บทที่ 4

ผลการศึกษา

1. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแดงโม

จากการตัดแยกเนื้อเยื่อ 3 ส่วนจากต้นแดงโมที่นำมาเพาะในหลอดทดลองได้แก่ ใบเลี้ยง hypocotyl และปลายยอด มาเลี้ยงในอาหาร 20 สูตร (ตารางที่ 1) ได้ผลดังนี้

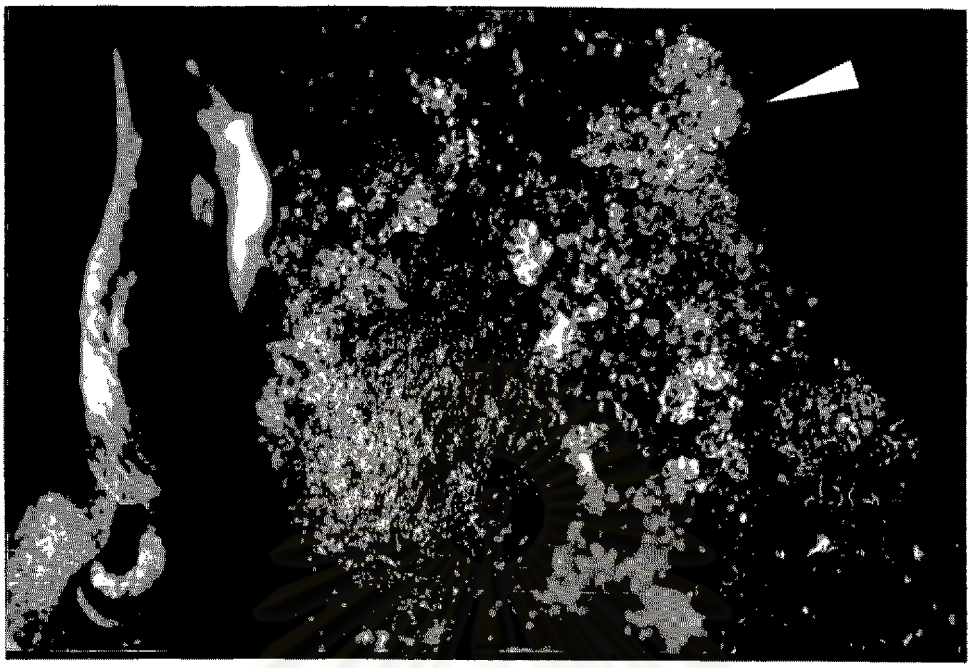
1.1 การเลี้ยงเนื้อเยื่อใบเลี้ยงแดงโมในอาหาร 20 สูตร

1.1.1 การเกิดแคลลัส

จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อใบเลี้ยงในอาหาร 20 สูตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสขึ้นได้ และสามารถแบ่งชนิดของแคลลัสที่เกิดออกเป็นชนิดตามสี ได้ 3 ชนิด คือ แคลลัสสีขาว แคลลัสสีเหลือง และแคลลัสสีเขียว

แคลลัสที่มีสีขาว (ภาพที่ 1) จะมีลักษณะเป็นเม็ดกลมใส มีการเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ มีการเจริญเติบโตเร็วในระยะแรก แล้วจะค่อย ๆ ช้าลงเมื่อเวลาผ่านไป 2 ถึง 3 สัปดาห์ แคลลัสชนิดนี้สามารถพบทั้งที่เกิดอยู่เพียงชนิดเดียวหรืออาจพบเกิดร่วมกับแคลลัสสีอื่นได้ ตำแหน่งที่เกิดแคลลัสสีขาวโดยมากมักจะพบว่าเกิดที่บริเวณผิวของใบเลี้ยงโดยจะพบว่าเริ่มเกิดในสัปดาห์ที่ 3 เป็นส่วนใหญ่

แคลลัสที่มีสีเหลือง (ภาพที่ 2) มีลักษณะขุ่นมากกว่าแคลลัสชนิดแรก พบในปริมาณน้อยและเกิดได้เฉพาะอาหารเพียงบางสูตรเท่านั้น โดยจะพบเกิดจากใบเลี้ยงในสูตรที่ 15 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l) สูตรที่ 19 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 10 mg/l) และสูตรที่ 20 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 10 mg/l)ซึ่งอาหารทั้ง 3 สูตรนี้เป็นสูตรที่มีการใช้สารควบคุมการเจริญ NAA ร่วมกับ BAP แต่จะไม่พบแคลลัสสีเหลืองในสูตร



ภาพที่ 1 แคลลัสสีขาวใสที่เกิดจากผิวใบเลี้ยง มีการเรียงตัวของเซลล์อย่างหลวม ๆ อายุ 6 สัปดาห์

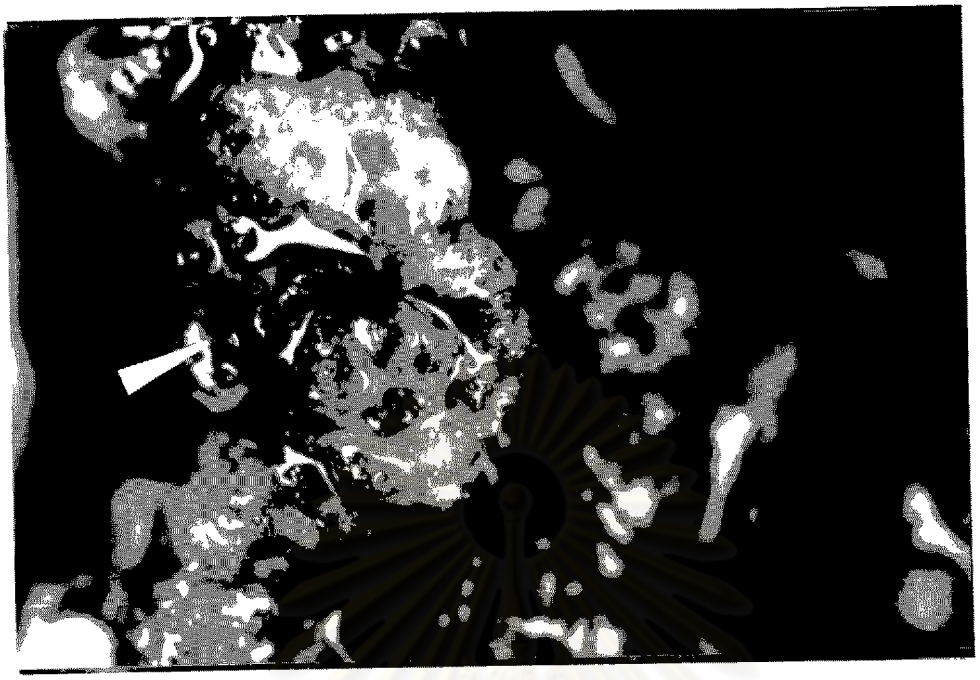
ภาพที่ 2 แคลลัสสีเหลืองที่เกิดจากรอยตัดของใบเลี้ยง มีการเรียงตัวของเซลล์ค่อนข้างแน่น อายุ 6 สัปดาห์

อาหารอื่นอีกไม่ว่าจะเป็นสูตรที่ใช้สารควบคุมการเจริญ IAA ร่วมกับ BAP หรือ สูตรที่ใช้สารควบคุมการเจริญ NAA หรือ IAA หรือ BAP เพียงอย่างเดียว แคลลัสที่มีสีเหลืองนี้มีอัตราการเจริญเติบโตช้าที่สุดใน 3 ชนิด และไม่พบแคลลัสสีเหลืองเกิดร่วมกับแคลลัสชนิดอื่น ๆ ตำแหน่งที่พบแคลลัสที่มีสีเหลือง มักพบว่าเกิดจากบริเวณรอยตัด หรือขอบใบที่สัมผัสอาหาร แล้วเจริญโตขึ้นมา แคลลัสสีเหลืองจะเริ่มเกิดในสัปดาห์ที่ 3 ของการเลี้ยงเนื้อเยื่อใบเลี้ยง

แคลลัสที่มีสีเขียว (ภาพที่ 3) มีลักษณะชุ่มและแน่นมากที่สุด พบมากใน สูตรที่ 17 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 10 mg/l) และ 18 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 10 mg/l) ซึ่งเป็นสูตรที่ใช้สารควบคุมการเจริญ IAA ร่วมกับ BAP ในปริมาณสูงในการทดลองนี้ มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วและสม่ำเสมอ ตำแหน่งที่พบมักเกิดที่บริเวณรอยตัด ผิวใบและขอบใบส่วนที่สัมผัสกับอาหาร จำนวนสัปดาห์ที่เริ่มเกิดแคลลัส เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส ปริมาณแคลลัสที่เกิดและสีของแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรแสดงไว้ในตารางที่ 3

1.1.2 <u>การเกิดราก</u>

สำหรับการเกิดราก พบว่าอาหารสูตรที่ใช้ออกซินทั้ง 2 ชนิดเพียงอย่างเดียว คือ IAA และ NAA สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อใบเลี้ยงเกิดรากได้ แต่ลักษณะของรากที่เกิดจากอาหารสูตรที่ใส่สารควบคุมการเจริญทั้งสอง มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ไม่ว่าจะเป็นจำนวน ความยาว และสี โดย อาหารสูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 ซึ่งใส่ IAA 1 และ 2 mg/l ตามลำดับ สามารถชักนำให้เกิดรากขึ้นเป็นจำนวนน้อยกว่า ความยาวของรากที่เกิดจะเจริญได้ยาวกว่าและพบว่ามีการแตกแขนงของรากได้และรากที่เกิดจะมีสีขาว (ภาพที่ 4) รากจะเริ่มเกิดในสัปดาห์ที่ 3 และ 2 ตามลำดับ ในขณะที่อาหารสูตรที่ 4 และสูตรที่ 5 ซึ่งใส่ NAA 1 และ 2 mg/l ตามลำดับ จะทำให้เกิดรากเป็นจำนวนมากรากที่เกิดเป็นรากสั้น ๆ และไม่มีการแตกแขนง รากที่เกิดขึ้นจะมีสีขาวออกเหลือง (ภาพที่ 5) และเริ่มเกิดในสัปดาห์ที่ 2 ทั้งสองสูตร สูตรอาหารทั้ง 4 สูตร ทำให้เกิดรากได้ 100 เปอร์เซนต์ และยังพบการเกิดรากร่วมกันกับแคลลัส (ภาพที่ 6)ในอาหารสูตร MS ที่มี IAA 1-2 mg/l หรือ NAA 1 mg/l ร่วมกับ BAP 0.5-1 mg/l จำนวนสัปดาห์ที่เริ่มเกิดราก เปอร์เซนต์การเกิดราก และจำนวนรากที่เกิดแสดงไว้ในตารางที่ 3



ภาพที่ 3 แคลลัสสีเขียวที่เกิดจากรอยตัดของใบเลี้ยง มีการเรียงตัวของเซลล์แน่น อายุ 6 สัปดาห์

ภาพที่ 4 รากที่เกิดจากอาหารสูตรที่ใส่สารควบคุมการเจริญ IAA พบเป็นจำนวนน้อย เป็นรากขนาดยาว มีการแตกแขนง และมีสีขาว

ภาพที่ 5 รากที่เกิดจากอาหารสูตรที่ใส่สารควบคุมการเจริญ NAA พบเป็นจำนวนมาก เป็นขนาดรากสั้น ไม่มีการแตกแขนงและมีสีขาวเหลือง

ภาพที่ 6 การเกิดรากร่วมกับการเกิดแคลลัสที่พบในอาหาร MS ที่เติม IAA 1-2 mg/l หรือ NAA 1 mg/l ร่วมกับ BAP 0.5-1 mg/l

ตารางที่ 3 การเกิดแคลลัส การเกิดราก และการเกิดยอด จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อใบเลี้ยงในอาหาร 20 สูตร ในเวลา 8 สัปดาห์

สูตร	การเกิดแคลลัส				การเกิดราก			การเกิดยอด		
	สัปดาห์ที่เริ่มเกิด	เปอร์เซนต์การเกิด	ปริมาณ 1/	สีของแคลลัส	สัปดาห์ที่เริ่มเกิด	เปอร์เซนต์การเกิด	จำนวนราก	สัปดาห์ที่เริ่มเกิด	เปอร์เซนต์การเกิด	จำนวนยอด
1 (MS)	-	0.00	0	-	3	0.00	0	-	0.00	0
2 (MS + IAA 1 mg/l)	5	42.85	+1	ขาว	2	100.00	8	-	0.00	0
3 (MS + IAA 2 mg/l)	5	28.57	+1	ขาว	2	100.00	10	-	0.00	0
4 (MS + NAA 1 mg/l)	-	0.00	0	-	2	100.00	มากมาย	-	0.00	0
5 (MS + NAA 2 mg/l)	-	0.00	0	-	2	100.00	มากมาย	-	0.00	0
6 (MS + BAP 0.5 mg/l)	3	100.00	+2	ขาว	-	0.00	0	-	0.00	0
7 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	3	100.00	+3	ขาว	-	0.00	0	-	0.00	0
8 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	3	100.00	+1	ขาว	7	14.28	1	-	0.00	0
9 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	2	100.00	+4	เขียว	-	0.00	0	-	0.00	0
10 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	2	100.00	+4	เขียว	-	0.00	0	-	0.00	0
11 (MS + BAP 1 mg/l)	3	100.00	+2	เขียว,ขาว	6	14.28	2	-	0.00	0
12 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l)	3	100.00	+2	ขาว	4	28.57	2	-	0.00	0
13 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l)	3	100.00	+2	ขาว	-	00.00	0	-	0.00	0
14 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l)	3	100.00	+2	ขาว	5	14.28	1	-	0.00	0
15 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l)	3	100.00	+1	เหลือง	-	0.00	0	-	0.00	0
16 (MS + BAP 10 mg/l)	3	100.00	+1	เขียว,ขาว	-	0.00	0	-	0.00	0
17 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 10 mg/l)	3	100.00	+3	เขียว,ขาว	-	0.00	0	4	100.00	1
18 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 10 mg/l)	3	100.00	+3	เขียว,ขาว	-	0.00	0	-	0.00	0
19 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 10 mg/l)	3	100.00	+1	เหลือง	-	0.00	0	-	0.00	0
20 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 10 mg/l)	3	100.00	+1	เหลือง	-	0.00	0	-	0.00	0

1/ 0 = ไม่เกิด callus +1 = callus เกิดเป็นปริมาณน้อย +2 = callus เกิดเป็นปริมาณปานกลาง
+3 = callus เกิดเป็นปริมาณปานกลางค่อนข้างมาก +4 = callus เกิดเป็นปริมาณมาก

1.1.3 การเกิดยอด

การเกิดยอดจากเนื้อเยื่อใบเลี้ยงพบว่าเกิดได้ในอาหารเพียงสูตรเดียวคือสูตรที่ 17 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 10 mg/l) การเกิดยอดเริ่มในสัปดาห์ที่ 4 และจะเกิดเป็นยอดเดียวในทุกซ้ำของการทดลอง (ภาพที่ 7) แล้วเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์เมื่อเวลาผ่านไป 6 สัปดาห์โดยยอดจะเกิดจากแคลลัสที่มีสีเขียว (ภาพที่ 8) จำนวนสัปดาห์ที่เริ่มเกิดยอด เปอร์เซนต์การเกิดยอด และจำนวนยอดที่เกิดแสดงในตารางที่ 3

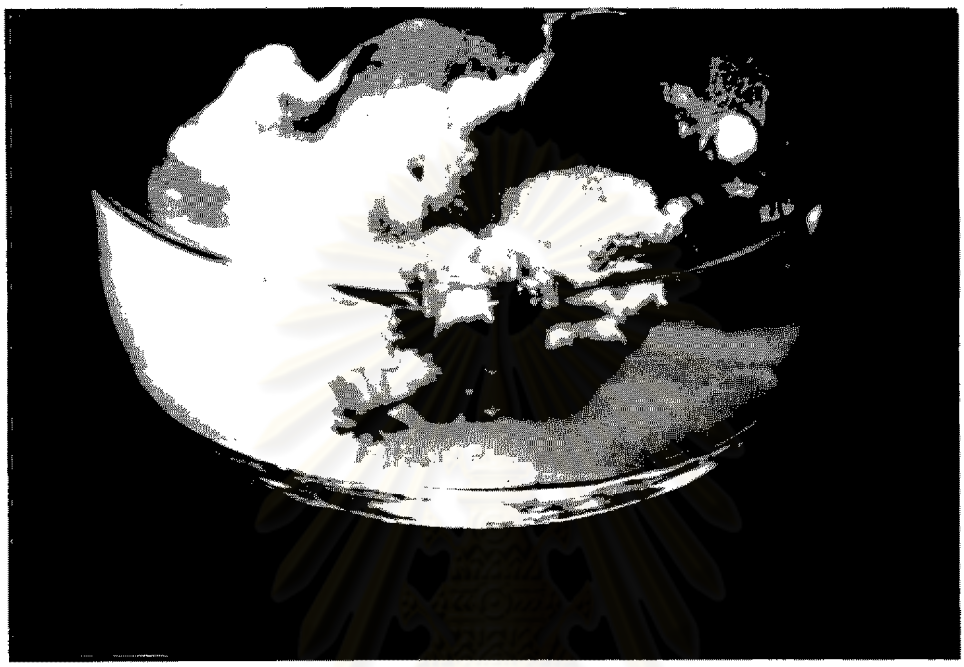
1.2 การเลี้ยงเนื้อเยื่อ hypocotyl แตงโมในอาหาร 20 สูตร

1.2.1 การเกิดแคลลัส

จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ hypocotyl ของแตงโมในอาหารทั้ง 20 สูตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และสามารถแบ่งชนิดของแคลลัสที่เกิดออกเป็นชนิดตามสีได้ 2 ชนิดคือ

แคลลัสสีเหลือง (ภาพที่ 9) มีลักษณะคล้ายกับแคลลัสที่เกิดจากใบเลี้ยง มีลักษณะฟู โดยในระยะ 2-3 สัปดาห์แรก เนื้อเยื่อจะมีอาการบวมและพองตัวออก จากนั้นจึงเห็นแคลลัสเจริญออกมาจากรอยปริที่ผิวเนื้อเยื่อ แคลลัสสีเหลืองนี้เกิดจากเนื้อเยื่อhypocotyl ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 4 (MS + NAA 1 mg/l) สูตรที่ 5 (MS + NAA 2 mg/l) สูตรที่ 9 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 0.5 mg/l) สูตรที่ 10 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 0.5 mg /L) สูตรที่ 13 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l) สูตรที่ 14 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l) สูตรที่ 15 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l) และ สูตรที่ 19 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 10 mg/l) และเริ่มเกิดหลังจากเลี้ยงเนื้อเยื่อ hypocotyl ในอาหารประมาณ 3 สัปดาห์เป็นต้นไป

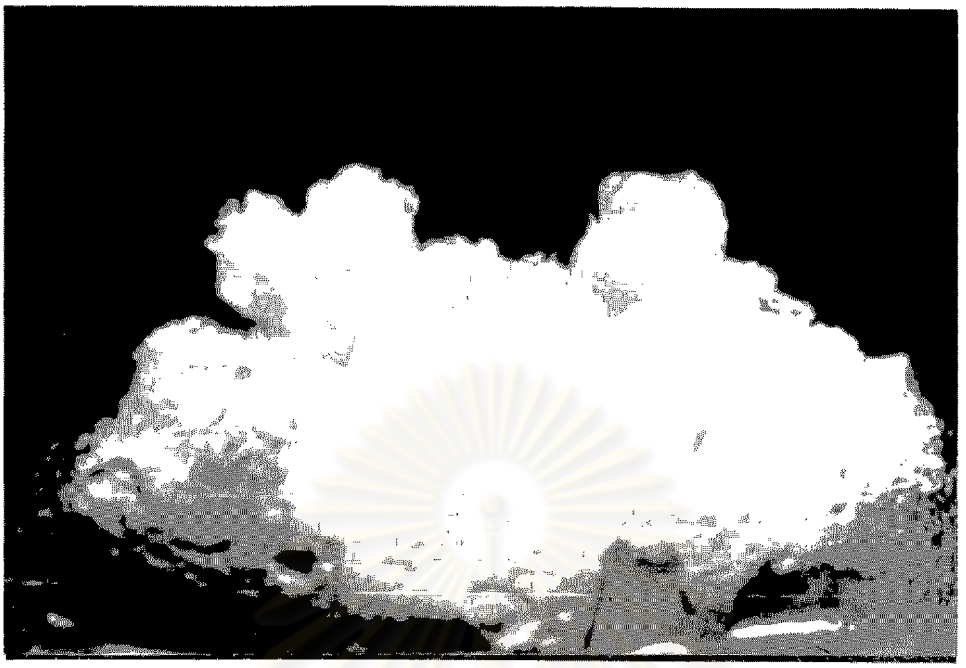
แคลลัสสีเขียว (ภาพที่ 10) มีลักษณะคล้ายกับแคลลัสที่เกิดจากใบเลี้ยง มีลักษณะชุ่มชื้นเกิดจากการที่เนื้อเยื่อ hypocotyl มีการพองบวมและแตกปริออก หลังจากย้ายลงในอาหารเป็นเวลาประมาณ 3 สัปดาห์จากนั้นแคลลัสจึงเจริญออกจากผิวเนื้อเยื่อที่เป็นรอยปริและรอยตัดของเนื้อเยื่อ hypocotyl แคลลัสที่มีสีเขียวนี้จะพบในอาหารสูตรที่ 20(MS + NAA



ภาพที่ 7 ยอดที่สมบูรณ์ที่พัฒนาจากแคลลัสสีเขียวจากเนื้อเยื่อใบเลี้ยงเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 8 ยอดที่สมบูรณ์ที่พัฒนาจากแคลลัสสีเขียวจากเนื้อเยื่อใบเลี้ยงเมื่อเวลาผ่านไป 6 สัปดาห์



ภาพที่ 9 แคลลัสสีเหลืองที่เกิดจากเนื้อเยื่อ hypocotyl มีการเรียงตัวของเซลล์ค่อนข้างแน่น อายุ 6 สัปดาห์

ภาพที่ 10 แคลลัสสีเขียวที่เกิดจากเนื้อเยื่อ hypocotyl มีการเรียงตัวของเซลล์แน่นมาก อายุ 6 สัปดาห์

2 mg/l + BAP 10 mg/l)เพียงสูตรเดียว

สรุปจำนวนสัปดาห์ที่เริ่มเกิดแคลลัส เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส ปริมาณแคลลัสที่เกิด และสีของแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรแสดงไว้ในตารางที่ 4

1.2.2 การเกิดราก

ไม่พบการเกิดรากจากเนื้อเยื่อ hypocotyl ในอาหารทั้ง 20 สูตร ตลอด 8 สัปดาห์ที่ทำการทดลอง

1.2.3 การเกิดยอด

ไม่พบการเกิดยอดจากเนื้อเยื่อ hypocotyl ในอาหารทั้ง 20 สูตร ตลอด 8 สัปดาห์ที่ทำการทดลอง

1.3 การเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดแตงโมในอาหาร 20 สูตร

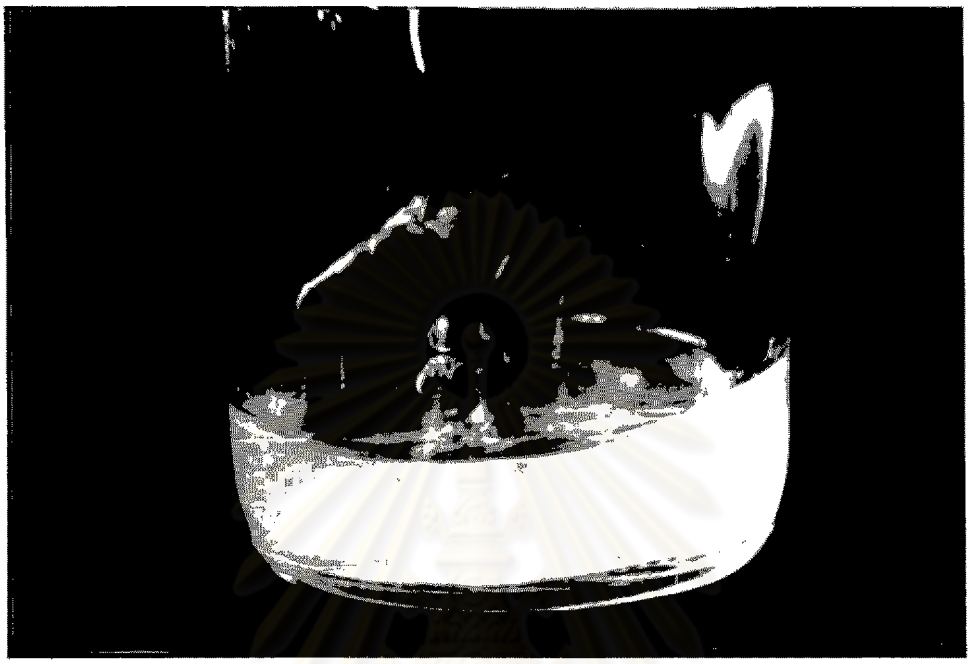
จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดแตงโมในอาหาร 20 สูตร พบว่าปลายยอดแตงโมมีความสูงมากที่สุด ในอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) คือ 3.3571 เซนติเมตร (ภาพที่ 11) และไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับความสูงของปลายยอดแตงโมอาหารสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญลงในอาหาร ซึ่งมีความสูง 3.0282 เซนติเมตร แต่ความสูงของปลายยอดแตงโมในอาหารสูตรที่ 2 จะแตกต่างทางสถิติกับความสูงของปลายยอดแตงโมในอาหารอีก 18 สูตรที่เหลือ (ตารางที่ 5)

การเพิ่มจำนวนยอดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดแตงโมในอาหาร 20 สูตร พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดอยู่ระหว่าง 1.0000 ถึง 1.5827 ยอด(ตารางที่ 5) โดยค่าเฉลี่ยจำนวนยอดจะพบมากที่สุดในอาหารสูตรที่ 7 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 0.5 mg/l) และไม่พบการเพิ่มจำนวนยอดในอาหาร 11 สูตร (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 การเกิดแคลลัส เมื่อเวลา 8 สัปดาห์ จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ hypocotyl ในอาหาร 20 สูตร

สูตร	การเกิดแคลลัส			
	สัปดาห์ที่เริ่มเกิด	เปอร์เซนต์การเกิด	ปริมาณ 1/	สีของแคลลัส
1 (MS)	-	0.00	0	-
2 (MS + IAA 1 mg/l)	-	0.00	0	-
3 (MS + IAA 2 mg/l)	-	0.00	0	-
4 (MS + NAA 1 mg/l)	4	100.00	+1	เหลือง
5 (MS + NAA 2 mg/l)	4	100.00	+1	เหลือง
6 (MS + BAP 0.5 mg/l	-	0.00	0	-
7 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	-	0.00	0	-
8 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	-	0.00	0	-
9 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	3	100.00	+1	เหลือง
10 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	3	100.00	+2	เหลือง
11 (MS + BAP 1 mg/l)	-	0.00	0	-
12 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l)	-	0.00	0	-
13 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l)	3	100.00	+1	เหลือง
14 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l)	3	100.00	+2	เหลือง
15 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l)	3	100.00	+2	เหลือง
16 (MS + BAP 10 mg/l)	-	0.00	0	-
17 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 10 mg/l)	-	0.00	0	-
18 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 10 mg/l)	-	0.00	0	-
19 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 10 mg/l)	3	100.00	+2	เหลือง
20 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 10 mg/l)	3	100.00	+2	เขียว

1/ 0=ไม่เกิด callus +1=callus เกิดเป็นปริมาณน้อย +2=callus เกิดเป็นปริมาณปานกลาง



ภาพที่ 11 ต้นแตงโมที่มียอดและรากสมบูรณ์ในอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) อายุ 3 สัปดาห์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยความสูงของปลายยอด จำนวนยอดเฉลี่ย และจำนวนรากเฉลี่ย ที่เกิดจากปลายยอดแคงโมในอาหาร 20 สูตร อายุ 8 สัปดาห์

สูตรที่	ความสูง (cm) 1/	จำนวนยอด 1/	จำนวนราก 1/
1 (MS)	3.0286 ^{hi}	1.1429 ^{b}	1.0000 ^{b}
2 (MS + IAA 1 mg/l)	3.3571 ^{i}	1.1429 ^{b}	3.5714 ^{c}
3 (MS + IAA 2 mg/l)	2.7714 ^{h}	1.2857 ^{b}	0.5170 ^{b}
4 (MS + NAA 1 mg/l)	1.5000 ^{abc}	1.0000 ^{a}	0.0000 ^{a}
5 (MS + NAA 2 mg/l)	1.5286 ^{abc}	1.0000 ^{a}	0.0000 ^{a}
6 (MS + BAP 0.5 mg/l	2.2571 ^{g}	1.5714 ^{b}	0.0000 ^{a}
7 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	2.1429 ^{fg}	1.5827 ^{b}	0.0000 ^{a}
8 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	1.7714 ^{cdef}	1.1429 ^{b}	0.0000 ^{a}
9 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	1.6714 ^{bcde}	1.0000 ^{a}	0.4286 ^{a}
10 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 0.5 mg/l)	1.6143 ^{bcd}	1.0000 ^{a}	0.0000 ^{a}
11 (MS + BAP 1 mg/l)	2.0471 ^{efg}	1.0000 ^{a}	0.0000 ^{a}
12 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l)	1.5429 ^{abc}	1.1429 ^{b}	0.0000 ^{a}
13 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l)	2.2000 ^{g}	1.5714 ^{b}	0.0000 ^{a}

(ยังมีต่อ)

1/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ จากการทดสอบโดยวิธี DMRT

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยความสูงของปลายยอด จำนวนยอดเฉลี่ย และจำนวนรากเฉลี่ยที่เกิดจากปลายยอดแตงโมในอาหาร 20 สูตร อายุ 8 สัปดาห์ (ต่อ)

สูตรที่	ความสูง (cm) 1/	จำนวนยอด 1/	จำนวนราก 1/
14 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l)	1.4429 ^{abc}	1.0000 ^{a}	0.0000 ^{a}
15 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l)	1.6429 ^{bcde}	1.0000 ^{a}	0.0000 ^{a}
16 (MS + BAP 10 mg/l)	1.7286 ^{cdef}	1.2857 ^{b}	0.0000 ^{a}
17 (MS + IAA 1 mg/l + BAP 10 mg/l)	1.5429 ^{abc}	1.0000 ^{a}	0.0000 ^{a}
18 (MS + IAA 2 mg/l + BAP 10 mg/l)	2.0143 ^{defg}	1.0000 ^{a}	0.0000 ^{a}
19 (MS + NAA 1 mg/l + BAP 10 mg/l)	1.2429 ^{abc}	1.0000 ^{a}	0.0000 ^{a}
20 (MS + NAA 2 mg/l + BAP 10 mg/l)	1.1571 ^{a}	1.0000 ^{a}	0.0000 ^{a}

1/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ จากการทดสอบโดยวิธี DMRT

การเกิดรากจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดแตงโมในอาหาร 20 สูตร พบว่าในอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) ทำให้เกิดรากได้ดีที่สุด คือค่าเฉลี่ยของจำนวนรากต่อต้นเท่ากับ 3.5714 รากต่อต้น และมีความสม่ำเสมอในการเกิดคือ เกิดในทุกต้น และไม่พบการเกิดรากในอาหาร 16 สูตร (ตารางที่ 5)

จากข้อมูลการเกิดยอด ความสูงของยอดที่เพิ่มขึ้น และการเกิดราก(ตารางที่ 5) แสดงให้เห็นว่าอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) มีผลทำให้ปลายยอดเจริญสูงขึ้นมากที่สุด และมีความสม่ำเสมอในทุกซ้ำของการทดลอง จึงเลือกใช้อาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) มาใช้ในการเพิ่มจำนวนยอด และในอาหารสูตรนี้ยังทำให้เกิดรากได้มากที่สุดด้วย

2. <u>การเพิ่มจำนวนปลายยอดแตงโมเพื่อศึกษาการชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์</u>

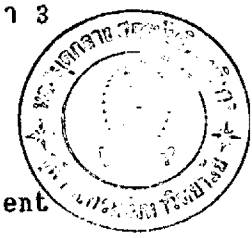
จากการนำปลายยอดแตงโมมาเพิ่มจำนวนในอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) ทำโดยตัดต้นแตงโมเป็นท่อน ๆ โดยแต่ละท่อนจะมีข้ออยู่ 1 - 2 ข้อ พบว่า ในเวลา 3 สัปดาห์ จะสามารถเจริญเป็นปลายยอดใหม่ได้ และจะเริ่มเกิดรากในสัปดาห์ที่ 2 - 3 หลังจากย้ายลงในอาหาร ทำการตัดต้นแตงโมเช่นนี้ประมาณ 5 ครั้ง จะมีจำนวนยอดมากพอที่จะใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3. <u>การทดสอบหาความเข้มข้นของสารโคลชิซีนและระยะเวลาที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์</u>

จากการนำปลายยอดแตงโม มาแช่ในสารละลายโคลชิซีนที่ความเข้มข้น และระยะเวลาต่าง ๆ ตามตารางที่ 2 แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ ก่อนย้ายลงในอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/) ได้ผลดังนี้

เนื้อเยื่อที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีน treatment ที่ 3 (น้ำกลั่น+โคลชิซีน 0.5 เปอร์เซนต์ เวลา 48 ชั่วโมง)และ treatment ที่ 6 (อาหารเหลวสูตร MS + โคลชิซีน 0.5 เปอร์เซนต์ เวลา 48 ชั่วโมง) จะมีลักษณะอ่อนนุ่มหมดทุกส่วนคล้ายถูกน้ำร้อนลวก เมื่อย้าย

ลงในอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) เนื้อเยื่อทั้งชิ้นจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองในเวลา 3 วันและไม่พบการเจริญเติบโต



เนื้อเยื่อที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีนtreatmentอื่น ๆ ยกเว้นtreatment ที่ 3 และ 6 จะมีลักษณะปกติ เมื่อย้ายลงในอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) แล้ว ในระยะสัปดาห์แรก ผิวของลำต้นจะมีลักษณะบวมพองออกเล็กน้อยตามแนวความยาวของลำต้น ส่วนที่บวมออกมีสีขาว แต่บริเวณอื่นยังมีสีเขียวอยู่ จากนั้นส่วนที่เป็นสีขาวจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และบางต้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายไปในที่สุด

ดังนั้นปลายยอดแตงโมที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีน ที่มีความเข้มข้น 0.5 และ 0.1 เปอร์เซนต์ คือใน treatment ที่ 1 ถึง 12 เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จะไม่พบอัตราการรอดชีวิตเลย

การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อปลายยอดแตงโมที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีน จะพบใน treatment ที่มีสารโคลชิซีน ความเข้มข้น 0.05 และ 0.01 เปอร์เซนต์ เท่านั้น ซึ่งมีเปอร์เซนต์การรอดชีวิตอยู่ในช่วง 10 ถึง 100 เปอร์เซนต์ ได้แก่ใน treatment ที่ 13 14 16 17 19 20 22 23 และ 24 รวม 9 treatment (ตารางที่ 6) โดยจะมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซนต์ใน treatment ที่ 19 และ 22 ซึ่งเป็น treatment ที่มีความเข้มข้นของสารโคลชิซีน และเวลาในการแช่น้อยที่สุดคือ ความเข้มข้นของสารโคลชิซีน เท่ากับ 0.01 เปอร์เซนต์ และเวลาในการแช่เท่ากับ 12 ชั่วโมง

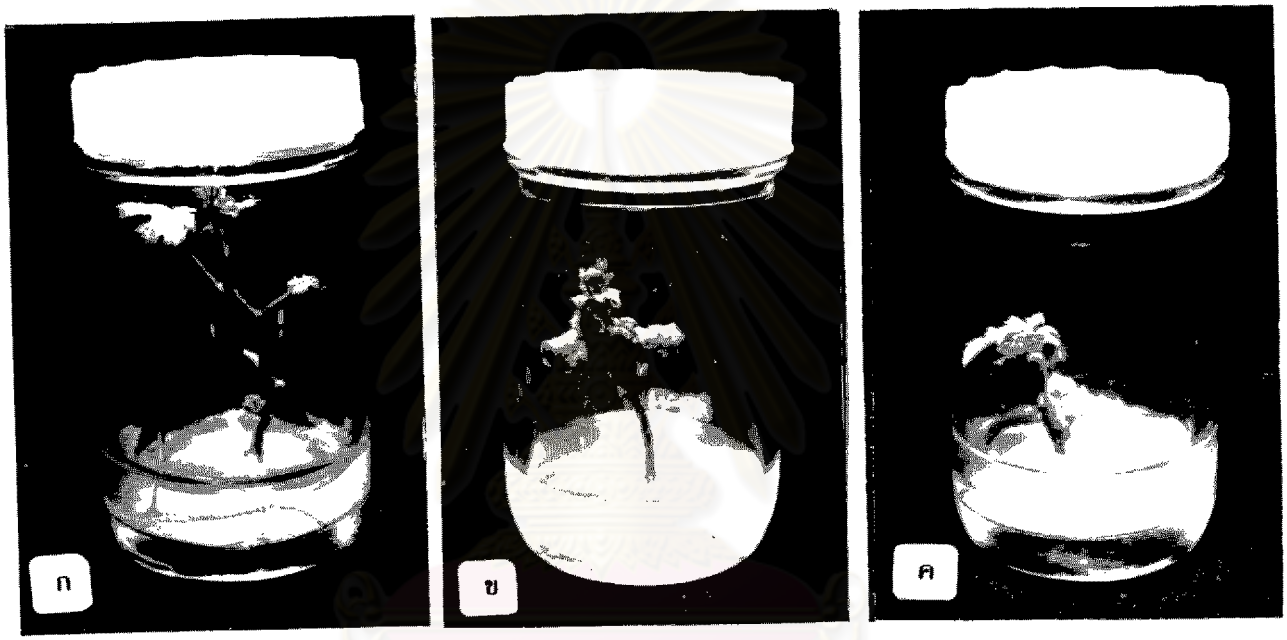
ดังนั้นความเข้มข้นของสารโคลชิซีนและระยะเวลาที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ คือ ความเข้มข้นของสารโคลชิซีนเท่ากับ 0.01 ถึง 0.05 เปอร์เซนต์ และเวลาในการแช่ เท่ากับ 12 - 24 ชั่วโมง

4. <u>ศึกษาการเกิดพอลิพลอยด์ของต้นแตงโมที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีน</u>

ต้นแตงโมที่รอดชีวิตจากการแช่ในสารละลายโคลชิซีนทั้ง 9 treatment เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) จนกระทั่งมีอายุ 8 สัปดาห์ พบว่ามีการเจริญเติบโตเป็นปกติคล้ายคลึงกับต้นควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีน (ภาพที่ 12 ก.)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17655551



ภาพที่ 12 ก. ต้นแตงโมที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีน (ต้นควบคุม)

ข. ต้นแตงโมที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีนที่มีการเกิดยอดจากตาข้าง

ค. ต้นแตงโมที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีนที่มีลำต้นและใบหนา แข็ง เปราะ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของปลายอดแดงโมในสารละลายโคลชิซีน 24 treatment ในเวลา 8 สัปดาห์

treatment ที่	% การรอดชีวิต
1 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.5 % เวลา 12 ชม.)	0.00
2 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.5 % เวลา 24 ชม.)	0.00
3 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.5 % เวลา 48 ชม.)	0.00
4 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.5 % เวลา 12 ชม.)	0.00
5 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.5 % เวลา 24 ชม.)	0.00
6 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.5 % เวลา 48 ชม.)	0.00
7 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.1 % เวลา 12 ชม.)	0.00
8 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.1 % เวลา 24 ชม.)	0.00
9 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.1 % เวลา 48 ชม.)	0.00
10 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.1 % เวลา 12 ชม.)	0.00
11 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.1 % เวลา 24 ชม.)	0.00
12 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.1 % เวลา 48 ชม.)	0.00
13 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.05 % เวลา 12 ชม.)	20.00
14 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.05 % เวลา 24 ชม.)	10.00
15 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.05 % เวลา 48 ชม.)	0.00
16 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.05 % เวลา 12 ชม.)	30.00
17 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.05 % เวลา 24 ชม.)	20.00
18 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.05 % เวลา 48 ชม.)	0.00
19 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.01 % เวลา 12 ชม.)	100.00
20 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.01 % เวลา 24 ชม.)	50.00
21 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.01 % เวลา 48 ชม.)	0.00
22 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.01 % เวลา 12 ชม.)	100.00
23 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.01 % เวลา 24 ชม.)	60.00
24 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.01 % เวลา 48 ชม.)	50.00

และพบว่ามีการเกิดยอดจากตาข้างได้ (ภาพที่ 12 ข.) แต่บางต้น มีการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ มีลำต้นและใบหนา แข็ง และเปราะ (ภาพที่ 12 ค.)

ผลการศึกษาการเกิดพอลิพลอยด์มีดังนี้คือ

4.1 ขนาดของเซลล์คุม

ต้นแดงโมที่มีความยาวของเซลล์คุมมากกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ พบใน treatment ที่ 13 16 17 20 และ 23 โดยมีค่าเฉลี่ยความยาวของเซลล์คุม อยู่ระหว่าง 0.0204 ถึง 0.0211 มิลลิเมตร โดยที่ต้นควบคุมมีค่าเฉลี่ยของเซลล์คุมเท่ากับ 0.0199 มิลลิเมตร (ตารางที่ 7)

ต้นแดงโมที่มีความกว้างของเซลล์คุมมากกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ พบใน treatment ที่ 13 16 17 และ 23 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของเซลล์คุม อยู่ระหว่าง 0.0161 ถึง 0.0164 มิลลิเมตร โดยที่ต้นควบคุมมีค่าเฉลี่ยของเซลล์คุมเท่ากับ 0.0152 มิลลิเมตร (ตารางที่ 7)

ขนาดของเซลล์คุมของต้นควบคุมและต้นที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีน แสดงในภาพที่ 13 และภาพที่ 14

4.2 จำนวนคลอโรพลาสต์

ต้นแดงโมที่มีจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมมากกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ พบใน treatment ที่ 13 16 และ 23 โดยมีค่าเฉลี่ยของจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมอยู่ระหว่าง 12.10 ถึง 12.20 คลอโรพลาสต์โดยที่ต้นควบคุม มีค่าเฉลี่ยของจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมเท่ากับ 11.87 คลอโรพลาสต์ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยของขนาดเซลล์คุม จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม และความยาวรากของ ต้นแแดงโมที่รอดชีวิต จากการแช่ในสารละลายโคลชิซีน เมื่อมีอายุได้ 8 สัปดาห์

treatment	ต้นที่	จำนวนเซลล์	ความยาวเซลล์คุม(มม)	ความกว้างเซลล์คุม(มม)	จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม	ความยาวราก (cm)
control	1-5	100	0.0199	0.0152	11.87	11.20
13	1	20	0.0206 *	0.0162 *	12.20 *	10.75
	2	20	0.0206 *	0.0160 *	12.20 *	12.50
14	1	20	0.0199	0.0156	12.10	8.95
16	1	20	0.0210 *	0.0164 *	12.15 *	10.14
	2	20	0.0205 *	0.0154	12.05	0.00
	3	20	0.0205 *	0.0157	12.00	12.62
17	1	20	0.0206 *	0.0163 *	12.00	9.37
	2	20	0.0204 *	0.0160 *	12.00	9.77
19	1	20	0.0198	0.0153	11.85	10.57
	2	20	0.0199	0.0153	11.95	10.77
	3	20	0.0200	0.0152	11.95	11.58
	4	20	0.0199	0.0151	11.95	10.42
	5	20	0.0200	0.0153	11.95	11.50
	6	20	0.0201	0.0152	12.00	11.25
	7	20	0.0201	0.0152	11.95	12.00
	8	20	0.0201	0.0156	11.90	10.50
	9	20	0.0203	0.0154	11.95	11.50
	10	20	0.0201	0.0153	11.95	12.00
20	1	20	0.0206	0.0154	12.00	10.40

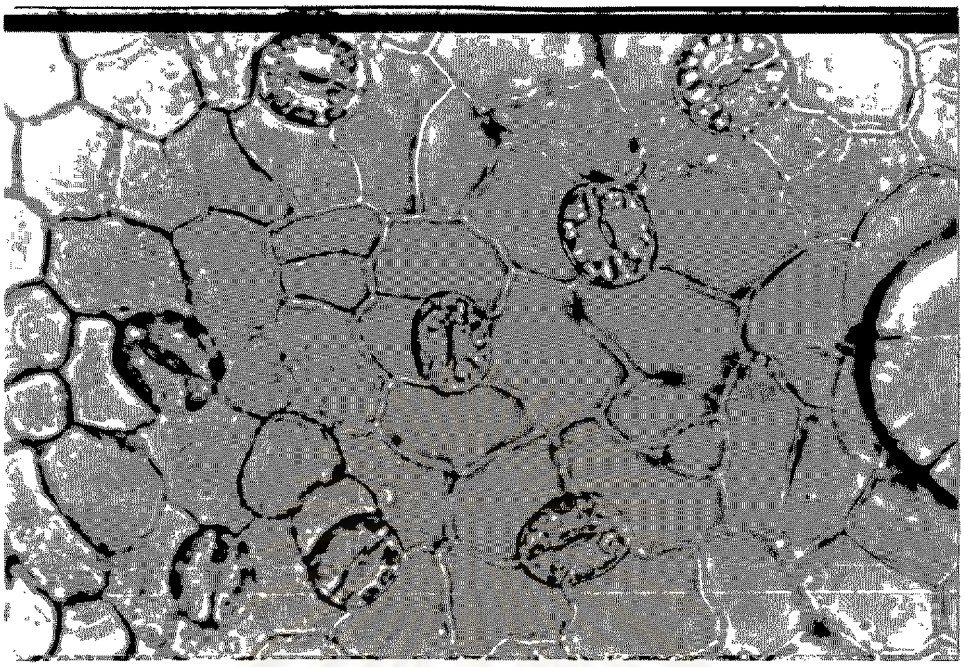
(ยังมีต่อ)

* มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

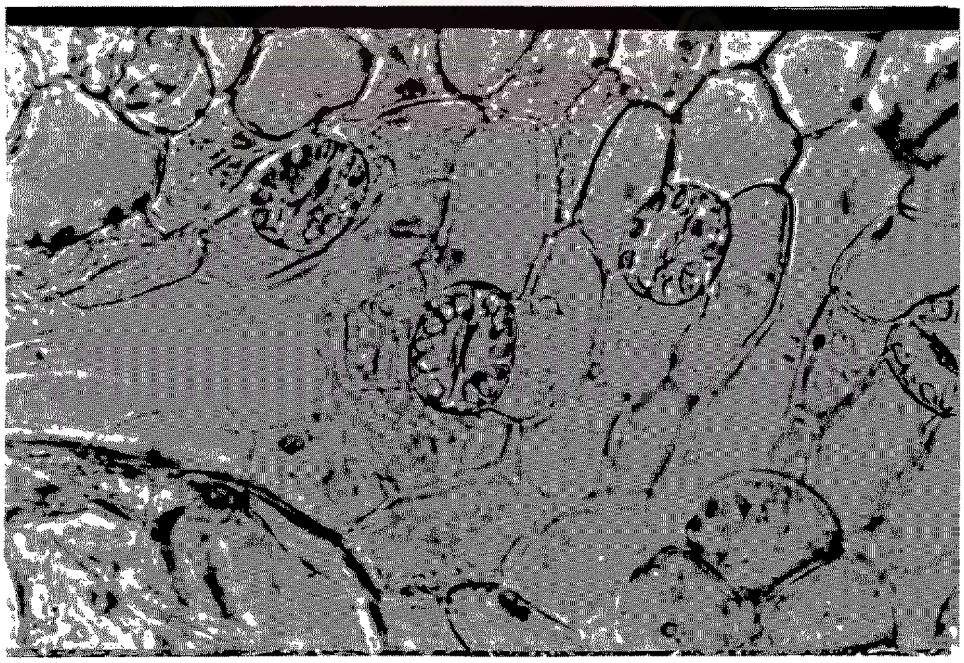
ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยของขนาดเซลล์คุม จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม และความยาวรากของ ต้นแต่งโมที่รอดชีวิต จากการแช่ในสารละลายโคลชิซีน เมื่อมีอายุได้ 8 สัปดาห์

treatment	ต้นที่	จำนวนเซลล์	ความยาวเซลล์คุม(mm)	ความกว้างเซลล์คุม(mm)	จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม	ความยาวราก (cm)
20	2	20	0.0203	0.0153	11.95	8.42
	3	20	0.0204 *	0.0153	12.00	7.56
	4	20	0.0201	0.0151	11.95	9.66
22	1	20	0.0201	0.0153	12.00	9.71
	2	20	0.0201	0.0152	11.95	9.33
	3	20	0.0200	0.0151	11.95	10.20
	4	20	0.0200	0.0152	11.95	9.00
	5	20	0.0198	0.0151	11.95	10.22
	6	20	0.0199	0.0151	11.90	11.85
	7	20	0.0200	0.0156	12.00	11.50
	8	20	0.0201	0.0153	12.00	11.71
	9	20	0.0201	0.0154	12.00	12.11
	10	20	0.0199	0.0152	12.00	11.40
23	1	20	0.0203	0.0153	11.95	10.25
	2	20	0.0202	0.0152	11.95	10.90
	3	20	0.0201	0.0153	11.95	10.07
	4	20	0.0201	0.0153	12.00	9.62
	5	20	0.0206 *	0.0158 *	12.10 *	10.37
	6	20	0.0200	0.0152	11.95	9.91
24	1	20	0.0205 *	0.0155	12.05	12.40
	2	20	0.0205 *	0.0154	12.00	9.20

* มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์



ภาพที่ 13 ขนาดของเซลล์คุมจากผิวใบของต้นแดงโมที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีน (ต้นควบคุม) กำลังขยาย 1000 เท่า



ภาพที่ 14 ขนาดของเซลล์คุมจากผิวใบของต้นแดงโมที่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีน กำลังขยาย 1000 เท่า

4.3 ความยาวราก

ต้นแดงโมที่รอดชีวิตในทุก treatment มีความยาวรากไม่แตกต่างทางสถิติจากต้นควบคุม โดยมีค่าเฉลี่ยความยาวรากอยู่ระหว่าง 7.56 ถึง 12.5 เซนติเมตร (ตารางที่ 7)

ดังนั้น ต้นแดงโมที่คาดว่าจะเป็นพอลิพลอยด์ จากการศึกษาขนาดของเซลล์คุมและจำนวนคลอโรพลาสต์ พบใน 4 treatment คือ treatment ที่ 13 16 17 และ 20 (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 เปอร์เซนต์ของต้นแดงโมที่คาดว่าจะเป็นพอลิพลอยด์จากการแช่สารละลายโคลชิซีน

treatment	เปอร์เซนต์ต้นพอลิพลอยด์
13 (น้ำกลั่น + โคลชิซีน 0.05 % นาน 12 ชม.)	20.00
16 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.05 % นาน 12 ชม.)	10.00
17 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.05 % นาน 24 ชม.)	20.00
23 (อาหารเหลว MS + โคลชิซีน 0.01 % นาน 24 ชม.)	10.00

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 จำนวนโครโมโซม

4.4.1 จากการทดลองนำปลายรากแดงโมที่ได้จากการเลี้ยงในหลอดทดลองมาย้อมสี โดยใช้เทคนิคการเตรียมเซลล์สำหรับปลายรากธัญพืช ที่ได้จากเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ fixative คือ Carnoy's solution 2 ช่วงเวลาคือ 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง แต่ละช่วงเวลา นำมา hydrolyze ด้วย 1N HCl เป็นเวลาต่าง ๆ กัน คือ 6 8 10 นาที ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส และประมาณ 1 นาที ด้วยการลนไฟหออุ่น จากนั้นจึงนำมาย้อมสีด้วย propionocarmine โดยใช้เวลาต่าง ๆ กันคือ 30 วินาที 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาที โดยนำมาลนไฟหออุ่น รวมเป็นวิธีการในการเตรียมเซลล์ 88 วิธี (ตารางที่ 9) และทั้ง 88 วิธียังได้ทดลองเปลี่ยนสีย้อมจาก propionocarmine มาเป็น acetocarmine และ aceto orcein อีกด้วย พบว่าเซลล์ที่ได้มีการติดสีไม่ดีนัก มองไม่เห็นโครโมโซม และไม่พบการติดสีของนิวเคลียส แต่พบว่ามีการติดสีบ้างจากการแช่ใน fixative 48 ชั่วโมง hydrolyze 6 นาที แล้วย้อมด้วยสี aceto carmine ประมาณ 10 ถึง 15 นาที แต่ไม่ชัดเจนพอที่จะนับจำนวนโครโมโซมได้

4.4.2 จากการทดลองนำปลายรากแดงโมที่ได้จากการเลี้ยงในหลอดทดลองมาย้อมสี โดยใช้เทคนิคการเตรียมเซลล์สำหรับปลายรากพืชทั่วไปโดยการ pretreatment ด้วย α-bromonapthalene 3 ช่วงเวลา คือ 18 20 และ 22 ชั่วโมง จากนั้นนำมา fix ด้วย fixative คือ acetic acid 90 เปอร์เซนต์ นาน 30 นาที แล้วนำมา hydrolyze ด้วย 1N HCl เป็นเวลาต่าง ๆ กัน คือ 6 8 และ10 นาทีในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส จากนั้น จึงนำมาย้อมสีด้วยการแช่ใน Shiff's reagent โดยใช้เวลาต่าง ๆ กัน คือ 30 นาที 1 2 3 4 5 6 12 และ 24 ชั่วโมง รวมเป็นวิธีในการเตรียมเซลล์ 81 วิธี (ตารางที่ 10)พบว่าเซลล์ที่ได้มีการติดสีไม่ดีมองไม่เห็นโครโมโซม และไม่พบการติดสีของนิวเคลียส จึงไม่สามารถนับจำนวนโครโมโซมได้

ดังนั้นจึงยังไม่สามารถหาเปอร์เซนต์ของต้นแดงโมที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซีน ที่เป็นพอลิพลอยด์จากการตรวจนับจำนวนโครโมโซมได้

ตารางที่ 9 สารเคมีและเวลาในการ fixative hydrolyze และ staining ของรากแตงโมจากหลอดทดลอง ด้วยวิธีเตรียมเซลล์เพื่อตรวจนับโครโมโซมในรากธัญพืชที่ได้จากหลอดทดลอง

fixative		hydrolyze		staining	
ชื่อสาร	เวลา (ชม.)	ชื่อสาร	เวลา (นาที)	ชื่อสาร 1/	เวลา (นาที)
carnoy's solution	24	1 N HCl	6	propionocarmine (ลนไฟพออุ่น)	1/2 - 30
		1 N HCl	8	propionocarmine (ลนไฟพออุ่น)	1/2 - 30
		1 N HCl	10	propionocarmine (ลนไฟพออุ่น)	1/2 - 30
		1 N HCl (ลนไฟพออุ่น)	1	propionocarmine (ลนไฟพออุ่น)	1/2 - 30
carnoy's solution	48	1 N HCL	6	propionocarmine (ลนไฟพออุ่น)	1/2 - 30
		1 N HCl	8	propionocarmine (ลนไฟพออุ่น)	1/2 - 30
		1 N HCl	10	propionocarmine (ลนไฟพออุ่น)	1/2 - 30
		1 N HCl (ลนไฟพออุ่น)	1	propionocarmine (ลนไฟพออุ่น)	1/2 - 30

1/ สีที่ใช้ย้อม นอกจาก propionocarmine แล้ว ยังใช้ acetocarmine และ aceto orcein โดยวิธีเดียวกันด้วย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 สารเคมีและเวลาในการ pretreatment fixative hydrolyze และ staining ของราก แดงโมจากหลอดทดลอง ด้วยวิธีเตรียมเซลล์เพื่อตรวจนับโครโมโซมในรากพืชทั่วไป

pretreatment		fixative		hydrolyze		staining	
ชื่อสาร	เวลา (ชม.)	ชื่อสาร	เวลา (นาที)	ชื่อสาร	เวลา (นาที)	ชื่อสาร	เวลา (ชม.)
α-Bromonapthalene	18	acetic acid 90 %	30	1 N HCl	6	Shiff's reagent	1/2 - 24
				1 N HCl	8	Shiff's reagent	1/2 - 24
				1 N HCL	10	Shiff's reagent	1/2 - 24
α-Bromonapthalene	20	acetic acid 90 %	30	1 N HCl	6	Shiff's reagent	1/2 - 24
				1 N HCl	8	Shiff's reagent	1/2 - 24
				1 N HCl	10	Shiff's reagent	1/2 - 24
α-Bromonapthalene	22	acetic acid 90 %	30	1 N HCl	6	Shiff's reagent	1/2 - 24
				1 N HCl	8	Shiff's reagent	1/2 - 24
				1 N HCl	10	Shiff's reagent	1/2 - 24

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย