร่างของชิ้นส่วน (size and shape) ชิ้นอยู่กับชนิดของพืช และมีขนาดพอเหมาะ เช่น ขนาดแครอทที่มีน้ำหนักประมาณ 3.8 กรัม สามารถเกิดแคลลัสได้ดี

2. สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) การพัฒนาเป็นแคลลัสขึ้นอยู่กับความสมดุลของออกซิน (auxin) และไซโตไคนิน (cytokinin) ถ้าออกซินสูงไซโตไคนินต่ำชิ้นส่วนจะพัฒนาไปเป็นราก ถ้าออกซินต่ำไซโตไคนินสูงชิ้นส่วนจะพัฒนาไปเป็นยอด ออกซินที่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมคือ 0.01-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ไซโตไคนินที่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมคือ 0.1-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. ธาตุอาหาร (nutrients) นอกจากส่วนประกอบทั่วไปในสูตรอาหารแล้ว พวกกรดอะมิโน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์ขอสงวนสิทธิ์ในการใช้ เช่น กลูตามีน (glutamine) แอสปาราจีน (asparagines) อาร์จินีน (arginine) พิวรีน (purine) และ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งหากมีการนำไปใช้

ไพริมิดีน (pyrimidine) สารสกัดจากมอลต์ (malt extract) และน้ำมะพร้าว (coconut milk) ซึ่งมีส่วนสำคัญต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส

4. แหล่งคาร์บอน (carbon source) ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส (glucose) ซูโครส (sucrose) และแมนนิทอล (mannitol) ความเข้มข้น 2-4 เปอร์เซ็นต์

5. สิ่งแวดล้อม (environmental factor) แคลลัสเจริญเติบโตในอาหารเหลวได้ดีกว่าอาหารแข็ง

2.1.2 เอมบริโอจีนีซิส (Embryogenesis) การเพาะเลี้ยงคัพภะประสบความสำเร็จเป็นครั้งแรกในปี 1985 โดยการเพาะเลี้ยงแคโรท (Steward *et al.* 1958) ต่อมาได้มีการผลิตคัพภะกับพืชอีกหลายชนิด ซึ่งผลความสำเร็จนี้สามารถผลิตคัพภะได้จำนวนมาก และสามารถพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ และพัฒนากลับไปเป็นคัพภะใหม่ได้อีกด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Redenbaugh, 1987) ซึ่งให้ผลด้านปริมาณการผลิตจำนวนมากในเวลาจำกัด และมีความสม่ำเสมอทางพันธุกรรมปลอดโรค และยังสามารถวางแผนการปลูกพืชเป็นการค้าอีกด้วย

เอมบริโอจีนีซิสเป็นการพัฒนาชิ้นส่วนเริ่มต้นไปเป็นคัพภะ ซึ่งเกิดขึ้นได้ 2 แบบ คือ คัพภะที่ได้จากไข่ที่ได้รับการผสม (zygotic embryo) มีโครโมโซม $2n$ และคัพภะที่ไม่ได้รับการผสม หรือเกิดจากเซลล์หรือเนื้อเยื่ออื่นๆ (non-zygotic embryo) ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ คัพภะที่ได้จากเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (egg) ที่ไม่ได้รับการผสม (parthenogenetic embryo) คัพภะที่ได้จากเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (androgenetic embryo) และคัพภะที่ได้จากเซลล์อื่นๆ (somatic cell) เรียกว่า adventive embryo (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2538 ; รั้งสฤษฎี กาวีตะ, 2540) สำหรับการเกิดเอมบริโอจีนีซิสในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบ่งออกได้ 2 แบบ คือการเกิดคัพภะโดยไม่ผ่านการเกิดแคลลัส (direct embryogenesis) และการเกิดคัพภะโดยพัฒนาเป็นแคลลัสก่อนแล้วจึงเจริญไปเป็นคัพภะ (indirect embryogenesis) (สุเม อรัญนารถ, 2536 ; อารีย์ วรรณวุฒิก, 2541) หลังจากนั้นคัพภะจะมีการพัฒนาอีก 5 ระยะ คือ proembryo globular shape torpedo shape และ mature embryo (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2538 ; รั้งสฤษฎี กาวีตะ, 2540 ; Pollard and Walker, 1990)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเอมบริโอจีนีซิสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. ชนิดพืช (plant type) พืชแต่ละชนิดแต่ละพันธุ์มีความยากง่ายในการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน เช่น ใบอ่อนพืชใบเลี้ยงคู่จะประสบความสำเร็จในการเกิดโชมaticเอมบริโอสูง แต่ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจะเกิดโชมaticเอมบริโอไม่แน่นอน (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2538 ; รั้งสฤษฎี กาวีตะ, 2540)

2. ชิ้นส่วนเริ่มต้น (explant) โดยทั่วไปส่วนที่เหมาะสมต่อการเกิดโชมaticเอมบริโอ คือ ส่วนที่มีเนื้อเยื่อเจริญ เช่น ปลายยอด ปลายราก ตาข้าง ใบอ่อน (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2538 ; รั้งสฤษฎี กาวีตะ, 2540 ; Pollard and Walker, 1990) เอมบริโอจีนิกแคลลัส (embryogenic callus) (อารีย์ วรรณวุฒิก, 2541) และช่อดอกอ่อน ก้านใบ และส่วนเหนือใบเลี้ยงจากต้นกล้าอ่อน (Dixon and Gonzales, 2541) สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ธาตุอาหาร (nutrients) พืชแต่ละชนิด แต่ละพันธุ์หรือแต่ละอวัยวะต้องการอาหารที่แตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ จึงจำเป็นต้องเลือกใช้สูตรอาหารให้เหมาะสม ธาตุอาหารบางตัวมีความสำคัญต่อการชักนำการเกิดโชมาทิคเอมบริโอ เช่น แคลเซียม (อารีย์ วรรณวัฒน์. 2541) โปตัสเซียม หรือไนโตรเจนที่อยู่ในรูปแอมโมเนียมและไนเตรดรวมกัน จะส่งเสริมการเกิดโชมาทิคเอมบริโอได้ดีกว่าการใช้ไนโตรเจนในรูปไนเตรดอย่างเดียว และปริมาณที่เหมาะสมอยู่ระหว่างความเข้มข้น 12-40 ไมโครโมลาร์ (Street. 1977) นอกจากนี้ยังมีน้ำมะพร้าวและน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 2-3 เปอร์เซ็นต์ ช่วยส่งเสริมการเกิดโชมาทิคเอมบริโอได้เช่นเดียวกัน (รังสฤษฎ์ กาวีดี. 2540)

4. สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) เช่น 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) มีความสำคัญมากในการกระตุ้นการเกิดเอมบริโอจินีซิส และ zeatin, ALAR (Succinic acid 2,7-methyl-hydrazide) (ประศาสตร์ เกื่อมณี. 2536 ; รังสฤษฎ์ กาวีดี. 2540) นอกจากนี้ยังมี picloram ส่งเสริมการเกิดโชมาทิคเอมบริโอได้เช่นกัน (อารีย์ วรรณวัฒน์. 2541)

5. สิ่งแวดล้อม (environment) มีดังนี้ (ประศาสตร์ เกื่อมณี. 2538 ; รังสฤษฎ์ กาวีดี. 2540)

5.1 แสง การเกิดโชมาทิคเอมบริโอต้องการความเข้มของแสงต่ำ หรือไม่ต้องการแสงเลย ยกเว้นพืชบางชนิด

5.2 อุณหภูมิ ต้องการอุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียสเล็กน้อย

5.3 ออกซิเจน ต้องการออกซิเจนสูงเพื่อใช้ในกระบวนการหายใจ

5.4 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ขึ้นอยู่กับชนิด อายุและระยะการพัฒนากิ่ง

2.1.3 แสง (light) ผลของแสงต่อการเกิดโชมาทิคเอมบริโอจินีซิส ช่วงความยาวแสง (day length) ชนิดแสง (light quality) และความเข้มแสง (light intensity) ล้วนมีความสำคัญต่อพืชที่เลี้ยง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความเข้มแสงที่ใช้มักเลือกใช้ความเข้มแสงที่ต่ำ เนื่องจากภายในหลอดทดลองมีคาร์บอนไดออกไซด์น้อยทำให้การสังเคราะห์แสงถูกจำกัด (คำณู กาญจนภูมิ. 2542) ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อน้ำตาลอยู่แล้วดังนั้นการสังเคราะห์แสงที่เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย สามารถทำให้ชิ้นส่วนพืชเจริญได้ (สิวพงศ์ จารัสพันธุ์. 2541) โดยทั่วไปความเข้มแสงที่พอเหมาะ และนิยมใช้กันคือ 1,000-4,000 ลักซ์ (คำณู กาญจนภูมิ. 2542) พืชส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ในสถานะเช่นนี้ แต่อาจมีพืชบางชนิดที่ชอบแสงมากหรือน้อยกว่านี้ หรือชอบความมืดในบางช่วงของการเจริญ เช่น *Nicotina tabacum* ต้องการความเข้มแสงสูงในการชักนำให้เกิด โชมาทิคเอมบริโอ (กุลวดี ไชยประสิทธิ์. 2537)

ชนิดของแสงสีต่างๆ ก็มีความสำคัญต่อการเจริญของพืชเช่นกัน ตัวอย่างเช่นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นยาสูบ พบว่าถ้าเก็บไว้ภายใต้แสงสีแดง และเขียวจะกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อได้ดีกว่าแสงสีน้ำเงิน หลอดไฟที่ใช้กันทั่วไปในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือหลอดฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent lamps) ที่เป็นแบบคูลไวต์ (cool white type) (คำณู กาญจนภูมิ. 2542) หรือไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลอดขาวเย็นซึ่งมีอุณหภูมิสีประมาณ 4,000-4,500 องศาเคลวิน ให้แสงสว่างที่มีสีสั้นก่อนข้าง ใกล้เคียงกับธรรมชาติแต่น้อยกว่าหลอดชนิดแสงกลางวัน (day light) คุณสมบัติของสีของแสงจะอยู่ระหว่างกึ่งกลางของหลอดชนิดแสงกลางวันกับหลอดชนิดขาวอุ่น (warm white) (ชาญศักดิ์ อภัยนิพัฒน์. 2542)

แสงแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

1. แสงสีเดียว คือแสงที่มีความยาวคลื่นขนาดเดียวอยู่ในแสงนั้น และมีเพียงสีเดียวโดยเราไม่สามารถแยกแสงนั้นออกเป็นสีต่างๆ ได้อีก แม้จะผ่านไปในตัวกลางใดๆ หรือปริซึมก็จะไม่แยกเป็นสีต่างๆ

2. แสงประกอบ คือแสงที่เกิดจากแสงที่มีความยาวคลื่นต่างๆ กันหลายๆ ขนาดมาผสมกัน เกิดเป็นแสงสีใดสีหนึ่ง เช่นแสงสีขาวจากดวงอาทิตย์ แสงไฟฟ้า ฯ ซึ่งแสงเหล่านี้เกิดจากแสงสีอื่นๆ ที่มีความยาวคลื่นหลายขนาดมาผสมกลมกลืนอยู่ด้วยกัน (วัฒนา ถาวร. 2537)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จิตเกษม เทียงจิตต์ (2545) ศึกษาผลของชิ้นส่วนเริ่มต้น และสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์อนุชกริก พบว่าชิ้นส่วนยอดจากคัพภะมีคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงใน NAA ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ส่วนการใช้คัพภะอ่อนเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นมีคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงใน NAA ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0.15 ไมโครโมลาร์

มนทริรา ไชยตะญากร (2544) ทำการทดลองชักนำให้เกิดแคลลัส และ โชมาทิคเอมบริโอจินีซิสในบัวหลวงพันธุ์ตัดบงกช พบว่าการเพาะเลี้ยงตาจากไหล (shoot) ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 4.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส และเมื่อย้ายชิ้นส่วนแคลลัสที่ได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดโชมาทิค เอมบริโอได้ดีที่สุด

ภักวดี ภักดีงาม (2545) การศึกษาผลของแสงร่วมกับ α -Naphthalene acetic acid และ Benzyladenine ต่อการเกิดโชมาทิคเอมบริโอจินีซิสของบัวหลวงพันธุ์อนุชกริก พบว่าการเพาะเลี้ยงแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์อนุชกริกในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA 2.0 ไมโครโมลาร์ และเก็บไว้ในที่มีแสงสว่าง มีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสดีที่สุด

Preece (1987) ทำการทดลองชักนำให้เกิดแคลลัสจากจากต้น *Juglan* พบว่า TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 – 5.00 ไมโครโมลาร์ มีความเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด

Page and Visser (1989) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Geraldton Wax* (*Chamelaucium uncinatum* Schauer) พบว่าการใช้ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ จะส่งเสริมการเกิดแคลลัสที่บริเวณฐานของข้อ

Al-Juboory and Williams (1990) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Algerian Ivy (*Hedera canariensis* L.) พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ NAA 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0.1 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด

Rojas and Kitto (1991) ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นในพืชตระกูลมะละกอผ่านกระบวนการโซมาติกเอมบริโอเจนีซิส ภายใต้อุณหภูมิและความเข้มแสงที่แตกต่างกัน พบว่าการเพาะเลี้ยง ovule ภายใต้อุณหภูมิ Cool-white fluorescence ความเข้มแสง $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ สามารถชักนำให้พัฒนามาเป็นโซมาติกเอมบริโอและเกิดต้นพืชในที่สุด

Visser *et al.* (1992) ศึกษาการชักนำโซมาติกเอมบริโอเจนีซิสจากส่วนของคืบใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ของเจอร์มานเนียม (geranium) โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี TDZ พบว่า TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอมบริโอได้ดีที่สุด

Compton and Gray (1993) ศึกษาการเกิดโซมาติกเอมบริโอเจนีซิสจากใบเลี้ยงอ่อนของแตงโม (watermelon) พบว่าโซมาติกเอมบริโอเกิดสูงสุดในอาหารสูตร MS ที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ ภายใต้อุณหภูมิที่มีแสงสว่าง

Gill and Saxena (1993) ทำการทดลองชักนำโซมาติกเอมบริโอเจนีซิสจากใบยาสูบ พบว่าการใช้ TDZ ความเข้มข้นระหว่าง 0.25 – 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอมบริโอโดยตรงจากชิ้นส่วนใบมากกว่าการใช้ NAA ร่วมกับ BA

Kuo and Smith (1993) ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นจากเอมบริโออ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสของ Augustinegrass พบว่าเมื่อนำแคลลัสไปเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิที่มีแสงในระดับความเข้มแสง $16 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ แคลลัสที่ได้จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวและเกิดโซมาติกเอมบริโอ เมื่อคู่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจะเห็นการพัฒนาของต้นพืชผ่านกระบวนการโซมาติกเอมบริโอเจนีซิส

Neuman (1993) ศึกษาการเกิดแคลลัส และโซมาติกเอมบริโอเจนีซิส จากชิ้นส่วนใบเลี้ยงของต้น Eastern black walnut พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงไม้เนื้อแข็งร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 และ 5.0 ไมโครโมลาร์ หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอมบริโอได้ดีที่สุด

Lakshmanan (1994) ศึกษาการเพิ่มจำนวน *Nymphaea hybrid* 'James Bsydon' ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเพาะเลี้ยงปลายรากร่วมกับ 2iP, BA และ NAA โดยใช้ความเข้มแสง $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ มีความเหมาะสมต่อการเจริญของยอด และการเพิ่มจำนวนยอดมากที่สุด โดยยอดที่ได้สามารถพัฒนารากภายใน 4 สัปดาห์

Lo (1996) ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นจากชิ้นส่วนใบของมันเทศในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเพาะเลี้ยงแผ่นใบ และก้านใบ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.9 – 4.5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส 100 เปอร์เซ็นต์แต่มีผลยับยั้งการเกิดต้น และรากจากแคลลัสที่ได้

Murthy (1996) ศึกษาการชักนำโชมaticเอมบริโอจันีชีสจากใบเลี้ยงของเจอร์ราเนียม พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดโชมaticเอมบริโอสูงสุดและสามารถเจริญไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์

Tome *et al.* (1996) ศึกษาอิทธิพลของแสงที่มีต่อการเกิดโชมaticเอมบริโอจันีชีสจากกลีบดอกกรัก พบว่าการให้แสงสีแดงความเข้มแสง $26 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เป็นแสงสุดท้ายของวันมีผลให้ได้โชมaticเอมบริโอมากกว่าการให้แสงฟารเรด (far red) เป็นแสงสุดท้ายของวัน

Castillo and Smith (1997) ศึกษาการชักนำ โชมaticเอมบริโอในบีโกเนีย พบว่าการเพาะเลี้ยงก้านใบของบีโกเนียภายใต้แสงสีแดงความเข้มแสง $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 80 เปอร์เซ็นต์ ของขึ้นส่วนก้านใบเกิดโชมaticเอมบริโอใน 5 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง และสามารถเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์

Tome (1997) ศึกษาการชักนำเอมบริโอจากกลีบดอกของดอกกรัก และป๊อปปี้ที่มีผลต่อการเกิดเอมบริโอ จากการทดลองพบว่า กลีบดอกสามารถชักนำให้เกิดโชมaticเอมบริโอได้ง่าย และมีปริมาณสูงสุดภายใต้ความเข้มแสง $90-100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เอมบริโอที่ได้สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์

Murthy and Saxena (1998) ศึกษาการเกิด โชมaticเอมบริโอจันีชีสจากเมล็ดของต้น neem โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ พบว่า TDZ ในระดับความเข้มข้น 1–50 ไมโครโมลาร์ มีผลต่อการเกิดโชมaticเอมบริโอจันีชีส โดยสามารถเกิดได้โดยตรงจากขึ้นส่วนเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงในระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 20 ไมโครโมลาร์

Onofrio *et al.* (1998) ทำการศึกษาอิทธิพลของคุณภาพแสงที่มีต่อการเกิดโชมaticเอมบริโอจันีชีสจากใบมะตูม พบว่า การเกิดโชมaticเอมบริโอมีจำนวนมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงความเข้มแสง $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Sunnichan (1998) ศึกษาการเกิด โชมaticเอมบริโอจันีชีสของ gum karaya (*Sterculia ureus*) โดยชักนำให้เกิดแคลลัสจากส่วนต้นใต้ใบในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 4.52 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA 8.90 ไมโครโมลาร์ ต่อมาเมื่อย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี TDZ 0.45 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดโชมaticเอมบริโอได้ดีที่สุด

Kintzios *et al.* (1999) ศึกษาการเกิดโชมaticเอมบริโอจันีชีสจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสจากใบ *Salvia officinalis* และ *S. truticosa* พบว่าการชักนำในระดับความเข้มแสงที่ต่ำ ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) มีผลให้เกิดแคลลัสและโชมaticเอมบริโอในระดับที่สูงกว่าการชักนำในที่มีความเข้มแสงสูง ($250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

Dipali (2001) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต Thidiazuron (TDZ) ที่ระดับความเข้มข้น 0.001 0.01 0.05 0.1 0.5, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงส่วนต้นใต้ใบเลี้ยงของต้น cumin (*C. cyminum*) พบว่า เกิดแคลลัสสีเขียว แบบ compact ในทุกระดับความเข้มข้นของ TDZ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงได้ 10 วัน

Das *et al.* (2002) ทดลองชักนำโชมatickemบริโอจีนีซิสจากแผ่นใบขององุ่น โดยใช้ระดับฮอร์โมน ความเข้มแสง และอุณหภูมิ กระตุ้นการเกิดโชมatickemบริโอ พบว่าการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากแผ่นใบภายใต้ความเข้มแสง $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนการเพาะเลี้ยงภายใต้ความเข้มแสง $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ มีผลทำให้แคลลัสกลายเป็นเอมบริโอได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงภายใต้ความเข้มแสง $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ โดยไม่ผ่านความเข้มแสง $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ซึ่งจะมีผลยับยั้งการเกิดโชมatickemบริโอจีนีซิส และทำให้แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีชมพู



บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 เมล็ดและไหลบัวหลวงพันธุ์มูณขริก

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารสูตรพื้นฐาน (MS) (ภาคผนวก ก)

3.1.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่างๆ ได้แก่ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid), BA (benzyladenine), NAA (α -naphthalene acetic acid), TDZ [1-Phenyl-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl)-UREA]

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

3.1.2.4 สารเคมีที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร (permanent slide) (ภาคผนวก ข)

3.1.3 อุปกรณ์เตรียมอาหาร

3.1.3.1 เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ ปิเปต กระจกบดตวง แท่งแก้ว กรวย ซ้อนตักสาร

3.1.3.2 ภาชนะบรรจุ ได้แก่ ขวดปากกว้างขนาด 4 ออนซ์ และจานแก้ว

3.1.3.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบหยาบและแบบละเอียด

3.1.3.4 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

3.1.3.5 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ความดันไอน้ำ

3.1.3.6 เตาแก๊ส

3.1.4 อุปกรณ์ย้ายชิ้นส่วนพืช ได้แก่ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (lamina flow) มีดผ่าตัด จานแก้ว คีมคีบ ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ ชั้นวางอุปกรณ์ ขวดใส่แอลกอฮอล์

3.1.5 อุปกรณ์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.1.5.1 ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ $25\pm 3^{\circ}\text{C}$

3.1.5.2 ชั้นวางของ

3.1.5.3 หลอดไฟเรืองแสงสีขาว

3.1.5.4 กระจกยแก้วสีแดง

- 3.1.6 กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ (stereo microscope) พร้อมติดตั้งอุปกรณ์การถ่ายภาพ
- 3.1.7 กล้องจุลทรรศน์ชนิดไบโนคูลาร์ไมโครสโคป (binocular microscope) พร้อมติดตั้งอุปกรณ์การถ่ายภาพ
- 3.1.8 อุปกรณ์ศึกษาลักษณะภายในของเนื้อเยื่อ (ภาคผนวก ข)
- 3.1.9 เครื่องมือวัดความเข้มแสง

3.2 วิธีการทดลอง

- 3.2.1 การเตรียมอาหาร
- 3.2.1.1 เตรียม Stock solution
- (1) Macroelements ความเข้มข้น 10 เท่า
 - (2) Microelements ความเข้มข้น 100 เท่า
- 3.2.1.2 เตรียมอาหารแข็งสูตร MS 1 ลิตร
- 3.2.1.3 เติมน้ำตาล 30 กรัม
- 3.2.1.4 เติมน้ำตาล 30 กรัม
- 3.2.1.5 ปรับปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
- 3.2.1.6 ปรับ pH 5.5-5.7 ด้วย NaOH หรือ HCl 1 นอร์มอล
- 3.2.1.7 เติมน้ำ gellite 2 กรัม
- 3.2.1.8 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาทีและทิ้งไว้ให้เย็น
- 3.2.2 การฟอกฆ่าเชื้อ
- 3.2.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดบัวหลวงพันธุ์มูซกริก
- (1) นำเมล็ดบัวหลวงมาผ่านน้ำไหลนาน 1 ชั่วโมง
 - (2) ฟอกฆ่าเชื้อผิว ด้วย ethyl alcohol 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที Clorox 50 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ tween 20 2 หยด นาน 20 นาที
 - (3) ล้างน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที
- 3.2.2.2 การฟอกฆ่าเชื้อไหล
- (1) นำไหลผ่านน้ำไหลนาน 1 ชั่วโมง
 - (2) ทำการฟอกเชื้อผิวด้วย ethyl alcohol 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที mercuric chloride 0.1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween 20 2 หยด นาน 10 นาที calcium hypochlorite 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween 20 2 หยด นาน 30 นาที calcium hypochlorite 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween 20 2 หยด นาน 10 นาที

(3) ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

3.2.3 วิธีการทดลอง

3.2.3.1 ศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้น ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลัสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก นำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะ ตายอดจากคัพพะและตาจากไหล มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้แสง cool white fluorescence เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน นาน 8 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ RCBD มี 3 treatment 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น ต่อ treatment

3.2.3.2 ศึกษาการเกิดโชมaticเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ TDZ ที่เหมาะสมต่อการเกิดโชมaticเอมบริโอจึ้นจากชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

นำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกมาชักนำการเกิดโชมaticเอมบริโอจึ้นในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในระดับต่างๆ และเพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวันนาน 20 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD มี 12 Treatment combinations 3 ซ้ำ ซ้ำ ละ 4 ชิ้น ต่อ Treatment มี 2 ปัจจัย ดังนี้

ปัจจัย A คือ ความเข้มข้น NAA มี 3 ระดับ คือ

$$a_1 = 40 \mu\text{M}$$

$$a_2 = 50 \mu\text{M}$$

$$a_3 = 60 \mu\text{M}$$

ปัจจัย B คือ ความเข้มข้น TDZ มี 4 ระดับ คือ

$$b_1 = 0.25 \mu\text{M}$$

$$b_2 = 0.50 \mu\text{M}$$

$$b_3 = 1.00 \mu\text{M}$$

$$b_4 = 1.50 \mu\text{M}$$

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มแสง และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเกิด โชมaticเอมบริโอจินิกส์จากชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะของบัวหลวงพันธุ์อุตรดิตถ์

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาการเกิด โชมaticเอมบริโอจินิกส์ของชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescence ที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม

นำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะของบัวหลวงพันธุ์อุตรดิตถ์มาชักนำการเกิด โชมaticเอมบริโอจินิกส์ในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในระดับต่างๆ และเพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ต่อวัน นาน 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายแคลลัสที่ได้ทั้งหมดไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ลดปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตจากเดิมลงครึ่งหนึ่ง นาน 12 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ split plot in RCBD มี 12 Treatment combinations 3 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ชั้น ต่อ Treatment มี 2 ปัจจัย ดังนี้

1. ระดับความเข้มแสง เป็น main plot มี 4 ระดับ คือ

a_1	=	white light	20	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
a_2	=	white light	30	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
a_3	=	white light	50	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
a_4	=	white light	100	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

2. สูตรอาหาร เป็น sub plot มี 3 ระดับ คือ

$$b_1 = \text{MS}+2,4\text{-D } 2.0 \mu\text{M} + \text{BA } 0.5 \mu\text{M} \text{ (มนทรา ไชยตะยากร. 2544)}$$

$$b_2 = \text{MS}+\text{NAA } 2.5 \mu\text{M} + \text{BA } 2.0 \mu\text{M} \text{ (ภักวดี ภักดีงาม. 2545)}$$

$$b_3 = \text{MS}+\text{NAA } 40 \mu\text{M}+\text{TDZ } 0.5 \mu\text{M} \text{ (ผลจากการทดลองที่ 1)}$$

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาการเกิด โชมaticเอมบริโอจินิกส์ของชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม

นำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะของบัวหลวงพันธุ์อุตรดิตถ์มาชักนำการเกิด โชมaticเอมบริโอจินิกส์ในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในระดับต่างๆ และเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน นาน 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายแคลลัสที่ได้ทั้งหมดไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตตามวิธีการที่กล่าวมาข้างต้นแต่ลดปริมาณความเข้มข้นลงจากเดิมครึ่งหนึ่งนาน 12 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ split plot in RCBD มี 12 Treatment combinations 3 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ชั้น มี 2 ปัจจัย ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์อื่นใด
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ระดับความเข้มแสง เป็น main plot มี 4 ระดับ คือ

a_1	=	red light	10	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
a_2	=	red light	20	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
a_3	=	red light	30	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
a_4	=	red light	40	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

2. สูตรอาหาร เป็น sub plot มี 3 ระดับ คือ

b_1 = MS+2,4-D 2.0 μM +BA 0.5 μM (มนทิวรา ไชยตะยากร. 2544)

b_2 = MS+NAA 2.5 μM +BA 2.0 μM (ภักวดี ภักดีงาม. 2545)

b_3 = MS+NAA 40 μM +TDZ 0.5 μM (ผลจากการทดลองที่ 1)

3.3 การบันทึกข้อมูล

บันทึกทุกสัปดาห์ดังนี้

3.3.1 ศึกษาการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์มหาราช

3.3.1.1 เพอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส

3.3.1.2 การเจริญเติบโตแคลลัส โดยการให้คะแนน 5 ระดับดังนี้

คะแนน 1 ชิ้นส่วนตาย (รูปที่ 3.1a)

คะแนน 2 ชิ้นส่วนมีสีเหลืองหรือน้ำตาล แสดงอาการเริ่มตาย (รูปที่ 3.1b)

คะแนน 3 ชิ้นส่วนคงสภาพเดิม หรือมีการเปลี่ยนแปลงขนาดเล็กน้อย

ผิวมันเกาะกันแน่น (รูปที่ 3.1c)

คะแนน 4 ชิ้นส่วนที่มีแคลลัสเกิดขึ้น แคลลัสมีลักษณะเป็นเม็ดละเอียด

เกาะกันแน่นสีเขียวอ่อน (รูปที่ 3.1d)

คะแนน 5 ชิ้นส่วนมีแคลลัสเกิดขึ้น แคลลัสมีลักษณะเป็นเม็ดละเอียดเกาะ

กันแน่นสีเขียวเข้ม (รูปที่ 3.1e,f)

3.3.1.3 การเพิ่มขนาดแคลลัส

3.3.2 ศึกษาการเกิดไซมาติกเอมบริโอจินิกซ์ของบัวหลวงพันธุ์มหาราช

3.3.2.1 เพอร์เซ็นต์การเกิดไซมาติกเอมบริโอ

3.3.2.2 การเจริญเติบโตไซมาติกเอมบริโอ โดยการให้คะแนน 6 ระดับดังนี้

คะแนน 1 แคลลัสเริ่มตาย และตาย (รูปที่ 3.2a)

คะแนน 2 ชิ้นส่วนมีสีเหลืองหรือน้ำตาล แสดงอาการเริ่มตาย (รูปที่ 3.2b)

คะแนน 3 ชิ้นส่วนคงสภาพเดิม สีเขียวหรือมีการเปลี่ยนแปลงขนาด

เล็กน้อยผิวมันเกาะกันแน่น (รูปที่ 3.2c)

คะแนน 4 แคล้วพัฒนาไปเป็น โวมaticเอมบริโอ ระยะ pro-embryo
(รูปที่ 3.2d)

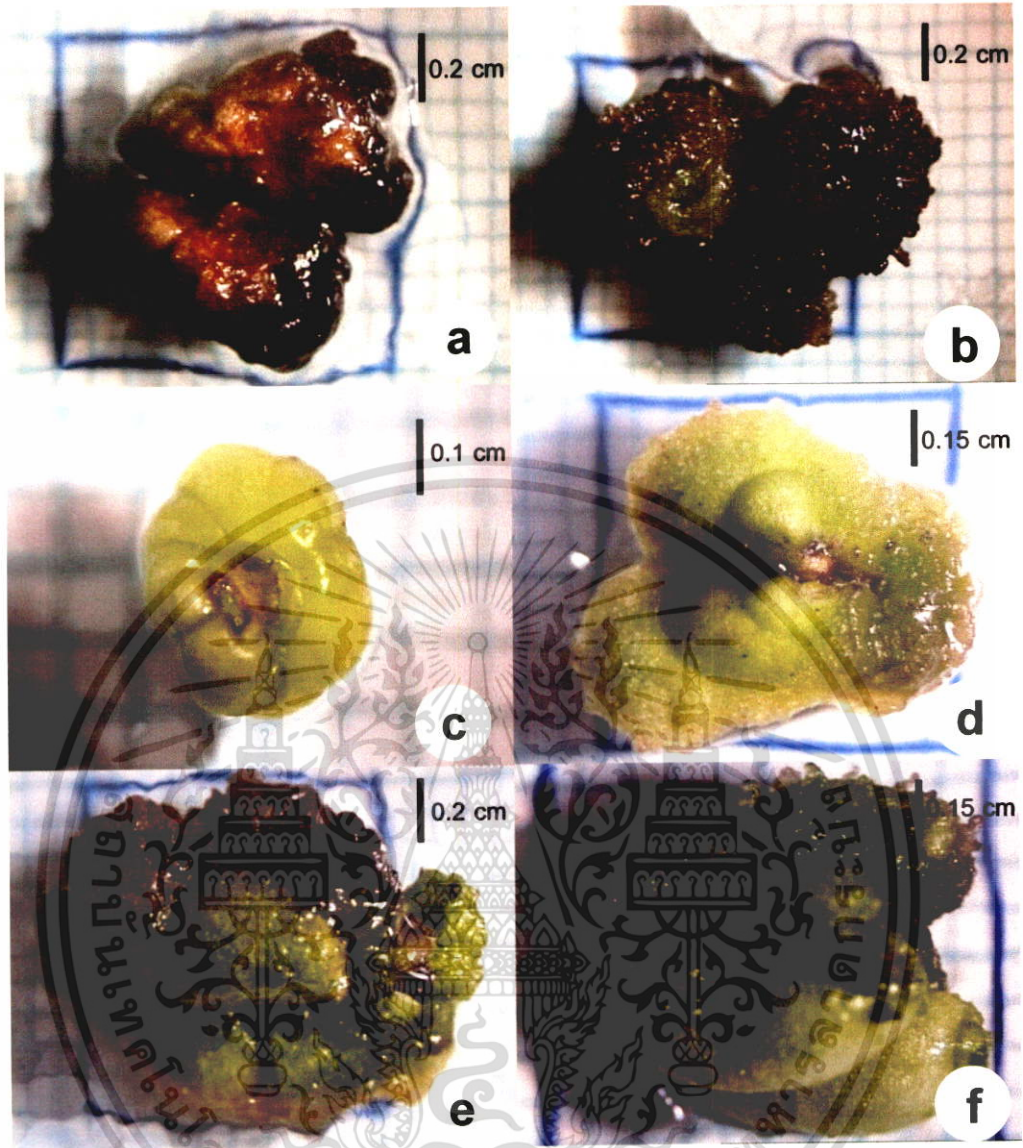
คะแนน 5 แคล้วพัฒนาไปเป็น โวมaticเอมบริโอ ระยะ globular
shape heart shape และ torpedo shape (รูปที่ 3.2e)

คะแนน 6 แคล้วพัฒนาไปเป็น โวมaticเอมบริโอระยะ mature embryo
(รูปที่ 3.2f)

3.3.2.3 จำนวน โวมaticเอมบริโอ

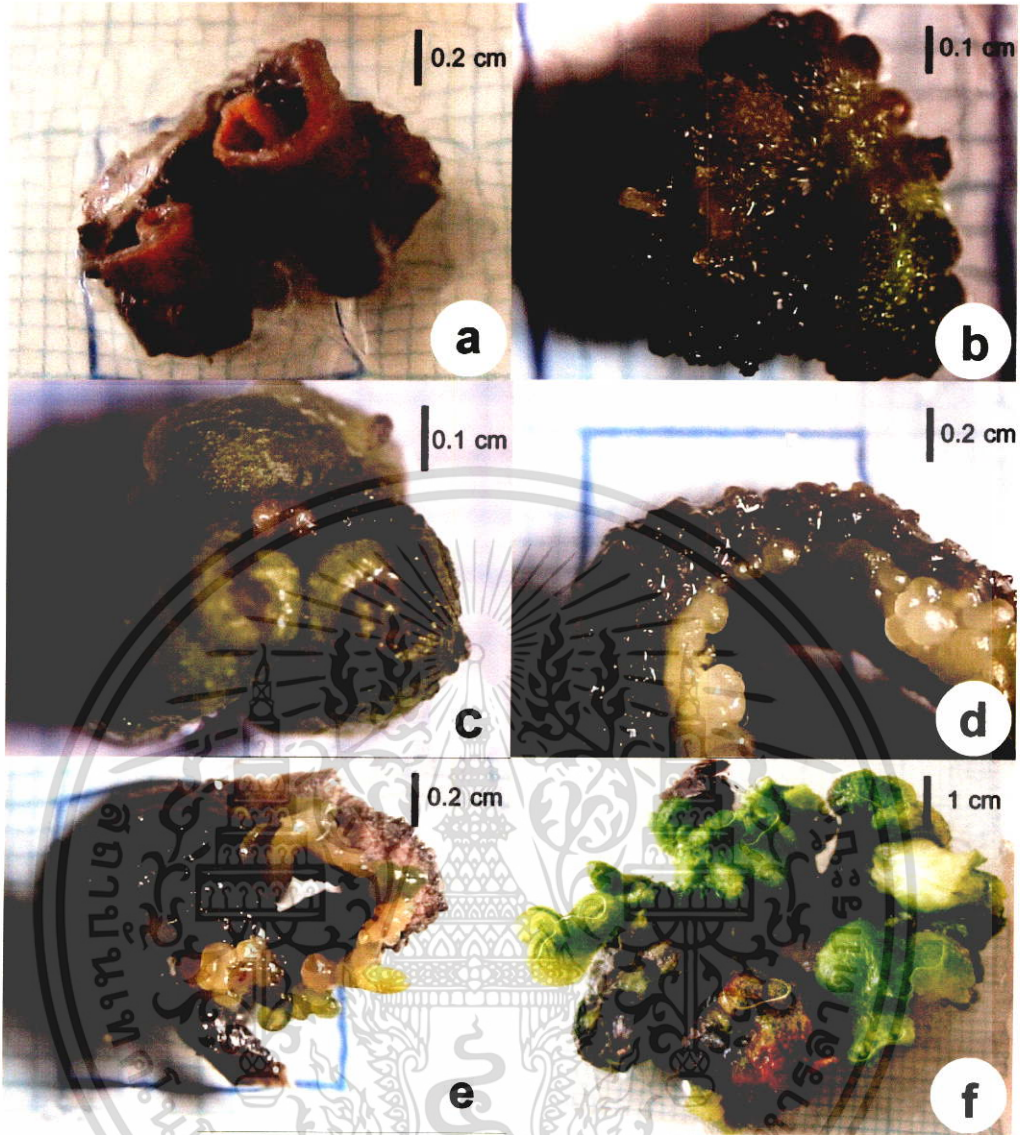


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์มัทริก

- a แสดงการให้คะแนน 1 คะแนน b แสดงการให้คะแนน 2 คะแนน
- c แสดงการให้คะแนน 3 คะแนน d แสดงการให้คะแนน 4 คะแนน
- e, f แสดงการให้คะแนน 5 คะแนน



รูปที่ 3.2 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของเชื้อราบนใบของบัวหลวงพันธุ์มณฑล
 a แสดงการให้คะแนน 1 คะแนน b แสดงการให้คะแนน 2 คะแนน
 c แสดงการให้คะแนน 3 คะแนน d แสดงการให้คะแนน 4 คะแนน
 e แสดงการให้คะแนน 5 คะแนน f แสดงการให้คะแนน 6 คะแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

ศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกโดยนำชิ้นส่วน ก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้แสง cool white fluorescence เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวันนาน 8 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนต่างๆ ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกมีดังนี้

การเจริญเติบโตของแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ (รูปที่ 4.1 a) ตายอดจากคัพภะ(รูปที่ 4.1 c) และ ตาจากไหล (รูปที่ 4.1 e) ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ พบว่าค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติในทุกสัปดาห์ของการทดลอง (ตารางที่ 4.1) โดยแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะมีการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาเป็นแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตายอดจากคัพภะ และตาจากไหล และมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุด ทุกสัปดาห์ของการทดลอง โดยในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 แคลลัสมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงตายอดจากคัพภะ และตาจากไหล (ตารางที่ 4.1) โดยแคลลัสจะเกิดขึ้นที่บริเวณรอยตัดของชิ้นส่วนมีลักษณะเป็นเม็ดละเอียด เกาะกันแน่นแยกกันได้ยาก สีเขียวเข้ม (รูปที่ 4.1 b) ส่วนแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตายอดจากคัพภะมีลักษณะคล้ายกับแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะมีสีเขียวอ่อนเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่นแยกกันได้ยาก (รูปที่ 4.1 d) แคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาจากไหล มีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ มีสีน้ำตาล (รูปที่ 4.1 f)

ตารางที่ 4.1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM

ชิ้นส่วน	คะแนนการเจริญเติบโตแคลลัส (คะแนน) (\pm SE) ^{1/}			
	อายุ(สัปดาห์)			
	2	4	6	8
ก้านใบจากคัพภะ	3.40 \pm 0.11 ^a	4.00 \pm 0.24 ^a	4.42 \pm 0.19 ^a	4.50 \pm 0.02 ^a
ตายอดจาก คัพภะ	2.96 \pm 0.04 ^a	2.76 \pm 0.20 ^a	2.76 \pm 0.14 ^b	3.06 \pm 0.25 ^b
ตาจากไหล	2.28 \pm 0.20 ^b	2.22 \pm 0.17 ^b	2.36 \pm 0.02 ^b	2.52 \pm 0.17 ^b
F-test	**	**	**	**
CV (%)	10.53	16.86	11.05	14.72

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละช่วง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan' New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหลในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ พบว่าทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) โดยชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะ และตายอดจากคัพภะมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากันโดยสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเพาะเลี้ยงตาจากไหลพบว่าทุกสัปดาห์มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสน้อยที่สุด จากการสังเกตพบว่าชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะ และตายอดจากคัพภะสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เร็วและมีปริมาณมากกว่าตาจากไหล

ตารางที่ 4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพพะ ดายอด จากคัพพะและตาจากไหล บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM

ชิ้นส่วน	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส (%) (\pm SE) ^{1/}			
	อายุ(สัปดาห์)			
	2	4	6	8
ก้านใบจากคัพพะ	100.0 \pm 0.00 ^a	100.0 \pm 0.00 ^a	100.0 \pm 0.00 ^a	100.0 \pm 0.00 ^a
ตายอดจาก คัพพะ	100.0 \pm 0.21 ^a	100.0 \pm 0.00 ^a	100.0 \pm 0.00 ^a	100.0 \pm 0.00 ^a
ตาจากไหล	8.00 \pm 1.08 ^b	54.0 \pm 4.00 ^b	54.0 \pm 4.00 ^b	54.0 \pm 4.00 ^b
F-test	**	**	**	**
CV (%)	18.95	6.10	6.10	6.10

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละช่วง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan' New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ขนาดแคลลัสที่เพิ่มขึ้น

จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพพะ ดายอดจากคัพพะและตาจากไหล ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ พบว่า ค่าเฉลี่ยของขนาดแคลลัสที่เพิ่มขึ้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 2 (ตารางที่ 4.3) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 โดยแคลลัสมีขนาดเพิ่มขึ้นมากที่สุดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะ โดยเพิ่มขึ้นมากกว่าการเพาะเลี้ยงตายอดจากคัพพะ และตาจากไหลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในสัปดาห์ที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 4.3) โดยแคลลัสที่ได้มีขนาดเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์ในทุกชิ้นส่วนเริ่มต้น แต่จะมีการเพิ่มขนาดน้อยที่สุดในการเพาะเลี้ยงตาจากไหล

ตารางที่ 4.3 แสดงขนาดของแคลลัสที่เพิ่มขึ้นจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอด จากคัพภะและตาจากไหล บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM

ชิ้นส่วน	ขนาดของแคลลัสที่เพิ่มขึ้น (มิลลิเมตร) (\pm SE) ^{1/}				
	อายุ(สัปดาห์)				
	2	4	6	8	รวม
ก้านใบจากคัพภะ	2.40 \pm 0.03 ^a	0.97 \pm 0.05 ^a	0.82 \pm 0.07	1.28 \pm 0.05 ^a	5.48 \pm 0.07 ^a
ตายอดจาก คัพภะ	1.07 \pm 0.01 ^b	0.65 \pm 0.10 ^{ab}	1.14 \pm 0.01	0.28 \pm 0.01 ^b	3.14 \pm 0.01 ^b
ตาจากไหล	0.61 \pm 0.01 ^b	0.23 \pm 0.01 ^b	0.13 \pm 0.01	0.17 \pm 0.00 ^b	1.14 \pm 0.01 ^b
F-test	**	*	ns	*	*
cv (%)	41.79	57.40	4.69	2.73	3.72

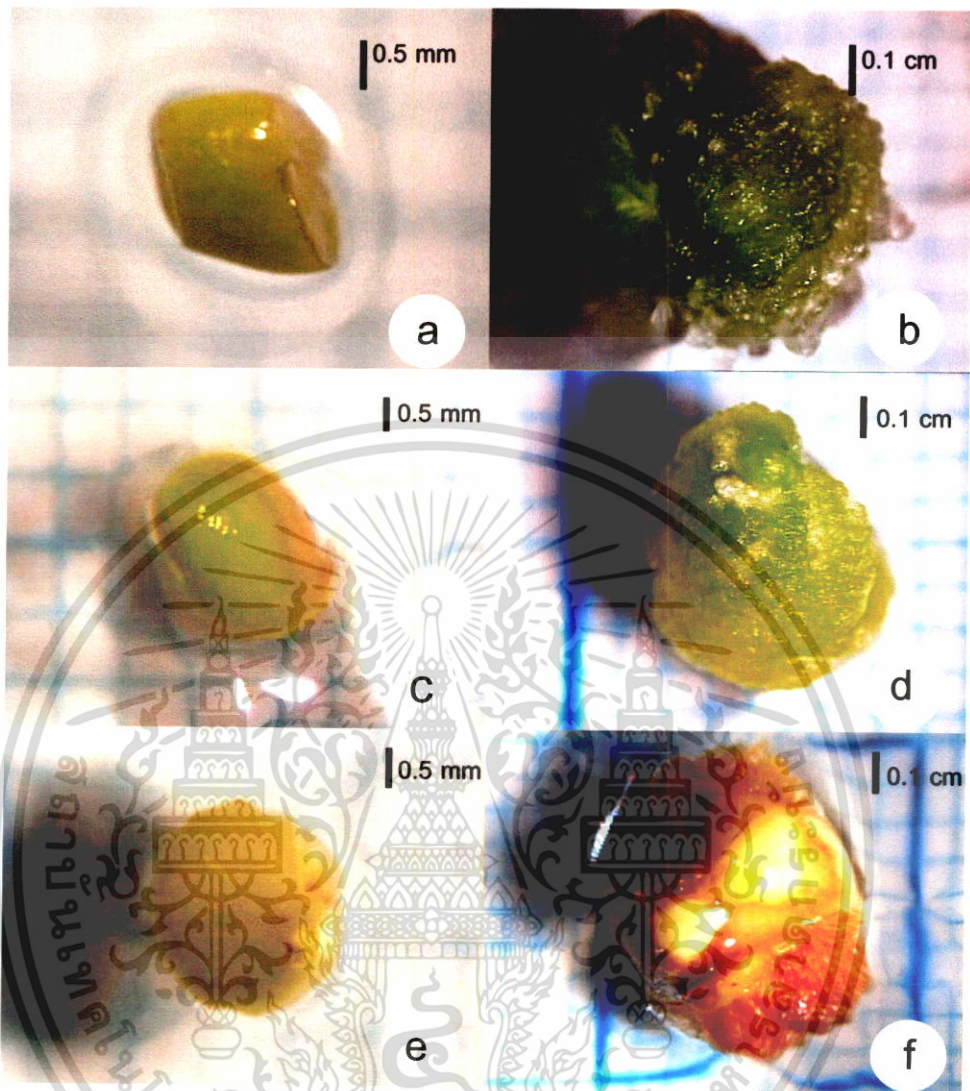
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน ในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบ โดยวิธี

Duncan' New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



รูปที่ 4.1 แสดงการเปรียบเทียบการเกิดแคลลัสในชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะ (a,b) ตายอดจากคัพพะ (c,d) และตายอดจากไหล (e,f) อายุ 3 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาการเกิดโซมาติกเอมบริโอของบัวหลวงพันธุ์บุษกริก

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ TDZ ที่เหมาะสมต่อการเกิดโซมาติกเอมบริโอจากริฐจากชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุษกริก โดยนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุษกริกมาชักนำการเกิดโซมาติกเอมบริโอจากริฐในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในระดับต่างๆ และเพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescence เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน นาน 20 สัปดาห์ พบว่ามีการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอดังนี้

การเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอ

จากการนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เมื่อพิจารณาผลของ NAA พบว่าโซมาติกเอมบริโอมีการเจริญเติบโตดีที่สุด ในอาหารสูตรที่มี NAA 40 ไมโครโมลาร์ โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตมากที่สุดในทุกสัปดาห์ของการทดลอง โดยในสัปดาห์ที่ 13 มีค่าสูงสุด 4.12 คะแนน และในสัปดาห์ที่ 19 มีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตสูงกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 50 และ 60 ไมโครโมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.4) รองลงมาเป็นการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 50 และ 60 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาผลของ TDZ ที่มีต่อค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอ พบว่าในสัปดาห์ที่ 13 และสัปดาห์ที่ 16 ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.4) โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี TDZ 0.50 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอมีค่าสูงที่สุด 4.45 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 13 ของการทดลอง โดยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอจะมีค่าลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 14 ถึงสัปดาห์ที่ 19 โดยในสัปดาห์ที่ 19 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี TDZ 0.50 ไมโครโมลาร์ ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอมีค่าสูงกว่าการเพาะเลี้ยงในระดับความเข้มข้น 1.00 และ 1.50 ไมโครโมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.4)

เมื่อพิจารณาผลของ NAA ร่วมกับ TDZ พบว่าในสัปดาห์ที่ 13 และสัปดาห์ที่ 16 ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.4) โดยค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอมีค่าสูงที่สุด 5.42 คะแนน เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.50 ไมโครโมลาร์ ในสัปดาห์ที่ 19 ของการทดลอง และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ ยกเว้นการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.50 ไมโครโมลาร์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.4) โดยค่าเฉลี่ย

คะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกอิมบริโอที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.50 ไมโครโมลาร์ มีค่ามากที่สุดอย่างต่อเนื่องตั้งแต่สัปดาห์ที่ 13 จนถึงสัปดาห์ที่ 19 ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 16 ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกอิมบริโอมีค่าสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 1.00 ไมโครโมลาร์ จากการสังเกตพบว่าชิ้นส่วนจะสร้างแคลลัสเกิดขึ้นบริเวณรอยตัดแคลลัสที่ได้มีสีเขียวมีลักษณะเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่น จากนั้นในสัปดาห์ที่ 5 จะสังเกตเห็น pro-embryo มีลักษณะเป็นก้อนนูนขรุขระเกิดขึ้นจากแคลลัส โดยจะเกิดขึ้นเฉพาะการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.50 1.00 ไมโครโมลาร์ และ ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 1.50 ไมโครโมลาร์ เท่านั้น ในวิธีการทดลองอื่นแคลลัสจะพัฒนาไปเป็น pro-embryo ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง และทุกวิธีการจะพัฒนาไปเป็น globular shape heart shape torpedo shape ในช่วงสัปดาห์ที่ 7 ถึงสัปดาห์ที่ 12 จนกระทั่งพัฒนาเป็น mature embryo ในสัปดาห์ที่ 13 ของการทดลอง โดย pro-embryo ไม่สามารถพัฒนาเป็น mature embryo ได้ทั้งหมด ในทุกการทดลอง pro-embryo ที่ไม่พัฒนามักเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีขาวซีด และกลายเป็นสีน้ำตาล เมื่อ pro-embryo พัฒนาผ่านระยะ globular shape ไปแล้วก็จะมีการพัฒนาเป็น heart shape torpedo shape และ mature embryo อย่างรวดเร็ว

เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกอิมบริโอ

จากการนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เมื่อพิจารณาผลของ NAA พบว่าทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกอิมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.5) และสามารถชักนำให้เกิดโซมาติกอิมบริโอได้ในทุกการทดลอง โดยโซมาติกอิมบริโอเริ่มเกิดขึ้นในสัปดาห์ที่ 13 ของการทดลอง และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์จนถึงสัปดาห์ที่ 16 โดยมีค่าสูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ รองลงมาเป็นการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี NAA 40 และ 60 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ จากการสังเกตพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกอิมบริโอมีค่าคงที่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 16 ถึงสัปดาห์ที่ 19

เมื่อพิจารณาผลของ TDZ พบว่าทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกอิมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.5) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 คือ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี TDZ ความเข้มข้น 1.50 ไมโครโมลาร์

เมื่อพิจารณาผลของ NAA ร่วมกับ TDZ พบว่าทุกสัปดาห์เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกอิมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.5) โดยมีโซมาติกอิมบริโอเกิดขึ้นในทุกการทดลอง และมีค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 คือ 66.67 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี

NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.50 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 1.50 ไมโครโมลาร์

จำนวนโซมาติกแอมบริโอต่อชิ้นส่วน

จากการนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เมื่อพิจารณาผลของ NAA พบว่าทุกสัปดาห์จำนวนโซมาติกแอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.6) โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ที่ระดับความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ มีจำนวนโซมาติกแอมบริโอต่อชิ้นส่วนมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 19 โดยมีค่าเฉลี่ยสูงสุด 1.50 ส่วนการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 40 และ 60 ไมโครโมลาร์มีจำนวนโซมาติกแอมบริโอเท่ากันคือ 1.25

เมื่อพิจารณาผลของ TDZ พบว่าจำนวนโซมาติกแอมบริโอต่อชิ้นส่วนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.6) และมีค่าสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ในสัปดาห์ที่ 19 รองลงมาเป็น การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร TDZ ความเข้มข้น 1.00 1.50 และ 0.25 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ จากการสังเกตพบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตรที่มี TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ในสัปดาห์ที่ 13 มีจำนวนโซมาติกแอมบริโอ น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ แต่จะมีการเพิ่มจำนวนของโซมาติกแอมบริโออย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 14 ถึงสัปดาห์ที่ 16 ของการทดลอง

เมื่อพิจารณาผลของ NAA ร่วมกับ TDZ พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนโซมาติกแอมบริโอต่อชิ้นส่วนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.6) และมีค่าสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ โดยในสัปดาห์ที่ 16 มีค่า 2.00 และในสัปดาห์ที่ 19 มีค่า 2.33 จากการสังเกตพบว่าจำนวนโซมาติกแอมบริโอเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงสัปดาห์ที่ 14 ถึง 16 และพบว่าชิ้นส่วนมีจำนวนโซมาติกแอมบริโอเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์ ในทุกการทดลอง และมีการเพิ่มจำนวนน้อยลงหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 16 สัปดาห์

ตารางที่ 4.4 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริก บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (μM)	คะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอ(คะแนน) ($\pm\text{SE}$) ^{1/}		
	อายุ (สัปดาห์)		
	13	16	19
NAA 40	4.12 \pm 0.19	3.08 \pm 0.32	4.09 \pm 0.41 ^a
50	3.67 \pm 0.13	2.92 \pm 0.16	2.77 \pm 0.54 ^b
60	3.72 \pm 0.16	2.18 \pm 0.24	2.49 \pm 0.19 ^b
F-test	ns	ns	**
TDZ 0.25	3.88 \pm 0.12	3.31 \pm 0.14	3.15 \pm 0.30 ^{ab}
0.50	4.45 \pm 0.24	3.47 \pm 0.43	3.89 \pm 0.61 ^a
1.00	3.53 \pm 0.21	3.42 \pm 0.10	2.59 \pm 0.21 ^b
1.50	3.48 \pm 0.23	2.73 \pm 0.45	2.84 \pm 0.45 ^b
F-test	ns	ns	*
NAA 40 TDZ 0.25	3.22 \pm 0.33	3.28 \pm 0.44	4.43 \pm 0.36 ^{abc}
0.50	5.17 \pm 0.22	4.33 \pm 0.42	5.42 \pm 0.55 ^a
1.00	4.17 \pm 0.14	4.50 \pm 0.33	3.17 \pm 0.68 ^{bcd}
1.50	3.92 \pm 0.14	3.08 \pm 0.08	3.33 \pm 1.00 ^{bcd}
NAA 50 TDZ 0.25	3.83 \pm 0.22	3.67 \pm 0.60	2.50 \pm 0.36 ^d
0.50	4.25 \pm 0.42	3.83 \pm 0.90	4.58 \pm 1.23 ^{ab}
1.00	2.75 \pm 0.33	2.68 \pm 0.93	1.93 \pm 0.66 ^d
1.50	3.83 \pm 0.44	2.92 \pm 0.96	2.08 \pm 0.58 ^d
NAA 60 TDZ 0.25	4.58 \pm 0.22	3.00 \pm 0.46	2.53 \pm 0.08 ^d
0.50	3.94 \pm 0.46	2.25 \pm 0.55	1.67 \pm 0.83 ^d
1.00	3.67 \pm 0.36	3.08 \pm 0.44	2.67 \pm 0.22 ^{cd}
1.50	2.70 \pm 0.25	2.18 \pm 0.67	3.12 \pm 0.73 ^{bcd}
F-test	ns	ns	*
CV (%)	30.31	44.51	30.83

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

*

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน ในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ การค้า

Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิด โชมaticเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริก บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (μM)	เปอร์เซ็นต์การเกิดโชมaticเอมบริโอ (%) (\pm SE)		
	อายุ (สัปดาห์)		
	13	16	19
NAA 40	30.83 \pm 0.95	45.84 \pm 0.66	45.84 \pm 0.66
50	33.33 \pm 0.22	50.00 \pm 0.44	50.00 \pm 0.44
60	29.17 \pm 0.20	37.50 \pm 0.20	37.50 \pm 0.20
F-test	ns	ns	ns
TDZ 0.25	27.78 \pm 0.59	30.56 \pm 0.26	30.56 \pm 0.26
0.50	36.33 \pm 0.34	46.67 \pm 0.38	46.67 \pm 0.38
1.00	33.33 \pm 0.45	47.22 \pm 0.60	47.22 \pm 0.60
1.50	25.00 \pm 0.82	50.00 \pm 0.39	50.00 \pm 0.39
F-test	ns	ns	ns
NAA 40 TDZ 0.25	16.67 \pm 1.37	25.00 \pm 0.00	25.00 \pm 0.00
0.50	48.33 \pm 1.20	66.67 \pm 1.20	66.67 \pm 1.20
1.00	41.67 \pm 0.68	50.00 \pm 0.00	50.00 \pm 0.00
1.50	16.67 \pm 2.05	41.67 \pm 1.81	41.67 \pm 1.81
NAA 50 TDZ 0.25	33.33 \pm 2.23	41.67 \pm 2.23	41.67 \pm 2.23
0.50	33.33 \pm 0.68	41.67 \pm 1.05	41.67 \pm 1.05
1.00	33.33 \pm 2.05	50.00 \pm 0.68	50.00 \pm 0.68
1.50	33.33 \pm 0.68	66.67 \pm 0.68	66.67 \pm 0.68
NAA 60 TDZ 0.25	33.33 \pm 0.68	25.00 \pm 0.68	25.00 \pm 0.68
0.50	33.33 \pm 0.38	41.67 \pm 0.68	41.67 \pm 0.68
1.00	25.00 \pm 0.00	41.67 \pm 0.00	41.67 \pm 0.00
1.50	25.00 \pm 0.00	41.67 \pm 0.00	41.67 \pm 0.00
F-test	ns	ns	ns
CV (%)	42.81	29.86	29.86

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงจำนวนโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวง พันธุ์บุณฑริก บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (μM)	จำนวนโซมาติคเอมบริโอ/ชิ้นส่วนเริ่มต้น ($\pm\text{SE}$)		
	อายุ (สัปดาห์)		
	13	16	19
NAA 40	0.33 \pm 0.06	1.17 \pm 0.11	1.25 \pm 0.13
50	0.33 \pm 0.06	1.42 \pm 0.03	1.50 \pm 0.03
60	0.17 \pm 0.04	1.00 \pm 0.07	1.25 \pm 0.03
F-test	ns	ns	ns
TDZ 0.25	0.44 \pm 0.05	0.89 \pm 0.07	1.00 \pm 0.06
0.50	0.22 \pm 0.05	1.56 \pm 0.07	1.67 \pm 0.11
1.00	0.33 \pm 0.08	1.33 \pm 0.02	1.44 \pm 0.03
1.50	0.11 \pm 0.05	1.00 \pm 0.12	1.22 \pm 0.10
F-test	ns	ns	ns
NAA 40 TDZ 0.25	0.33 \pm 0.14	0.67 \pm 0.14	0.67 \pm 0.14
0.50	0.33 \pm 0.14	2.00 \pm 0.17	2.33 \pm 0.09
1.00	0.67 \pm 0.14	1.33 \pm 0.11	1.33 \pm 0.11
1.50	0.00 \pm 0.00	0.67 \pm 0.14	0.67 \pm 0.14
NAA 50 TDZ 0.25	0.67 \pm 0.14	1.33 \pm 0.29	1.33 \pm 0.29
0.50	0.00 \pm 0.00	1.33 \pm 0.11	1.33 \pm 0.11
1.00	0.33 \pm 0.14	1.33 \pm 0.29	1.67 \pm 0.20
1.50	0.33 \pm 0.14	1.67 \pm 0.20	1.67 \pm 0.20
NAA 60 TDZ 0.25	0.33 \pm 0.14	0.67 \pm 0.14	1.00 \pm 0.21
0.50	0.33 \pm 0.14	1.33 \pm 0.24	1.33 \pm 0.24
1.00	0.00 \pm 0.00	1.33 \pm 0.11	1.33 \pm 0.11
1.50	0.00 \pm 0.00	0.67 \pm 0.24	1.33 \pm 0.11
F-test	ns	ns	ns
CV(%)	12.26	21.65	18.63

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มแสง และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเกิด โชมาทิคอเมบรีโอจีนีซิสจากชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาการเกิด โชมาทิคอเมบรีโอจีนีซิสของชิ้นส่วนก้านใบจาก คัพภะที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescence ที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ ร่วมกับสาร ควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม โดยนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกมาชัก นำการเกิด โชมาทิคอเมบรีโอจีนีซิสในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในระดับ ต่าง ๆ และเพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescence ที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวันนาน 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายแคลลัสที่ได้ทั้งหมดไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ลดปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตจากเดิมลงครึ่งหนึ่ง นาน 12 สัปดาห์พบว่ามีการ เจริญเติบโตของ โชมาทิคอเมบรีโอต้นนี้

การเจริญเติบโตของโชมาทิคอเมบรีโอ

จากการนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เมื่อพิจารณาผลของ ความเข้มแสง พบว่า ในสัปดาห์ที่ 10 ของการทดลองเมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตมีค่ามากที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติกับการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ (ตารางที่ 4.8) จากการสังเกตพบว่าแคลลัสสามารถพัฒนา ไปเป็น โชมาทิคอเมบรีโอได้ในทุกระดับความเข้มแสง โดยมีคะแนนการเจริญเติบโตสูงในช่วง สัปดาห์ที่ 10 ถึงสัปดาห์ที่ 13 ของการทดลองจากนั้นการเจริญเติบโตจะลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 14 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 โดยในสัปดาห์ที่ 13 โชมาทิคอเมบรีโอมีการพัฒนาดีที่สุด ค่าเฉลี่ยคะแนนการ เจริญเติบโตของโชมาทิคอเมบรีโอมีค่าสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ คือ 3.97 คะแนนแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงในระดับความเข้มแสง $20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (ตารางที่ 4.8)

เมื่อพิจารณาผลของสูตรอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตของโชมาทิคอเมบรีโอพบว่า เมื่อ เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนนาน 4 สัปดาห์แคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็น pro-embryo ได้ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ โดยมีค่าเฉลี่ย คะแนนการเจริญเติบโตมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.7) โดยหลังจากลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่งพบว่าใน สัปดาห์ที่ 10 ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโชมาทิคอเมบรีโอที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ และอาหารสูตร NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ มีค่ามากกว่าการ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.8) และในสัปดาห์ที่ 16 ค่าเฉลี่ยคะแนนการ เจริญเติบโตของโชมาทิคอเมบรีโอที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์

ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ สูงกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ และ อาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.8) จากการสังเกตพบว่าค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอในชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ มีค่าสูงกว่าอาหารสูตรอื่นในทุกสัปดาห์ของการทดลอง

เมื่อพิจารณาผลของระดับความเข้มแสงร่วมกับสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอพบว่า ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกสัปดาห์ของการทดลอง (ตารางที่ 4.8) โดยหลังจากลดปริมาณความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่งโซมาติกเอมบริโอสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเริ่มต้นที่ระดับความเข้มแสง $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ร่วมกับอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ และ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของโซมาติกเอมบริโอสูงที่สุด 5.00 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 10 ของการทดลอง จากการสังเกตพบว่าโซมาติกเอมบริโอมีการพัฒนาดีที่สุดในช่วงสัปดาห์ที่ 10 ถึงสัปดาห์ที่ 13 และจะมีการเจริญเติบโตลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 14 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 ของการทดลอง โดยชิ้นส่วนจะมีการสร้างแคลลัสขึ้นตรงบริเวณรอยตัด มีสีเขียวลักษณะเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่น และสังเกตเห็น pro-embryo มีลักษณะนูนขรุขระสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าบริเวณผิวของแคลลัส ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง และจะมีการพัฒนาเป็น globular shape heart shape และ torpedo shape จนกระทั่งถึงระยะ mature embryo ในสัปดาห์ที่ 10 ของการทดลอง

เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอมบริโอ

จากการนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เมื่อพิจารณาผลของความเข้มแสง หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิด pro-embryo ได้ในทุกระดับความเข้มแสง แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.7) และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดเท่ากันทุกระดับความเข้มแสงเฉลี่ย 2.78 เปอร์เซ็นต์ และจะพัฒนาไปเป็นโซมาติกเอมบริโอในสัปดาห์ที่ 10 โดยเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโซมาติกเอมบริโอจะเพิ่มขึ้นในทุกระดับความเข้มแสง ยกเว้นในระดับความเข้มแสง $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอมบริโอคงที่ในตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 เป็นต้นไป ส่วนในระดับความเข้มแสงอื่นๆ เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอมบริโอมีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 12 จึงคงที่ และการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอมบริโอสูงที่สุดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 ถึงสัปดาห์ที่ 16 ของการทดลองโดยจะมีค่าสูงที่สุด 30.56 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 16 ของการทดลอง (ตารางที่ 4.9)

เมื่อพิจารณาผลของสูตรอาหารที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอมบริโอของชิ้นส่วนพบว่าในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง แคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็น pro-embryo ได้เมื่อเพาะเลี้ยงใน

อาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ เท่านั้น แต่เปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอไม่มีความแตกต่างจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.7) โดยในอาหารสูตรอื่นๆจะเริ่มเกิด pro-embryo หลังจากย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่ง เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ และมีโวมิติคอเอ็มบริโอเกิดขึ้นในสัปดาห์ที่ 10 ของการทดลอง โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.00 ไมโครโมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอสูงที่สุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 4.9) โดยเปอร์เซ็นต์การเกิด โวมิติคอเอ็มบริโอมีค่าเพิ่มขึ้นในทุกสูตรอาหารจนถึงสัปดาห์ที่ 13 ชิ้นส่วนไม่มีการพัฒนาโวมิติคอเอ็มบริโอเพิ่มขึ้น และในสัปดาห์ที่ 13 ถึงสัปดาห์ที่ 16 เปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.9) แต่จากการสังเกตพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอมีค่าสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.00 ไมโครโมลาร์ รองลงมาเป็นอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาผลของความเข้มแสงร่วมกับสูตรอาหารพบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง เปอร์เซ็นต์การเกิด pro-embryo ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.9) โดยหลังจากลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่งเปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอมีค่ามากที่สุด 41.67 เปอร์เซ็นต์ ในชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ในสัปดาห์ที่ 16 ของการทดลอง โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4.9) จากการสังเกตพบว่าการเพาะเลี้ยง ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ที่ระดับความเข้มแสง 30 50 และ $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอคงที่ตลอดการทดลองหลังจากสัปดาห์ที่ 10 เป็นต้นไป และในทุกการทดลอง การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอจะเริ่มคงที่ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลองเนื่องจากไม่มีชิ้นส่วนแคลลัสพัฒนาไปเป็นโวมิติคอเอ็มบริโอเพิ่มขึ้น และจากการสังเกตพบว่าการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง 20 และ $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ และที่ระดับความเข้มแสง $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ แคลลัสไม่สามารถพัฒนาไปเป็นโวมิติคอเอ็มบริโอได้ตลอดการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนโชมaticอมบริโอต่อชิ้นส่วน

จากการนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เมื่อพิจารณาผลของความเข้มแสง พบว่าในสัปดาห์ที่ 4 จำนวน pro-embryo ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.7) โดยสามารถชักนำให้เกิด pro-embryo ได้ทุกระดับความเข้มแสง และมีค่าเฉลี่ยจำนวน pro-embryo สูงที่สุด 0.22 ในการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ หลังจากย้ายชิ้นส่วนที่ได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่ง ค่าเฉลี่ยจำนวนโชมaticอมบริโอต่อชิ้นส่วนมีค่าเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์จนถึงสัปดาห์ที่ 16 ยกเว้นในชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในระดับความเข้มแสง $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนโชมaticอมบริโอต่อชิ้นส่วนคงที่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง โดยค่าเฉลี่ยจำนวนโชมaticอมบริโอต่อชิ้นส่วนมีค่าสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ในทุกสัปดาห์ของการทดลอง โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 16 มีค่าเฉลี่ยจำนวนโชมaticอมบริโอต่อชิ้นส่วนสูงที่สุด 3.67 รองลงมาคือการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง 100 30 และ $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10)

เมื่อพิจารณาผลของสูตรอาหารพบว่า ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์เท่านั้น ที่สามารถชักนำแคลลัสให้พัฒนาไปเป็น pro-embryo ได้ในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 4.7) ส่วนในชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ สามารถชักนำให้เกิด pro-embryo ได้หลังจากย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ลดปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตลงจากเดิมครึ่งหนึ่งนาน 2 สัปดาห์ ค่าเฉลี่ยจำนวนโชมaticอมบริโอต่อชิ้นส่วนของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ มีค่าสูงที่สุดในทุกสัปดาห์ของการทดลอง โดยมีค่ามากที่สุด ในสัปดาห์ที่ 16 คือ 3.33 (ตารางที่ 4.10) รองลงมาคือการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ และอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ จากการสังเกตพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนโชมaticอมบริโอต่อชิ้นส่วนเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์ในทุกการทดลองยกเว้นชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ที่ค่าเฉลี่ยจำนวนโชมaticอมบริโอต่อชิ้นส่วนคงที่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง

เมื่อพิจารณาผลของระดับความเข้มแสงร่วมกับสูตรอาหารพบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนนาน 4 สัปดาห์ ที่ระดับความเข้มแสง $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ค่าเฉลี่ยจำนวน pro-embryo ต่อชิ้นส่วนมีค่ามาก

ที่สุดเมื่อเปรียบเทียบการทดลองอื่นๆ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.7) เมื่อย้ายชิ้นส่วนมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่ง พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนที่ระดับความเข้มข้น $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.00 ไมโครโมลาร์ มีจำนวนโซมาติคเอ็มบริโอต่อชิ้นส่วนสูงที่สุด 5.67 โดยมีค่าคงที่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 10 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 ในขณะที่การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนที่ระดับความเข้มข้น $20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ และการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้น $30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ และสูตรอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ที่เพาะเลี้ยงในระดับความเข้มข้นเดียวกัน ไม่สามารถชักนำให้เกิด โซมาติคเอ็มบริโอได้ตลอดระยะเวลาของการทดลอง (ตารางที่ 4.10) จากการทดลองสังเกตได้ว่าจำนวนโซมาติคเอ็มบริโอมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่สัปดาห์ที่ 10 ถึงสัปดาห์ที่ 12 แต่จากสัปดาห์ที่ 12 เป็นต้นไป จะเพิ่มขึ้นน้อยลงจนถึงสัปดาห์ที่ 16

ตารางที่ 4.7 แสดงการเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวง พันธุ์บุณฑริก ภายใต้แสงสีขาวระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ อายุ 4 สัปดาห์

ความเข้มแสง ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	คะแนนการเจริญเติบโต (คะแนน) ($\pm\text{SE}$)	เปอร์เซ็นต์การเกิด pro-embryo (%) ($\pm\text{SE}$) ^{1/}	จำนวน pro-embryo ต่อชิ้นส่วน($\pm\text{SE}$) ^{1/}	
20	3.00 \pm 0.07	2.78 \pm 2.78	0.11 \pm 0.10	
30	3.00 \pm 0.06	2.78 \pm 2.78	0.13 \pm 0.10	
50	2.94 \pm 0.00	2.78 \pm 2.78	0.22 \pm 0.18	
100	2.89 \pm 0.11	2.78 \pm 2.78	0.11 \pm 0.21	
F-test	ns	ns	ns	
2,4-D 2.0 μM BA 0.5 μM	2.92 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.11 ^b	
NAA 2.5 μM BA 2.0 μM	3.04 \pm 0.03	8.33 \pm 0.00 ^a	0.33 \pm 0.26 ^a	
NAA 40 μM TDZ 5.0 μM	2.91 \pm 0.07	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.30 ^b	
F-test	ns	*	*	
20	2,4-D 2.0 μM BA 0.5 μM	3.00 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 2.5 μM BA 2.0 μM	3.08 \pm 0.08	8.33 \pm 1.37	0.33 \pm 0.27
	NAA 40 μM TDZ 0.5 μM	2.92 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.20
30	2,4-D 2.0 μM BA 0.5 μM	3.00 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 2.5 μM BA 2.0 μM	3.00 \pm 0.08	8.33 \pm 1.37	0.39 \pm 0.35
	NAA 40 μM TDZ 0.5 μM	3.00 \pm 0.30	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
50	2,4-D 2.0 μM BA 0.5 μM	2.92 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.20
	NAA 2.5 μM BA 2.0 μM	3.08 \pm 0.00	8.33 \pm 1.37	0.67 \pm 0.32
	NAA 40 μM TDZ 0.5 μM	2.83 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.51
100	2,4-D 2.0 μM BA 0.5 μM	2.75 \pm 0.17	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.24
	NAA 2.5 μM BA 2.0 μM	3.00 \pm 0.00	8.33 \pm 1.37	0.33 \pm 0.54
	NAA 40 μM TDZ 0.5 μM	2.92 \pm 0.17	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.17
F-test	ns	ns	ns	
CV (%)	3.35	93.88	11.43	

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan' New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของ โขมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุณชาติกริก ภายใต้แสงสีขาวระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ

ความเข้มแสง ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	คะแนนการเจริญเติบโตโขมาติคเอมบริโอ (คะแนน) ^{1/}			
	อายุ (สัปดาห์)			
	10	13	16	
20	2.33±0.51	2.89±0.50 ^b	2.25±0.65	
30	2.00±0.62	3.22±0.10 ^a	2.83±0.18	
50	3.56±0.69	3.89±0.10 ^a	3.08±0.18	
100	3.22±0.69	3.97±0.29 ^a	2.97±0.15	
F-test	ns	**	ns	
2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	1.67±0.30 ^b	3.42±0.37	2.33±0.39 ^b	
NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	3.33±0.49 ^a	4.75±0.29	3.12±0.11 ^a	
NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	3.33±0.73 ^a	3.73±0.19	2.90±0.12 ^b	
F-test	*	ns	*	
20	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	1.33±0.33	2.00±0.25	1.25±0.00
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	3.00±1.00	3.00±0.33	2.67±0.67
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	2.67±0.67	3.67±0.44	2.83±0.60
30	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	1.00±0.00	3.00±0.50	2.50±0.36
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	3.33±1.20	3.33±0.36	2.58±0.36
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	1.67±0.33	3.33±0.55	3.42±0.49
50	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	2.00±1.00	3.50±0.30	2.92±0.49
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	4.67±0.33	4.33±0.25	3.50±0.58
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	4.00±1.00	3.85±0.83	2.83±0.76
100	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	2.33±0.88	3.42±0.33	2.67±0.44
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	2.33±0.88	4.75±0.38	3.75±0.20
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	5.00±0.58	3.73±0.38	2.50±0.58
F-test	ns	ns	ns	
CV (%)	36.66	11.10	16.03	

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละช่วง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan' New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโชมaticคอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริก ภายใต้แสงสีขาวยกระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ

ความเข้มแสง ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)		เปอร์เซ็นต์การเกิดโชมaticคอมบริโอ (%) ($\pm\text{SE}$) ^{1/}		
		อายุ (สัปดาห์)		
		10	13	16
20		5.56 \pm 0.68	11.11 \pm 0.99	11.11 \pm 0.99
30		8.33 \pm 0.60	8.33 \pm 1.14	8.33 \pm 1.14
50		27.78 \pm 0.45	30.56 \pm 1.25	30.56 \pm 1.25
100		19.44 \pm 0.35	25.00 \pm 0.71	25.00 \pm 0.71
F-test		ns	ns	ns
2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM		4.17 \pm 0.39 ^b	6.25 \pm 0.65	6.25 \pm 0.07
NAA 1.25 μM BA 1.00 μM		27.08 \pm 0.75 ^a	29.17 \pm 0.61	29.17 \pm 0.15
NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM		14.58 \pm 1.07 ^{ab}	20.83 \pm 1.19	20.83 \pm 1.01
F-test		*	ns	ns
20	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	16.67 \pm 2.05	25.00 \pm 1.81	25.00 \pm 1.81
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	0.00 \pm 0.00	8.33 \pm 1.37	8.33 \pm 1.37
30	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	25.00 \pm 1.81	25.00 \pm 1.81	25.00 \pm 1.81
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
50	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	8.33 \pm 1.37	8.33 \pm 1.37	8.33 \pm 1.37
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	41.67 \pm 0.68	41.67 \pm 0.68	41.67 \pm 0.68
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	33.33 \pm 2.23	41.67 \pm 2.35	41.67 \pm 2.35
100	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	8.33 \pm 1.37	16.67 \pm 1.37	16.67 \pm 1.37
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	25.00 \pm 2.57	25.00 \pm 2.57	25.00 \pm 2.57
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	25.00 \pm 1.81	33.33 \pm 0.68	33.33 \pm 0.68
F-test		ns	ns	ns
CV (%)		82.47	63.91	63.91

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน ในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan' New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงจำนวน โชมaticคอมบริโอต่อชิ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์อนุชกริก ภายใต้แสงขาวระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ

ความเข้มแสง ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		จำนวนโชมaticคอมบริโอ/ชิ้นส่วนเริ่มต้น ($\pm\text{SE}$) ^{1/}		
		อายุ (สัปดาห์)		
		10	13	14
20		0.22±0.22	0.56±0.29	0.78±0.40
30		1.00±0.22	1.00±0.29	1.00±0.40
50		2.78±1.00	3.56±0.59	3.67±0.58
100		1.89±1.00	2.78±0.67	2.89±0.67
F-test		ns	ns	ns
2,4-D 1.00 μM	BA 0.25 μM	0.25±0.16 ^b	0.50±0.32	0.50±0.32
NAA 1.25 μM	BA 1.00 μM	3.17±1.02 ^a	3.25±1.00	3.33±0.96
NAA 20.0 μM	TDZ 0.25 μM	1.00±0.59 ^b	2.17±1.08	2.42±0.13
F-test		*	ns	ns
20	2,4-D 1.00 μM	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	NAA 1.25 μM	0.67±0.24	1.00±0.33	1.33±0.41
	NAA 20.0 μM	0.00±0.00	0.67±0.24	1.00±0.33
30	2,4-D 1.00 μM	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	NAA 1.25 μM	3.00±0.53	3.00±0.43	3.00±0.43
	NAA 20.0 μM	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
50	2,4-D 1.00 μM	0.33±0.14	0.67±0.24	0.67±0.24
	NAA 1.25 μM	5.67±0.28	5.67±0.40	5.67±0.40
	NAA 20.0 μM	2.33±0.49	4.33±0.63	4.67±0.67
100	2,4-D 1.00 μM	0.67±0.24	1.33±0.29	1.33±0.29
	NAA 1.25 μM	3.33±0.77	3.33±0.67	3.33±0.67
	NAA 20.0 μM	1.67±0.36	3.67±0.21	4.00±0.26
F-test		ns	ns	ns
CV(%)		40.77	41.82	43.75

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละช่วง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan' New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาการเกิดโซมาติกอเอ็มบริโอจີนีซิสของชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม โดยนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุณทรภิก มาชักนำการเกิดโซมาติกอเอ็มบริโอจີนีซิสในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในระดับต่างๆ และเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวันนาน นาน 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายแคลลัสที่ได้ทั้งหมดไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ลดปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตจากเดิมลงครึ่งหนึ่ง นาน 12 สัปดาห์ พบว่ามีการเจริญเติบโตของโซมาติกอเอ็มบริโอดังนี้

การเจริญเติบโตของโซมาติกอเอ็มบริโอ

จากการนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เมื่อพิจารณาผลของความเข้มแสงที่มีต่อการเกิดโซมาติกอเอ็มบริโอ พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์คะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.11) และชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เท่านั้นที่สามารถพัฒนาไปเป็น pro-embryo ได้โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตสูงสุด 2.94 คะแนน เท่ากับการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ส่วนการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสงอื่นๆ ชิ้นส่วนสามารถพัฒนาไปเป็นโซมาติกอเอ็มบริโอได้ในสัปดาห์ที่ 6 และในสัปดาห์ที่ 10 pro-embryo มีการพัฒนาไปเป็นโซมาติกอเอ็มบริโอ โดยในสัปดาห์ที่ 10 และสัปดาห์ที่ 13 ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.12) โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตสูงสุด 5.11 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 10 เมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ กับการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง 10 และ $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ แต่ไม่แตกต่างกันกับการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ และในสัปดาห์ที่ 13 ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตมีค่าสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง 10 และ $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ จากการสังเกตพบว่าโซมาติกอเอ็มบริโอมีการเจริญเติบโตที่ดีในช่วงสัปดาห์ที่ 10 ของการทดลองแต่มีการเจริญเติบโตลดลงหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์ และลดลงเรื่อยๆ จนถึงสัปดาห์ที่ 16

เมื่อพิจารณาผลของสูตรอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตของโซมาติกอเอ็มบริโอ พบว่า ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4 (ตารางที่ 4.11) โดยมีการพัฒนาของ pro-embryo เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ หลังจากลดปริมาณความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่งแล้วทำการเพาะเลี้ยงต่อไปพบว่าในสัปดาห์ที่ 10 ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ

ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ มีคะแนนการเจริญเติบโตมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.12) และในสัปดาห์ที่ 16 พบว่าไซมาติคเอมบริโอมีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์

เมื่อพิจารณาผลของระดับความเข้มข้นร่วมกับอาหารสูตรต่างๆ พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโต ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.11) โดยมีการพัฒนาของ pro-embryo เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนภายใต้ระดับความเข้มข้น $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ ส่วนในการทดลองอื่นๆ สามารถชักนำให้เกิด pro-embryo (รูปที่ 4.2a) ได้หลังจากลดปริมาณความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่งแล้วเพาะเลี้ยงต่อไปนาน 2 สัปดาห์ จากนั้น pro-embryo จะมีการพัฒนาผ่านระยะ globular shape (รูปที่ 4.2b) heart shape (รูปที่ 4.2c) และ torpedo shape (รูปที่ 4.2d) จนกระทั่งถึงระยะ mature embryo (รูปที่ 4.2e,f) ในสัปดาห์ที่ 10 และเมื่อนำไซมาติคเอมบริโอที่ได้มาศึกษาลักษณะภายในพบว่าเซลล์ของแคลลัสมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วจนเกิดเป็นกลุ่มก้อน เซลล์พวกนี้มีไซโตพลาสซึม และออร์แกเนลล์หนาแน่นจึงทำให้ย้อมติดสีเข้มกว่าเซลล์อื่นๆ โดยกลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะเป็นก้อนนูนคือลักษณะภายในของ pro-embryo (รูปที่ 4.3a) กลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะเป็นก้อนกลมคือลักษณะภายในของ globular shape (รูปที่ 4.3b) กลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะเป็นรูปคล้ายหัวใจคือลักษณะภายในของ heart shape (รูปที่ 4.3c) เมื่อพัฒนาถึงระยะ mature embryo เซลล์บางส่วนจะมีการเปลี่ยนสภาพเป็นกลุ่มท่อลำเลียงซึ่งย้อมติดสีแดง (รูปที่ 4.3d) และมี apical meristem นูนออกมาระหว่างใบเลี้ยงทั้งสอง (รูปที่ 4.3e) จากการสังเกตพบว่า pro-embryo ไม่สามารถพัฒนาไปเป็น mature embryo ได้ทั้งหมด โดยไซมาติคเอมบริโอสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้น $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 1.25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ที่เพาะเลี้ยงในระดับความเข้มข้น 10 และ $20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับค่าเฉลี่ยในการทดลองอื่นๆ และมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของไซมาติคเอมบริโอ สูงที่สุด 5.33 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 10 และ 4.00 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 16 ของการทดลอง (ตารางที่ 4.12)

เปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอ

จากการนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เมื่อพิจารณาผลของความเข้มแสง พบว่าในสัปดาห์ที่ 4 เปอร์เซนต์การเกิด pro-embryo ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.11) โดยมี pro-embryo เกิดขึ้นเฉพาะการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ มีเปอร์เซ็นต์การเกิด 2.78 เปอร์เซนต์ ส่วนในระดับความเข้มแสงอื่นๆ pro-embryo จะเกิดขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ และจะพัฒนาเป็นโวมิติคอเอ็มบริโอในสัปดาห์ที่ 10 ของการทดลอง และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงสัปดาห์ที่ 13 หลังจากนั้นเปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอจะคงที่จนถึงสัปดาห์ที่ 16 และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดสูงที่สุด 27.78 เปอร์เซนต์ ในสัปดาห์ที่ 16 ของการทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสงอื่นๆ (ตารางที่ 4.13) โดยในสัปดาห์ที่ 10 เปอร์เซนต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ มีค่าน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ แต่มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 13

เมื่อพิจารณาผลของสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำการเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอพบว่า pro-embryo สามารถชักนำให้เกิดขึ้นได้รวดเร็วที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ โดยจะเกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ (ตารางที่ 4.11) และเมื่อย้ายชิ้นส่วนมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ลดปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่งพบว่าในสัปดาห์ 10 pro-embryo บางส่วนได้มีการพัฒนาไปเป็นโวมิติคอเอ็มบริโอ และเปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอของชิ้นส่วนมีค่าสูงที่สุด 37.5 เปอร์เซนต์ ในสัปดาห์ที่ 16 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ (ตารางที่ 4.13)

เมื่อพิจารณาผลของระดับความเข้มแสงร่วมกับสูตรอาหารที่เหมาะสมพบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ในอาหารสูตรที่ยังไม่ได้ลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.11) โดย pro-embryo สามารถชักนำให้เกิดขึ้นได้เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนที่ระดับความเข้มแสง $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ในอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ เท่านั้นส่วนในการทดลองอื่นสามารถชักนำให้เกิด pro-embryo ได้หลังจากย้ายชิ้นส่วนที่ได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ลดสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่งนาน 2 สัปดาห์ และเปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคอเอ็มบริโอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกสัปดาห์ของการทดลอง (ตารางที่ 4.13) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดสูงที่สุด 50 เปอร์เซนต์ เมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ร่วมกับอาหารสูตร NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครโมลาร์ แต่ในการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้น $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ และ $20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ร่วมกับอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ แคลล์ที่ได้ไม่สามารถพัฒนาไปเป็นโวมิติคเอ็มบริโอได้ตลอดระยะเวลาของการทดลอง (ตารางที่ 4.13) จากการสังเกตพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโวมิติคเอ็มบริโอจะไม่เพิ่มขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์โดยจะมีค่าคงที่จนถึงสัปดาห์ที่ 16 ของการทดลอง

จำนวนโวมิติคเอ็มบริโอต่อชิ้นส่วน

จากการนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพพะมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้น พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้น $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ จะมี pro-embryo เกิดขึ้นก่อนการเพาะเลี้ยงในระดับความเข้มข้นอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ โดยชิ้นส่วนสามารถชักนำให้เกิดโวมิติคเอ็มบริโอได้ทุกระดับความเข้มข้นหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 10 สัปดาห์ และมีจำนวนโวมิติคเอ็มบริโอมากที่สุด 3.00 เมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้น $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ นาน 16 สัปดาห์ รองลงมาเป็นการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้น 30 20 และ $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.14)

เมื่อพิจารณาผลของสูตรอาหารที่มีต่อจำนวน โวมิติคเอ็มบริโอพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ค่าเฉลี่ยจำนวน pro-embryo ต่อชิ้นส่วนมีค่ามากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และหลังจากย้ายชิ้นส่วนมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ลดปริมาณความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่ง พบว่า ในสัปดาห์ที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนสามารถชักนำให้เกิดโวมิติคเอ็มบริโอได้ในทุกสูตรอาหาร โดยมีจำนวนมากที่สุด 3.83 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 4.14) และจากการสังเกตพบว่าจำนวนโวมิติคเอ็มบริโอต่อชิ้นส่วนจะเกิดเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากในระหว่างสัปดาห์ที่ 10 ถึงสัปดาห์ที่ 12 แต่จะเกิดเพิ่มขึ้นน้อยลงในช่วงระหว่างสัปดาห์ที่ 12 ถึงสัปดาห์ที่ 16

เมื่อพิจารณาผลของระดับความเข้มข้นร่วมกับสูตรอาหารที่เหมาะสมพบว่า pro-embryo เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับแสง $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ และหลังจากลดปริมาณความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงครึ่งหนึ่ง แล้วเพาะเลี้ยงต่อไปจนถึงสัปดาห์ที่ 6 pro-embryo จึงเริ่มเกิดขึ้นในการทดลองอื่นๆ ยกเว้นชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ที่ระดับความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
10 20 และ $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ต่อมาในสัปดาห์ที่ 10 pro-embryo ที่ได้พัฒนาไปเป็นโวมิติคเอ็มบริโอโดย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งหากมีการนำไปใช้

เกิดขึ้นมากที่สุด 6.00 เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนที่ระดับความเข้มแสง $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4.14) รองลงมาเป็นการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง $20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ จากการสังเกตพบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ที่ระดับความเข้มแสง 10 และ $20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ แคลลัสไม่สามารถพัฒนาไปเป็น pro-embryo ได้ตลอดระยะเวลาการทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงการเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวง
พันธุ์บุณชกริก ภายใต้แสงสีแดงระดับความเข้มแสงต่างๆบนอาหารสูตร MS
ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ อายุ 4 สัปดาห์

ความเข้มแสง ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	การผสม	เปอร์เซ็นต์การเกิด pro-embryo (%) (\pm SE)	จำนวน pro-embryo ต่อชิ้นส่วน (\pm SE)		
				คะแนนการ (คะแนน) (\pm SE)	
10		2.94 \pm 0.07	2.78 \pm 0.46	0.11 \pm 0.05	
20		2.81 \pm 0.11	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	
30		2.94 \pm 0.06	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	
40		2.89 \pm 0.06	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	
F-test		ns	ns	ns	
2,4-D 2.0 μM	BA 0.5 μM	2.90 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	
NAA 2.5 μM	BA 2.0 μM	3.00 \pm 0.03	8.33 \pm 0.34	0.08 \pm 0.03	
NAA 40 μM	TDZ 5.0 μM	2.79 \pm 0.07	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	
F-test		ns	ns	ns	
10	2,4-D 2.0 μM	BA 0.5 μM	2.83 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 2.5 μM	BA 2.0 μM	3.08 \pm 0.08	8.33 \pm 1.37	0.33 \pm 0.14
	NAA 40 μM	TDZ 0.5 μM	2.92 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
20	2,4-D 2.0 μM	BA 0.5 μM	2.92 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 2.5 μM	BA 2.0 μM	2.92 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 40 μM	TDZ 0.5 μM	2.58 \pm 0.30	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
30	2,4-D 2.0 μM	BA 0.5 μM	3.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 2.5 μM	BA 2.0 μM	3.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 40 μM	TDZ 0.5 μM	2.83 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
40	2,4-D 2.0 μM	BA 0.5 μM	2.83 \pm 0.17	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 2.5 μM	BA 2.0 μM	3.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 40 μM	TDZ 0.5 μM	2.83 \pm 0.17	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
F-test		ns	ns	ns	
CV (%)		61.33	6.82	6.75	

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของโชมaticคอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพเพาะของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก ภายใต้แสงสีแดงระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ

ความเข้มแสง ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	คะแนนการเจริญเติบโตโชมaticคอมบริโอ (คะแนน) ($\pm\text{SE}$) ^{1/}			
	อายุ (สัปดาห์)			
	10	13	16	
10	3.00 \pm 1.02 ^b	2.42 \pm 0.55 ^c	2.58 \pm 0.27	
20	2.44 \pm 0.56 ^b	2.61 \pm 0.64 ^{bc}	2.22 \pm 0.43	
30	4.00 \pm 0.51 ^{ab}	3.53 \pm 0.28 ^{ab}	1.77 \pm 0.48	
40	5.11 \pm 0.22 ^a	4.31 \pm 0.52 ^a	1.99 \pm 0.59	
F-test	**	**	ns	
2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	2.50 \pm 0.84 ^b	2.75 \pm 0.58	1.83 \pm 0.30 ^b	
NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	4.25 \pm 0.48 ^a	3.15 \pm 0.79	2.62 \pm 0.29 ^a	
NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	4.17 \pm 0.52 ^a	3.85 \pm 0.18	2.92 \pm 0.31 ^a	
F-test	**	ns	*	
10	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	1.00 \pm 0.00	1.33 \pm 0.33 ^d	2.50 \pm 0.87
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	4.33 \pm 0.67	2.83 \pm 0.44 ^{bcd}	3.08 \pm 1.23
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	3.67 \pm 0.33	3.08 \pm 0.65 ^{a-d}	2.16 \pm 0.17
20	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	1.33 \pm 0.33	2.33 \pm 0.67 ^{bcd}	1.41 \pm 0.30
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	3.00 \pm 0.58	1.67 \pm 0.33 ^{cd}	1.73 \pm 0.37
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	3.00 \pm 0.58	3.83 \pm 0.44 ^{abc}	2.83 \pm 0.30
30	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	3.00 \pm 1.00	3.33 \pm 0.33 ^{a-d}	1.41 \pm 0.42
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	4.33 \pm 0.33	4.08 \pm 0.65 ^{ab}	3.00 \pm 0.58
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	4.67 \pm 0.67	3.17 \pm 0.73 ^{a-d}	2.67 \pm 0.67
40	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	4.67 \pm 0.33	3.60 \pm 0.00 ^{a-d}	1.98 \pm 0.13
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	5.33 \pm 0.33	4.00 \pm 0.33 ^{ab}	2.67 \pm 0.67
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	5.33 \pm 0.67	5.33 \pm 0.80 ^a	4.00 \pm 0.58
F-test	ns	*	ns	
CV (%)	26.04	17.76	31.18	

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน ในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบ โดยวิธี

Duncan' New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิด โชมาทิกเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากกัทพะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริก ภายใต้แสงสีแดงระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ

ความเข้มแสง ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	เปอร์เซ็นต์การเกิดโชมาทิกเอมบริโอ (%) ($\pm\text{SE}$)			
	อายุ (สัปดาห์)			
	10	13	16	
10	5.56 \pm 0.46	11.11 \pm 0.82	11.11 \pm 0.82	
20	8.33 \pm 0.79	16.67 \pm 1.38	16.67 \pm 1.38	
30	16.67 \pm 0.79	22.22 \pm 0.39	22.22 \pm 0.39	
40	11.11 \pm 0.68	27.78 \pm 1.21	27.78 \pm 1.21	
F-test	ns	ns	ns	
2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	2.08 \pm 0.34	8.33 \pm 0.79	8.33 \pm 0.79	
NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	14.58 \pm 0.65	18.7 \pm 0.43	18.7 \pm 0.43	
NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	14.58 \pm 0.33	37.5 \pm 0.85	37.5 \pm 0.85	
F-test	ns	ns	ns	
10	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	8.33 \pm 1.37	16.67 \pm 1.37	16.67 \pm 1.37
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	8.33 \pm 1.37	16.67 \pm 2.05	16.67 \pm 2.05
20	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	8.33 \pm 1.37	16.67 \pm 1.37	16.67 \pm 1.37
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	16.67 \pm 1.37	33.33 \pm 0.68	33.33 \pm 0.68
30	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	8.33 \pm 1.37	16.67 \pm 1.37	16.67 \pm 1.37
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	25.0 \pm 0.00	25.0 \pm 0.00	25.0 \pm 0.00
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	16.67 \pm 1.37	25.0 \pm 1.81	25.0 \pm 1.81
40	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	0.00 \pm 0.00	16.67 \pm 1.37	16.67 \pm 1.37
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	16.67 \pm 2.05	16.67 \pm 2.05	16.67 \pm 2.05
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	16.67 \pm 2.05	50.0 \pm 1.05	50.0 \pm 1.05
F-test	ns	ns	ns	
CV (%)	74.42	40.98	40.98	

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 แสดงจำนวนไซมาติคคอมบริโอค่อขึ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากกิ่งของของบัวหลวงพันธุ์บุณทริก ภายใต้แสงสีแฉงระดับความเข้มแสงต่างๆ บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ

ความเข้มแสง ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		จำนวนไซมาติคคอมบริโอ/ชิ้นส่วนเริ่มต้น ($\pm\text{SE}$) ^{1/}		
		อายุ (สัปดาห์)		
		10	13	16
10		0.33±0.07	1.44±0.21	1.56±0.02
20		0.78±0.16	1.89±0.13	2.11±0.36
30		2.22±0.22	2.22±0.10	2.33±0.15
40		2.11±0.25	2.78±0.22	3.00±0.39
F-test		ns	ns	ns
2,4-D 1.00 μM	BA 0.25 μM	0.25±0.08	0.58±0.07	0.58±0.14 ^b
NAA 1.25 μM	BA 1.00 μM	1.67±0.21	2.08±0.06	2.33±0.11 ^{ab}
NAA 20.0 μM	TDZ 0.25 μM	1.83±0.14	3.58±0.07	3.83±0.23 ^a
F-test		ns	ns	*
10	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	0.67±0.67	1.33±0.29	1.67±0.30
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	0.33±0.33	3.00±0.72	3.00±0.72
20	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	0.67±0.67	2.00±0.36	2.00±0.36
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	1.67±1.67	3.67±0.41	4.33±0.42
30	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	1.00±1.00	1.67±0.30	1.67±0.30
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	3.33±3.33	3.00±0.24	3.33±0.30
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	2.33±2.33	2.00±0.43	2.00±0.43
40	2,4-D 1.00 μM BA 0.25 μM	0.00±0.00	0.67±0.14	0.67±0.14
	NAA 1.25 μM BA 1.00 μM	3.33±3.33	2.00±0.55	2.33±0.61
	NAA 20.0 μM TDZ 0.25 μM	3.00±3.00	5.67±0.46	6.00±0.39
F-test		ns	ns	ns
CV(%)		38.92	40.09	36.45

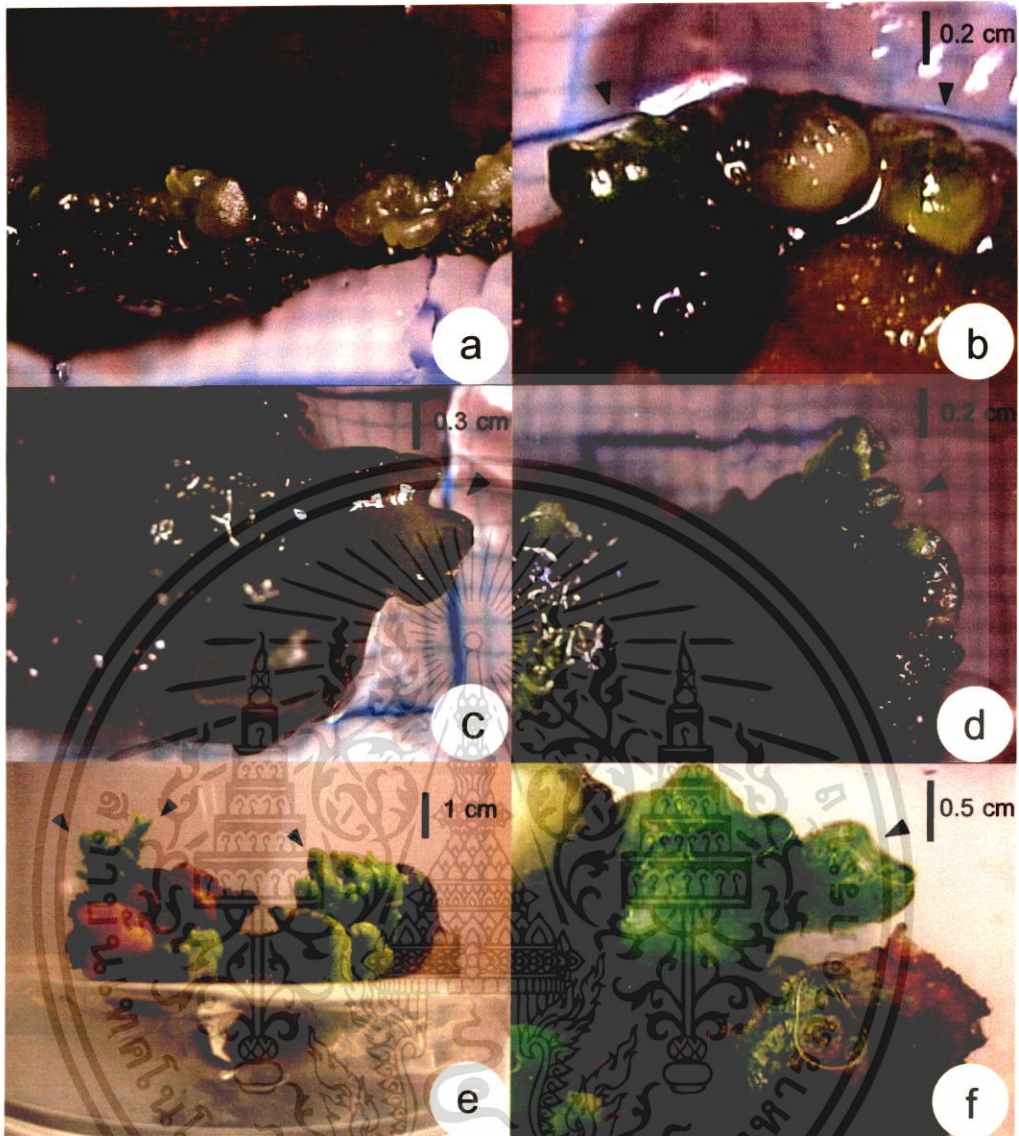
^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละช่วง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบ โดยวิธี

Duncan' New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะภายนอกของไซมาติกเอมบริโอบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงความเข้มแสง $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ในอาหารที่มี NAA 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0.25 ไมโครโมลาร์

- a pro-embryo (สัปดาห์ที่ 6) b globular shape (สัปดาห์ที่ 7)
 c heart shape (สัปดาห์ที่ 8) d torpedo shape (สัปดาห์ที่ 9)
 e, f mature embryo (สัปดาห์ที่ 10, 12)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะภายในของไซมาติคเอ็มบริโอบัวหลวงพันธุ์มทรภัก

- | | |
|---------------|-------------------|
| a pro-embryo | b globular shape |
| c heart shape | d,e mature embryo |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 วิจารณ์ผลการทดลอง

4.3.1 ศึกษาการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก

ผลการศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก โดยนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ พบว่า ชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหลสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ทั้งสามส่วนเนื่องจากเป็นบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญ เซลล์มีการคั่นตัว (active cell) และแบ่งเซลล์สูง จึงสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ (Dixon and Gonzales. 1994) โดยแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบ จากคัพภะมีลักษณะของแคลลัสดีที่สุดใน แคลลัสเกิดขึ้นที่บริเวณพื้นผิวของรอยตัดมีสีเขียวเข้ม ลักษณะ เกาะกันแน่นแยกกันได้ยาก แคลลัสมีขนาดใหญ่กว่าแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนอื่นๆ และมีคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุด และพบว่าชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะ และตายอดจากคัพภะสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองชักนำการเกิดแคลลัสในอุ้งนึ่งที่ พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบ และต้นสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Seung and Seon. 2002) และการชักนำให้เกิดแคลลัสใน *Cyclamen persicum* พบว่าชิ้นส่วนก้านใบสามารถชักนำ ให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าชิ้นส่วนอื่นๆ (Karam and Majathoub. 2000) แคลลัสที่ได้จากตายอดจาก คัพภะมีลักษณะใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะแต่ขนาดของแคลลัสค่อนข้างเล็กมี ปริมาณของแคลลัสน้อย ส่วนแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงส่วนตาจากไหล แคลลัสมีสีน้ำตาล บาง ชิ้นส่วนตายและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มทั้งชิ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชิ้นส่วนตาไหลเป็นส่วนที่อยู่ใน ไหลซึ่งเป็นลำต้นใต้ดิน ที่มีส่วนของ epidermis เล็ก และเนื้อเยื่อส่วนใหญ่เป็น parenchyma (จารีย์ หอยทอง. 2519) ซึ่งมีผนังเซลล์ที่บาง (เทียมใจ คมกฤส. 2542) สารเคมีที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อจึงอาจเข้าไป ทำอันตรายต่อตาจากไหลได้ง่ายกว่าชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะ และตาจากคัพภะ ซึ่งเป็นชิ้นส่วนที่อยู่ ในเมล็ดบัว ซึ่งมีเปลือกห่อหุ้มและภายในมีใบเลี้ยงขนาดใหญ่ (จารีย์ หอยทอง. 2519) ช่วยป้องกัน ชิ้นส่วนจากสารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ

4.3.2 ศึกษาการเกิดโชมaticอิมบริโอของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก

การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ TDZ ที่เหมาะสมต่อ การเกิด โชมaticอิมบริโอจันชีสจากชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก พบว่า ชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะสามารถชักนำให้เกิดโชมaticอิมบริโอได้ในทุกสูตรอาหาร โดยโชมatic อิมบริโอสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.50 ไมโครโมลาร์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโชมaticอิมบริโอสูงที่สุด มี จำนวนโชมaticอิมบริโอที่เกิดขึ้นต่อชิ้นส่วน และมีคะแนนการเจริญเติบโตสูงที่สุด และเมื่อนำ

เอกสารสูตรอาหารที่ได้มาศึกษาการเกิดโชมaticอิมบริโอจันชีสร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรค่า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อื่นๆ ภายใต้ระดับความเข้มแสงที่แตกต่างกัน พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะนาน 4 สัปดาห์ชิ้นส่วนจะสร้างแคลลัสขึ้นที่บริเวณรอยตัดเนื่องจากบริเวณรอยตัดมีการตอบสนองต่อสารต่างๆ ได้ก่อนบริเวณอื่น และมีการแลกเปลี่ยนก๊าซได้ดีกว่าเซลล์ข้างใน (คำณูญ กาญจนภูมิ. 2542) โดยแคลลัสที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวจะมีสีเขียวลักษณะเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่น ส่วนการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงแคลลัสจะมีสีเขียวอ่อน และมีลักษณะฉ่ำน้ำเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่น เนื่องจากแสงสีขาวมีความสามารถในการกระตุ้นสารตัวกลางที่จะเปลี่ยนเป็นรงควัตถุชนิดต่างๆ ให้กลายเป็นคลอโรฟิลล์ทำให้แคลลัสที่เพาะเลี้ยงในที่ที่มีแสงสีขาวสามารถเปลี่ยนเป็นสีเขียว (เชาวน์ และพรณี ชีโนรักษ์. 2539) ซึ่งปริมาณของคลอโรฟิลล์จะขึ้นอยู่กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะแสง (มาลินี ดันดิยากรณ. 2535) โดยโชมaticเอมบริโอสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่ระดับความเข้มแสง $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาการชักนำโชมaticเอมบริโอในบิโกเนียซึ่งพบว่าการเพาะเลี้ยงก้านใบภายใต้แสงสีแดงความเข้มแสง $45 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดโชมaticเอมบริโอ 80 เปอร์เซ็นต์ (Castillo and Smith. 1997) เนื่องจากแสงสีแดงมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนสภาพของไฟโตโครม ซึ่งมีบทบาทต่อการเปลี่ยนสภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อ (ชุมพล คุณวาตี. ม.ป.ป.) โดยช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ (Staba. 1980) ซึ่งจะมีผลต่อการพัฒนาอวัยวะต่างๆ โดยความเข้มแสงที่พอเหมาะช่วยในกระบวนการพัฒนาของเอมบริโออยู่ในช่วง $27-54 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Copeland and McDonald. 1985) และ หลังจากลดปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตจากเดิมลงครึ่งหนึ่งแคลลัสจะพัฒนาไปเป็น pro-embryo ในทุกการทดลอง จากนั้น pro-embryo จะมีการพัฒนาเป็น globular shape จนถึงระยะ mature embryo ในสัปดาห์ที่ 10 ของการทดลอง เพราะการลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตจะชักนำให้เกิดขั้ว (bipolar) ที่จะพัฒนาไปเป็นยอดและราก ซึ่งง่ายต่อการเกิดโชมaticเอมบริโอ (รังสฤษฎ์ กาวีตะ. 2540) โดยโชมaticเอมบริโอสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.25 ไมโครโมลาร์ ซึ่งใกล้เคียงกับการชักนำโชมaticเอมบริโอจีนีซิสของ ivy โดยโชมaticเอมบริโอสามารถชักนำให้เกิดได้ในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.45 ไมโครโมลาร์ และการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกุหลาบพันธุ์ลูกผสมระหว่าง Carl Red และ *R. canina* ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1.3-26.8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0.23 ไมโครโมลาร์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดเอมบริโอจีนิกแคลลัสได้ดีที่สุด (Visessuwan et al. 1997)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก โดยนำชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น $40 \mu\text{M}$ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น $0.5 \mu\text{M}$ ในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้แสง cool white fluorescence 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนก้านใบ จากคัพภะตายอดจากคัพภะและตาจากไหลสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ทั้งสามส่วน โดยแคลลัส มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ แคลลัสจะเกิดขึ้นที่บริเวณพื้นผิว ของรอยตัดมีสีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่นแยกกันได้ยาก โดยแคลลัสจะเกิดขึ้น 100 เปอร์เซ็นต์เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ รองลงมาเป็นแคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนยอดจากคัพภะ ซึ่งมี ลักษณะแคลลัสใกล้เคียงกับแคลลัสที่เกิดในส่วนก้านใบจากคัพภะแต่มีปริมาณแคลลัสน้อยกว่า และ แคลลัสเกิดขึ้น 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์เช่นเดียวกัน ส่วนตาไหลสามารถชักนำ ให้เกิดแคลลัสได้น้อยที่สุดแคลลัสที่ได้มีลักษณะเกาะกันหลวมๆ และเป็นสีน้ำตาล

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ TDZ ที่เหมาะสม ต่อการเกิด โชมaticอิมบริโอจินิกี้สจากชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกพบว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.50 ไมโคร โมลาร์ สามารถชักนำให้เกิด โชมaticอิมบริโอได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนการ เจริญเติบโตมากที่สุด เปอร์เซ็นต์การเกิด โชมaticอิมบริโอสูงที่สุด และมีจำนวน โชมaticอิมบริโอ ที่เกิดขึ้นต่อชิ้นส่วนมากที่สุด และชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะสามารถชักนำให้เกิด โชมaticอิมบริโอ ได้ในทุกสูตรอาหาร

การศึกษาความเข้มแสง และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเกิด โชมatic อิมบริโอจินิกี้สจากชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนก้านใบจากคัพภะนาน 4 สัปดาห์ชิ้นส่วนจะสร้างแคลลัสขึ้นที่บริเวณรอยตัด โดยแคลลัสที่ เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวจะมีสีเขียวลักษณะเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่น ส่วนการเพาะเลี้ยง ภายใต้แสงสีแดงแคลลัสจะมีสีเขียวอ่อน และมีลักษณะฉ่ำน้ำเป็นเม็ดละเอียดเกาะกันแน่นและจะ สังเกตเห็น pro-embryo จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวทุกระดับความเข้มแสง และภายใต้ แสงสีแดงที่ระดับความเข้มแสง $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโคร โมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 ไมโคร โมลาร์ ซึ่งหลังจากลดปริมาณสารควบคุมการ เจริญเติบโตจากเดิมลงครึ่งหนึ่งแคลลัสก็จะพัฒนาไปเป็น pro-embryo ในทุกการทดลองยกเว้นการ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 ไมโคร โมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 ไมโคร โมลาร์ ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวความเข้มแสง 20 ถึง $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ และแสงสีแดงความ

เข้มแสง $10\text{--}20\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ซึ่งไม่สามารถพัฒนาไปเป็นไซมาติกเอมบริโอได้ตลอดการทดลอง โดยไซมาติกเอมบริโอสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงที่ระดับความเข้มแสง $40\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ร่วมกับอาหารสูตร NAA ความเข้มข้น $20\ \mu\text{M}$ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น $0.25\ \mu\text{M}$ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของไซมาติกเอมบริโอ 5.33 คะแนน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดไซมาติกเอมบริโอ 50 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าเฉลี่ยจำนวนไซมาติกเอมบริโอต่อชิ้นส่วน 6.00 ซึ่งจะสังเกตเห็น pro-embryo ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง จากนั้น pro-embryo จะมีการพัฒนาเป็น globular shape heart shape torpedo shape และ mature embryo ในช่วงสัปดาห์ที่ 8 ถึงสัปดาห์ที่ 10 ของการทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- กวินหาญ พลหาญ. 2534. “นาบัวตัดดอก อ.บางกรวย จ.นนทบุรี.”วารสารเคหะเกษตร. 15(11) : 52-60.
- กุลวดี ไชยประสิทธิ์. 2537. “การศึกษาความผันแปรของเซลล์ต้นพืชของถั่วเหลืองพันธุ์ไทย บางพันธุ์ที่ผ่านกระบวนการโฆมาติคเอมบริโอจีเนซิส.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จารีย์ หอยทอง. 2519. “การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวบางชนิดในประเทศไทย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- จิตเกษม เทียงจิตต์. 2545. “การศึกษาผลของชิ้นส่วนเริ่มต้น และสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก.” ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- คำณูญ กาญจนภูมิ. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ชาญศักดิ์ อภัยนิพัฒน์. 2542. เทคนิคการออกแบบระบบแสงสว่าง. กรุงเทพฯ : สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).
- ชุมพล คุณวาสี. ม.ป.ป. เอกสารประกอบการสอนวิชา General Biology. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เชาว์ และพรณี ชีโนรักษ์. 2539. ชีววิทยา 3. กรุงเทพฯ : โสภณการพิมพ์.
- บุญยืน กิจวิจารณ์. 2540. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ขอนแก่น : โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.
- ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ณราวุฒิ ปิยโชติสกุลชัย. 2539. “ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ บัวหลวง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เทียมใจ คมกฤส. 2542. ภายวิภาคของพฤษ. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ภัควดี ภัคดีงาม. 2545. “การศึกษาผลของแสงร่วมกับ α -Naphthalene acetic acid และ Benzyladenine ต่อการเกิดโฆมาติคเอมบริโอจีเนซิสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก.” ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ภูวคณ บุตรรัตน์. 2538. โครงสร้างภายในของพืช. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่พิมพ์และเผยแพร่โดยศูนย์วิจัยและพัฒนาการวิจัย ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- มนทริฯ ไซษตะญากร. 2544. “การชักนำให้เกิดแคลลัส และโซมาติกเอมบริโอเจนีซิสของบัวหลวง พันธุ์สัตตบงกช.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- มาลินี ดันติยาภรณ์. 2535. **พฤกษศาสตร์ทั่วไป**. กรุงเทพฯ : โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- รังสฤษฎ์ กาวีตะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ : หลักการและเทคนิค**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพืชไร่ ภาควิชาเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วัฒนา ถาวร. 2537. **การส่องสว่าง**. กรุงเทพฯ : สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).
- สมปอง เตชะโต. 2537. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ**. สงขลา : ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สายชล เกตุษา. 2531. **เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวดอกไม้**. กรุงเทพฯ : บริษัทสารมวลชน.
- สุชาติ ศรีเพ็ญ. 2542. **พรรณไม้ในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ : อัมรินทร์พรินติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.
- สุเม อรัญนารถ. 2536. **เอกสารประกอบการสอน: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชเพื่อการเกษตร**. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- . 2537. “ปทุมชาติ บัวตัดดอกที่อนาคตยังสดใส.” **ชัยพฤกษ์วิทยาศาสตร์**. 291 : 30-32.
- เสริมลาภ วสุวัต. 2537. **บัว: ไม้ดอกไม้ประดับ**. กรุงเทพฯ : อัมรินทร์พรินติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.
- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. อุตรธานี : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุตรธานี.
- อารีย์ วรรณวุฒิก. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช**. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ อติสรณ์.
- Al-Juboory, H.K. and Williams, J.D. 1990. “*In Vitro* Propagation of Algerian Ivy (*Hedera canariensis* L.)” **Hortscience**. 25(9) : 1123-1124.
- Castillo, B. and Smith, M.A.L. 1997. “Direct Somatic Embryogenesis from *Begonia gracilis* Explant.” **Plant Cell Reports**. 16: 385-388.
- Compton, M.E. and Gray, D.J. 1993. “Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Immature Cotyledons of Watermelon.” **Plant Cell Reports**. 12(2) : 61-65.
- Copeland, L.O., M.B. McDonald. 1985. **Principles of Seed Science and Technology**. Canada : Macmillan Publishing Company.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Das, D.K., M.K. Reddy, K.C. Upadhyaya and S.K. Sopory. 2002. "An Efficient Leaf-Disc Culture Method for The Regeneration Via Somatic Embryogenesis and Transformation of Grape (*Vitis vinifera* L.)." **Plant Cell Reports**. 20 : 999-1005.
- Dipali, G. 2001. "Thidiazuron Induced Regeneration in *Cuminum cyminum* L." **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**. 10(1) : 61-62.
- Dixon, R.A. and Gonzales, R.A. 1994. **Plant Cell Culture : A Practical Approach**. New York : IRL Press.
- Dodds, M.S. and Roberts, W.R. 1995. **Experiments in Plant Tissue Culture**. New York : Cambridge University Press.
- Gill, R. and Saxena, P.K. 1993. "Somatic Embryogenesis in *Nicotiana Tabacum* L. : Induction by Thidiazuron of Direct Embryo Differentiation from Cultured Leaf Discs." **Plant Cell Reports**. 12 : 154-159.
- Karam, N.S. and Majathoub, M.A. 2000. "*In Vitro* Shoot Regeneration from Mature Tissue of Wild *Cyclamen persicum* Mill." Faculty of Agriculture Jordan University of Science and Technology.
- Kintzios, S., A. Nikolaou, M. Skoula. 1999. "Somatic Embryogenesis and *In Vitro* Rosmarinic Acid Accumulation in *Sulvia officinalis* and *S. fruticosa* Leaf Callus Cultures." **Plant Cell Reports**. 18 : 462-466.
- Kuo, Y.J. and Smith, M.A. 1993. "Plant Regeneration St. Augustinegrass Immature Embryo Drived Callus." **Crop Sci**. 33 : 1394-1396.
- Lakshmanan, P.1994. "*In Vitro* Establishment and Multiplication of *Nymphaea* Hybrid 'James Brydon'." **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 36 : 145-148.
- Lo, S.1996. "*In Vitro* Plant Regeneration From Cultured Leaves of Sweet Potato." **Journal of Agricultural Research of China**. 45(3) : 241-249.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. "A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue Culture." **Physio.Plant**. 15 : 473-497.
- Murthy, B.N.S. 1996. "Induction of High-Frequency Somatic Embryogenesis in Geranium (*Pelargonium x hortorum* Bailey cv. Ringo Rose) Cotyledonary Cultures." **Plant Cell reports**. 15(6) : 423 - 426.
- Murthy, B.N.S. and Saxena, P.K. 1998. "Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration of Neem (*Azadirachta indica* A. Jass)." **Plant Cell Report**. 17(6-7) : 469 - 475.

- Neuman, C.M. 1993. "Somatic Embryogenesis and Callus Production From Cotyledon Explants of Eastern Black Walnut." **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** 32:9-18.
- Onofrio, C.D., S. Morini and G. Bellocchi. 1998. "Effect of Light Quality on Somatic Embryogenesis of Quince Leaves." **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** 53:91-98.
- Page, M.Y. and Visser, H.J. 1989. "*In Vitro* Propagation of Geraldton Wax : Initiation, Proliferation, and Rooting." **Hortscience.** 24(2) : 381-382.
- Pollard, J.W. and Walker, J.M. 1990. **Plant Cell and Tissue Culture.** New Jersey : Humana Press.
- Preece, J.E. 1987. "The Influence of Thidiazuron on *In Vitro* Culture of Woody Plants." **Hortscience.** 22 : 1071.
- Redenbaugh, K. 1987. "Encapsulation of Somatic Embryo in Synthetic Seeds." **HortScience.** 22 : 803-809.
- Robichon, M.P., J.P. Renou and R. Jalouzot. 1997. "Plant Regeneration of Ivy Leaved Geranium through Shoot Organogenesis." **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** 49(3) : 209-212.
- Rojas, R.V.D. and Kitto, S.L. 1991. "Regeneration of Babaco (*Carica pentagona*) from Ovular Callus." **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 116(4) : 747-752.
- Seung, H.K. and Seon K.K. 2002. "Effects of Auxins and Cytokinins on Callus Induction from Leaf Blade, Petiole, and Stem Segments of *In Vitro*-grown 'Sheridan' Grape Shoots." **Plant Biotechnology.** 4(1) : 17-21.
- Staba, E.J. 1980. **Plant Tissue Culture ASA Source of Biochemicals.** Florida : CRC Press, Inc.
- Steward, F.C., M. Mapes, and K. Mear. 1958. "Growth and Organized Development of Culture Cell II." **Am.J.Bot.** 45 : 705-708.
- Street, H.E. 1977. **Plant Cell and Tissue Culture : Principle and Application.** Columbus : Ohio State University Press.
- Sunnichan, V.G. 1998. "Micropropagation of Gum Karaya (*Sterculia urens*) by Adventitious Shoot Formation and Somatic Embryogenesis." **Plant Cell Reports.** 17(12) : 951-956.
- Torne, J.M. 1997. "Embryogenesis Induction in Petals of *Araujia sericifera*." **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** 51 : 95-102.
- Torne, J.M., M. Luisa, C. Inmaculada and S. Esther. 1996. "Photocontrol of Somatic Embryogenesis and Polyamine Content in *Araujia sericifera* Petals." **Physiologia Plantarum.** 98 : 413-418.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Visessuwan, R., T. Kawai and M. Mii. 1997. "Plant Regeneration Systems from Leaf Segment Culture through Embryogenic Callus Formation of *Rosa hybrida* and *R. canina*." **Breeding Science**. 47 : 217-222.
- Visser, C., J.A. Qureshi, R. Gill and P.K. Saxena. 1992. "Morphoregulatory Role of Thidiazuron Substitution of Auxin and Cytokinin Requirement for the Induction of Somatic Embryogenesis in *Geranium Hypocotyl* Cultures." **Plant Physiol**. 99 : 1704-1707.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ ก.1 สูตรอาหาร Murashige and skoog (1962)

สารเคมี	ปริมาณ (มิลลิกรัม/ลิตร)
$(\text{NH}_4)\text{NO}_3$	1,650
KNO_3	1,900
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
MgSO_4	370
KH_2PO_4	170
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8
Na_2EDTA	37.3
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	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
pH	5.5-5.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การทำสไลด์ถาวร (Permanent slide)

1. สารเคมี

- 1.1 Absolute ethyl alcohol
- 1.2 Acetic acid
- 1.3 Paraffin oil
- 1.4 Tert-Buthyl Alcohol
- 1.5 Xylene
- 1.6 Canada balsam
- 1.7 Paraplast
- 1.8 Formaldehyde
- 1.9 Glacial acetic acid
- 1.10 Ethyl alcohol 95%
- 1.11 Fast green
- 1.12 Safranin

2. อุปกรณ์

- 2.1 มีดผ่าตัด เข็มเย็บ พู่กัน คีมคีบ
- 2.2 กระจกตวง บีกเกอร์ จานแก้ว หลอดหยด
- 2.3 ขวดแช่ชิ้นส่วน
- 2.4 เครื่องตัดเนื้อเยื่อ (microtome) (รูปที่ ข.1)
- 2.5 เครื่องสุญญากาศ (vacuum) (รูปที่ ข.2)
- 2.6 slide drying bench (รูปที่ ข.3)
- 2.7 สไลด์ (slide) และกระจกปิดสไลด์ (cover glass)
- 2.8 ตู้อบ (hot air oven)
- 2.9 staining jar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วิธีการ

3.1 ตัดชิ้นส่วนให้มีขนาดประมาณ 5 มิลลิเมตร

3.2 killing and fixing โดยการใช้น้ำยา FAA (formalin acetic acid alcohol) โดยมีวิธีการเตรียม FAA ดังนี้

3.2.1 ethyl alcohol 50 เปอร์เซ็นต์ 90 มิลลิลิตร

3.2.2 glacial acetic acid 5 มิลลิลิตร

3.2.3 formalin 4 เปอร์เซ็นต์ 5 มิลลิลิตร

3.3 dehydration และ embedding มีขั้นตอนดังนี้

3.3.1 แต่งตัวอย่าง (trim) ที่ผ่านการแช่ FAA แล้วให้มีขนาดพอเหมาะ เพื่อสะดวกในการฝัง (embed) พาราพลาสต์ และนำไปตัด (section)

3.3.2 นำตัวอย่างไปผ่านขั้นตอนคั่งน้ำออกจากเซลล์ (dehydration) ซึ่งมีขั้นตอนต่อไปนี้

ตารางที่ ข.1 แสดงขั้นตอนการคั่งน้ำออกจากเซลล์พืช

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (ชั่วโมง)
1	Tertiary butyl alcohol 50 %	12
2	Tertiary butyl alcohol 70 %	12
3	Tertiary butyl alcohol 85 %	12
4	Tertiary butyl alcohol 95 %	12
5	Tertiary butyl alcohol 100 %	12
6	pure Tertiary butyl alcohol	12
7	pure Tertiary butyl alcohol	12
8	pure Tertiary butyl alcohol	12
9	pure TBA + paraffin oil อัตราส่วน 1: 1 (60°C)	12
10	paraplast (60°C)	12
11	paraplast (60°C)	12
12	paraplast (60°C)	12
13	paraplast (60°C)	12

3.3.3 นำตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนในข้อ 2 ไปฝังพาราพลาสต์ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปตัด

3.3.4 แต่งตัวอย่างที่อยู่ในบล็อกให้มีขนาดพอดีกับขนาดสไลด์ และกระจกปิดสไลด์ปิดได้สนิท จากนั้นนำไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อไมโครทอม (microtome) ให้มีความหนาประมาณ 3-4

ไมโครเมตรนำไปลอยในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
3.3.5 ใช้แผ่นสไลด์ซ้อนตัวอย่างแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 คืน
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งหากมีการนำไปใช้

3.4 การย้อมสีสไลด์ (staining) โดยใช้ fast green และ safranin ในการย้อม และมีวิธีการเตรียมดังนี้

3.4.1 fast green ใช้ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ละลายด้วย ethyl alcohol 95 เปอร์เซ็นต์

3.4.2 safranin ใช้ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ ละลายด้วย ethyl alcohol 95 เปอร์เซ็นต์

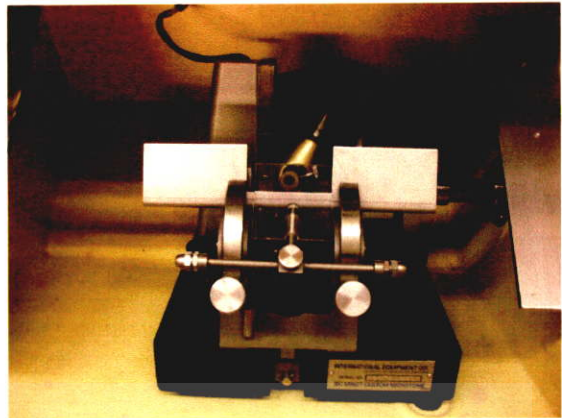
ทำการย้อมสีโดยนำสไลด์ไปผ่านขั้นตอนดังนี้

ตารางที่ ข.2 แสดงขั้นตอนการย้อมสีสไลด์

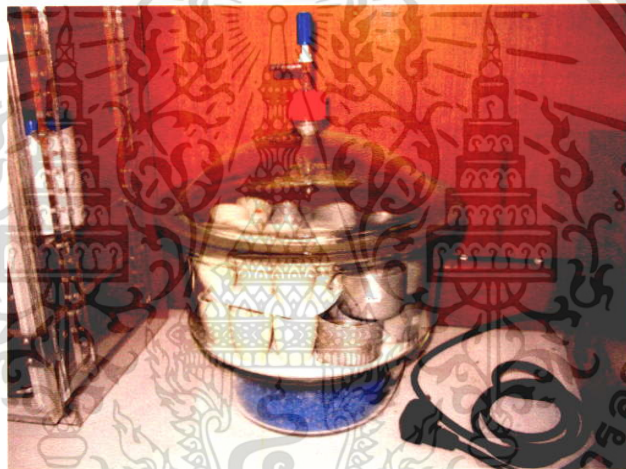
ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (นาที)
1	ไซลีน	2
2	ไซลีน	2
3	ไซลีน	2
4	ไอโซโพลฟิต แอลกอฮอล์	1
5	ไอโซโพลฟิต แอลกอฮอล์	1
6	แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	1
7	แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	1
8	แอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์	1
9	น้ำกลั่น	1
10	safranin	1-2
11	fast green	1-2
12	แอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์	2
13	แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	2
14	แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	2
15	ไอโซโพลฟิต แอลกอฮอล์	2
16	ไซลีน	2
17	ไซลีน	2
18	ไซลีน	2

3.5 ปิดสไลด์ (mount slide) ด้วยน้ำยาเปอร์เมาท์ (permount) แล้วนำตัวอย่างไปศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.1 เครื่องตัดเนื้อเยื่อ (microtome)



รูปที่ ข.2 เครื่องสุญญากาศ (vacuum)



รูปที่ ข. 3 slide drying bench

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตารางที่ ค.1 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ คายอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มณฑลฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหาร สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่อ อายุ 2 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	8.835	2.209	1.15 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	206.266	103.133	53.57 ^{**}	4.46	8.64
ERROR	8	15.40	1.925			
TOTAL	14	230.50	16.465			

Grand mean = 7.32 CV = 18.95%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.2 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ คายอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มณฑลฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	106.667	26.667	1.00 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	7053.33	3526.667	132.25 ^{**}	4.46	8.64
ERROR	8	213.333	26.667			
TOTAL	14	7373.333	526.667			

Grand mean = 84.67 CV = 6.10%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.3 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหาร สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 6 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	106.667	26.667	1.00 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	7053.33	3526.667	132.25 ^{**}	4.46	8.64
ERROR	8	213.333	26.667			
TOTAL	14	7373.333	526.667			

Grand mean = 84.67 CV = 6.10%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.4 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหาร สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	106.667	26.667	1.00 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	7053.33	3526.667	132.25 ^{**}	4.46	8.64
ERROR	8	213.333	26.667			
TOTAL	14	7373.333	526.667			

Grand mean = 84.67 CV = 6.10%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.5 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหลของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหาร สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 2 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	0.304	0.076	0.83 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	3.184	1.592	17.30 ^{**}	4.46	8.64
ERROR	8	0.736	0.092			
TOTAL	14	4.224	0.302			

Grand mean = 2.88 CV = 10.53%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.6 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล ของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหาร สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	0.483	0.121	0.47 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	8.329	4.165	16.35 ^{**}	4.46	8.64
ERROR	8	2.037	0.255			
TOTAL	14	10.849	0.775			

Grand mean = 2.99 CV = 16.86%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.7 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล ของบัวหลวงพันธุ์มณฑลพิริที่เพาะเลี้ยงในอาหาร สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 6 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	0.444	0.111	0.90 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	11.932	5.966	48.31 ^{**}	4.46	8.64
ERROR	8	0.988	0.124			
TOTAL	14	13.364	0.955			

Grand mean = 3.18 CV = 11.05%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.8 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล ของบัวหลวงพันธุ์มณฑลพิริที่เพาะเลี้ยงในอาหาร สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	0.983	0.246	1.00 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	10.476	5.238	21.41 ^{**}	4.46	8.64
ERROR	8	1.957	0.245			
TOTAL	14	13.416	0.958			

Grand mean = 3.36 CV = 14.72%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.9 วิเคราะห์ผลขนาดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล ของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 2 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	0.009	0.002	0.73 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	0.081	0.041	12.89 ^{**}	4.46	8.64
ERROR	8	0.025	0.003			
TOTAL	14	0.116	0.008			

Grand mean = 0.13 CV = 41.79%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.10 วิเคราะห์ผลขนาดของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอดจากคัพภะและตาจากไหล ของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	0.003	0.0008	0.64 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	0.014	0.0069	5.52 [*]	4.46	8.64
ERROR	8	0.010	0.0012			
TOTAL	14	0.027	0.0019			

Grand mean = 6.15 CV = 57.40%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.11 วิเคราะห์ผลขนาดของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ดายอดจากคัพภะและตาจากไหล ของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	0.0283	0.0071	3.01 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	0.0055	0.0027	1.17 ^{ns}	4.46	8.64
ERROR	8	0.0188	0.0023			
TOTAL	14	0.0526	0.0038			

Grand mean = 1.03 CV = 4.69%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.12 วิเคราะห์ผลขนาดของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ดายอดจากคัพภะและตาจากไหล ของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	0.0033	0.0008	1.05 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	0.0084	0.0042	5.32 [*]	4.46	8.64
ERROR	8	0.0063	0.0008			
TOTAL	14	0.0180	0.0013			

Grand mean = 1.03 CV = 2.73%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.13 วิเคราะห์ผลรวมขนาดของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะ ตายอด จากคัพภะและตาจากไหล ของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 40 μM ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 μM ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	4	0.0033	0.0008	1.51 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	0.0084	0.0042	4.65 [*]	4.46	8.64
ERROR	8	0.0063	0.0008			
TOTAL	14	0.0180	0.0013			

Grand mean = 1.03 CV = 3.71%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.14 วิเคราะห์ผลเปอร์เซ็นต์การเกิดโชมaticเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	11	37.0156	3.3651	0.66 ^{ns}	2.30	3.26
NAA	2	6.3404	2.1135	0.41 ^{ns}	3.05	4.82
TDZ	3	13.7304	6.8652	1.34 ^{ns}	3.44	5.72
NAA x TDZ	6	16.9448	2.8241	0.55 ^{ns}	2.55	3.76
ERROR	22	112.5534	5.1161			
TOTAL	35	150.9279	4.3122			

Grand mean = 5.28 CV = 42.81%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.15 วิเคราะห์ผลเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	11	26.3889	2.3990	0.80 ^{ns}	2.30	3.26
NAA	2	6.2472	2.0824	0.70 ^{ns}	3.05	4.82
TDZ	3	4.2478	2.1239	0.71 ^{ns}	3.44	5.72
NAA x TDZ	6	15.8939	2.6490	0.89 ^{ns}	2.55	3.76
ERROR	22	65.6191	2.9827			
TOTAL	35	102.1985	2.9200			

Grand mean = 5.78 CV = 29.87%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.16 วิเคราะห์ผลเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 19 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	11	26.3889	2.3990	0.80 ^{ns}	2.30	3.26
NAA	2	6.2472	2.0824	0.70 ^{ns}	3.05	4.82
TDZ	3	4.2478	2.1239	0.71 ^{ns}	3.44	5.72
NAA x TDZ	6	15.8939	2.6490	0.89 ^{ns}	2.55	3.76
ERROR	22	65.6191	2.9827			
TOTAL	35	102.1985	2.9200			

Grand mean = 5.78 CV = 29.87%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.17 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	11	0.3175	0.0289	13.00 ^{**}	2.30	3.26
NAA	2	0.0374	0.0187	1.55 ^{ns}	3.05	4.82
TDZ	3	0.0934	0.0311	1.00 ^{ns}	3.44	5.72
NAA x TDZ	6	0.1868	0.0311	1.67 ^{ns}	2.55	3.76
ERROR	22	0.4109	0.0187			
TOTAL	35	1.2141	0.0347			

Grand mean = 1.11 CV = 12.27%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.18 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	11	0.7367	0.0670	0.68 ^{ns}	2.30	3.26
NAA	2	0.1108	0.0554	0.56 ^{ns}	3.44	5.72
TDZ	3	0.3200	0.1067	1.09 ^{ns}	3.05	4.82
NAA x TDZ	6	0.3059	0.0510	0.52 ^{ns}	2.55	3.76
ERROR	22	2.1588	0.0981			
TOTAL	35	3.4056	0.0973			

Grand mean = 3.23 CV = 44.51%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.19 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 19 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	11	0.7334	0.0667	0.86 ^{ns}	2.30	3.26
NAA	2	0.0476	0.0238	0.31 ^{ns}	3.44	5.72
TDZ	3	0.2766	0.0922	1.18 ^{ns}	3.05	4.82
NAA x TDZ	6	0.4092	0.0682	0.87 ^{ns}	2.55	3.76
ERROR	22	1.7148	0.0779			
TOTAL	35	2.8718	0.0821			

Grand mean = 1.50 CV = 18.63%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.20 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 13 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	11	16.5179	1.5016	1.11 ^{ns}	2.30	3.26
NAA	2	1.4473	0.7237	0.54 ^{ns}	3.05	4.82
TDZ	3	5.4208	1.8069	1.34 ^{ns}	3.44	5.72
NAA x TDZ	6	9.6498	1.6083	1.19 ^{ns}	2.55	3.76
ERROR	22	29.7423	1.3519			
TOTAL	35	53.5043	1.5387			

Grand mean = 3.84 CV = 30.31%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.21 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติกเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลทริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	11	17.8073	1.6188	0.78 ^{ns}	2.30	3.26
NAA	2	8.2317	4.1159	1.99 ^{ns}	3.44	5.72
TDZ	3	3.1942	1.0647	0.51 ^{ns}	3.05	4.82
NAA x TDZ	6	6.3814	1.0636	0.51 ^{ns}	2.55	3.76
ERROR	22	45.5829	2.0720			
TOTAL	35	70.1549	2.0044			

Grand mean = 3.23 CV = 44.51%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.22 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติกเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลทริกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ เมื่ออายุ 19 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	11	44.1766	4.0161	4.34 ^{**}	2.30	3.26
NAA	2	17.3609	8.6805	9.39 ^{**}	3.44	5.72
TDZ	3	8.5528	2.8509	3.08 [*]	3.05	4.82
NAA x TDZ	6	18.2629	3.0438	3.29 [*]	2.55	3.76
ERROR	22	20.3385	0.9245			
TOTAL	35	65.4976	1.8714			

Grand mean = 3.12 CV = 30.83%

^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ค.23 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลศรีที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.9334	0.4667	0.20 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	0.0000	0.0000	0.00 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	14.0016	2.3336			
B	2	14.9351	7.4675	4.00*	3.63	6.23
A x B	6	0.0000	0.0000	0.00 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	29.8702	1.8669			
TOTAL	35	59.7403	1.7069			

Grand mean = 1.46 CV = 93.88%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.24 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิด โชมatic embryos จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลศรีที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	11.3760	5.6880	0.66 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	46.8137	15.6046	1.80 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	51.9586	8.6598			
B	2	43.7155	21.8577	3.66*	3.63	6.23
A x B	6	20.0197	3.3366	0.56 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	95.6511	5.9782			
TOTAL	35	269.5346	7.7010			

Grand mean = 2.96 CV = 88.47% ^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.25 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	4.0141	2.0070	0.41 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	46.3393	15.4464	3.13 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	29.6291	4.9382			
B	2	44.2533	22.1267	3.01 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	33.9031	5.6505	0.77 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	117.6148	7.3509			
TOTAL	35	275.7537	7.8787			

Grand mean = 3.48 CV = 63.91%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.26 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วน ก้านใบจากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	4.0141	2.0070	0.41 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	46.3393	15.4464	3.13 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	29.6291	4.9382			
B	2	44.2533	22.1267	3.01 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	33.9031	5.6505	0.77 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	117.6148	7.3509			
TOTAL	35	275.7537	7.8787			

Grand mean = 3.48

CV = 63.91%

^{ns} เอกสารนี้จะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หมายความว่าไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.27 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.0095	0.0048	0.27 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	0.0381	0.0127	0.72 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	0.1049	0.0175			
B	2	0.1525	0.0763	5.33 [*]	3.63	6.23
A x B	6	0.0763	0.0127	0.89 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	0.2288	0.0143			
TOTAL	35	0.6100	0.0174			

Grand mean = 1.05 CV = 11.43%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.28 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิดโซมาติกเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.7211	0.3606	0.79 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	2.5390	0.8463	1.86 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	2.7319	0.4553			
B	2	3.6867	1.8434	5.50 [*]	3.63	6.23
A x B	6	1.3615	0.2269	0.68 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	5.3621	0.3351			
TOTAL	35	16.4024	0.4686			

Grand mean = 1.42 CV = 40.77% ^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตให้เข้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.31 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของ pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 4 สัปดาห์

Source	df	SS	Ms	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.1354	0.0677	6.88*	5.14	10.92
A	3	0.0764	0.0255	2.59 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	0.0590	0.0098			
B	2	0.1250	0.0625	2.32 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	0.1111	0.0185	0.69 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	0.4306	0.0269			
TOTAL	35	0.9375	0.0268			

Grand mean = 2.96 CV = 3.35%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.32 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของ โชมatic embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุณชกริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 10 สัปดาห์

Source	df	SS	Ms	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	2.8889	1.4444	1.39 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	14.4444	4.8148	4.64 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	6.2222	1.0370			
B	2	22.2222	11.1111	5.30*	3.63	6.23
A x B	6	16.8889	2.8148	1.34 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	33.5556	2.0972			
TOTAL	35	96.2222	2.7492			

Grand mean = 2.78 CV = 36.66%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูใช้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.33 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติกเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 13 สัปดาห์

Source	df	SS	Ms	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.4851	0.2436	0.28 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	7.4141	2.4714	2.90 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	5.1215	0.8536			
B	2	5.0139	2.5069	2.87 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	3.3928	0.5655	0.65 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	13.9883	0.8743			
TOTAL	35	35.4158	1.0119			

Grand mean = 3.49 CV = 26.45%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.34 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติกเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Cool White Fluorescent ที่มีความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 16 สัปดาห์

Source	df	SS	Ms	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	6.6401	3.3201	18.03 ^{**}	5.14	10.92
A	3	2.2739	0.7580	4.12 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	1.1049	0.1841			
B	2	5.6876	2.8438	4.33 [*]	3.63	6.23
A x B	6	4.2274	0.7046	1.07 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	10.4983	0.6561			
TOTAL	35	30.4322	0.8695			

Grand mean = 2.68 CV = 16.03% ^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.35 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	Ms	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.9334	0.4667	1.00 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	1.4002	0.4667	1.00 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	2.8003	0.4667			
B	2	0.9334	0.4667	1.00 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	2.8003	0.4667	1.00 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	7.4675	0.4667			
TOTAL	35	16.3352	0.4667			

Grand mean = 1.11 CV = 61.33%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.36 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 10 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	Ms	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	26.1041	13.0520	3.50 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	16.8084	5.6028	1.50 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	22.3574	3.7262			
B	2	28.2188	14.1094	3.27 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	6.2991	1.0499	0.24 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	69.0359	4.3147			
TOTAL	35	168.8238	4.8235			

Grand mean = 2.59

CV = 74.42%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.37 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์อนุชกริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	Ms	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	1.3699	0.6849	0.29 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	22.8735	7.6245	3.18 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	14.7191	2.3930			
B	2	43.7191	21.8596	3.23 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	32.2844	5.3807	0.80 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	108.2951	6.7684			
TOTAL	35	222.9002	6.3686			

Grand mean = 3.78 CV = 40.98%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.38 วิเคราะห์ผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์อนุชกริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	Ms	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	1.3699	0.6849	0.29 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	22.8735	7.6245	3.18 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	14.7191	2.3930			
B	2	43.7191	21.8596	3.23 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	32.2844	5.3807	0.80 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	108.2951	6.7684			
TOTAL	35	222.9002	6.3686			

Grand mean = 3.78

CV = 40.98%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.39 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์อนุชกริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	Ms	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.0095	0.0048	1.00 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	0.0143	0.0048	1.00 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	0.0286	0.0048			
B	2	0.0095	0.0048	1.00 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	0.0286	0.0048	1.00 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	0.0763	0.0048			
TOTAL	35	0.1668	0.0048			

Grand mean = 1.01 CV = 6.83%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.40 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด โชมatic อีเอ็มบริโอ จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์อนุชกริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	2.9351	1.4676	3.70 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	1.8016	0.6005	1.51 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	2.3787	0.3964			
B	2	1.8284	0.9142	3.08 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	0.6700	0.1117	0.38 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	4.7559	0.2972			
TOTAL	35	14.3697	0.4106			

Grand mean = 1.40 CV = 38.92%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.41 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 13 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.6541	0.3270	0.78 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	0.7724	0.2575	0.61 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	2.5265	0.4211			
B	2	3.5651	1.7826	3.86 [*]	3.63	6.23
A x B	6	1.7720	0.2953	0.64 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	7.3967	0.4623			
TOTAL	35	16.6870	0.4768			

Grand mean = 1.61 CV = 40.09%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.42 วิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิดโซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมเมื่ออายุ 16 สัปดาห์ ($\sqrt{X+1}$ Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.9373	0.4686	1.28 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	0.7830	0.2610	0.71 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	2.1911	0.3652			
B	2	4.1726	2.0863	4.27 [*]	3.63	6.23
A x B	6	2.1543	0.3591	0.74 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	7.8151	0.4884			
TOTAL	35	18.0534	0.5158			

Grand mean = 1.66 CV = 36.45%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานในองค์กรศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ พึงระลึกถึงที่มาของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.43 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของ pro-embryo จากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลราชบุรีที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.1354	0.0677	1.07 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	0.1163	0.0388	0.61 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	0.3785	0.0631			
B	2	0.2604	0.1302	3.41 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	0.1701	0.0284	0.74 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	0.6111	0.0382			
TOTAL	35	1.6719	0.0478			

Grand mean = 2.90 CV = 6.75%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ ค.44 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของไซมาติคเอมบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์มณฑลราชบุรีที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่างๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 10 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	0.3889	0.1944	0.22 ^{ns}	5.14	10.92
A	3	37.1944	12.3981	13.80 ^{**}	4.76	9.78
ERROR A	6	5.3889	0.8981			
B	2	23.3889	11.6944	12.03 ^{**}	3.63	6.23
A x B	6	6.3889	1.0648	1.10 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	15.5556	0.9722			
TOTAL	35	88.3056	2.5230			

Grand mean = 3.64 CV = 26.04%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.45 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 13 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	4.9613	2.4806	7.60 [*]	5.14	10.92
A	3	20.7117	6.9039	21.15 ^{**}	4.76	9.78
ERROR A	6	1.9588	0.3265			
B	2	3.9404	1.9702	2.45 ^{ns}	3.63	6.23
A x B	6	15.1962	2.5327	3.15 [*]	2.74	4.19
ERROR B	16	12.8567	0.8035			
TOTAL	35	59.650	1.7036			

Grand mean = 3.22 CV = 17.76%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ ก.46 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของโซมาติคเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงส่วนก้านใบ จากลักษณะของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงที่มีความเข้มแสง ระดับต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เมื่ออายุ 16 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Block	2	12.7668	6.3834	10.89 [*]	5.14	10.92
A	3	3.7878	1.2626	2.15 ^{ns}	4.76	9.78
ERROR A	6	3.5176	0.5863			
B	2	7.5876	3.7938	6.18 [*]	3.63	6.23
A x B	6	7.5135	1.2522	2.04 ^{ns}	2.74	4.19
ERROR B	16	9.8106	0.6132			
TOTAL	35	44.9839	1.2853			

Grand mean = 2.46

CV = 31.18%

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ลงนิตยสาร และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวภัทวดี ภัทติงาม เกิดเมื่อวันที่ 6 เมษายน 2521 สำเร็จการศึกษาวិทยาสตรบัณฑิต (สาขาพืชสวน) จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2542



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้