

ผลการทดลอง



1. การเพาะเลี้ยงเมล็ด

1.1 การชักนำให้เกิดแคลลัส

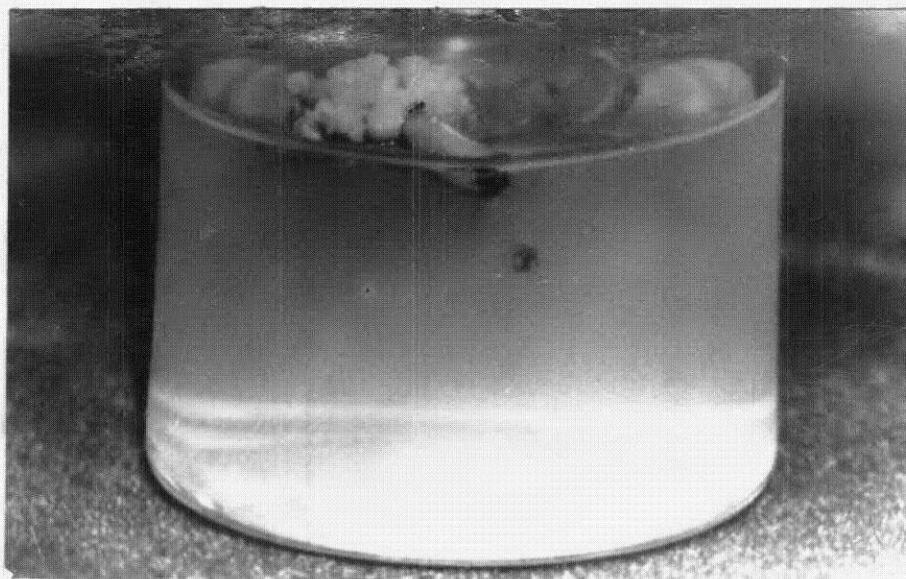
จากการทดลองเป็นเวลานาน 1 เดือน พบว่าเมล็ดจากฝางเพียง 2 เมล็ดจาก 14 เมล็ด ที่สามารถเกิดแคลลัสได้ และมีขนาดประมาณ 2 มม. เกิดตรงบริเวณรูไมโครพาย (micropyle) ต่อมาจะเพิ่มขนาดมากขึ้น จนอายุประมาณ 3 เดือน 3 สัปดาห์ แคลลัสจะมีขนาด 5 มม. ดังภาพที่ 1 ลักษณะของแคลลัสมีสีเหลือง เซลเกาะกันค่อนข้างหลวม แคลลัสหลุดออกจากกันได้ง่าย

ส่วนเมล็ดจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการทดลอง 5 เมล็ดอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ 3 เมล็ด พบว่าเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เมล็ดจะบวมใหญ่ขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่ออายุได้ 1 เดือน จะเกิดแคลลัสตรงบริเวณไมโครพายเช่นกัน มี 1 เมล็ด เกิดราก 1 ราก และต่อมาเกิดยอด 1 ยอด บริเวณรอยต่อระหว่างต้น และรากเกิดแคลลัส ลักษณะของแคลลัสมีสีเขียวอ่อน เซลเกาะกันหลวมกว่าแคลลัสจากฝาง แคลลัสเหล่านี้จะเพิ่มมากขึ้น เมื่อเลี้ยงได้ 2 เดือน จึงย้ายใส่อาหารอื่นต่อไป

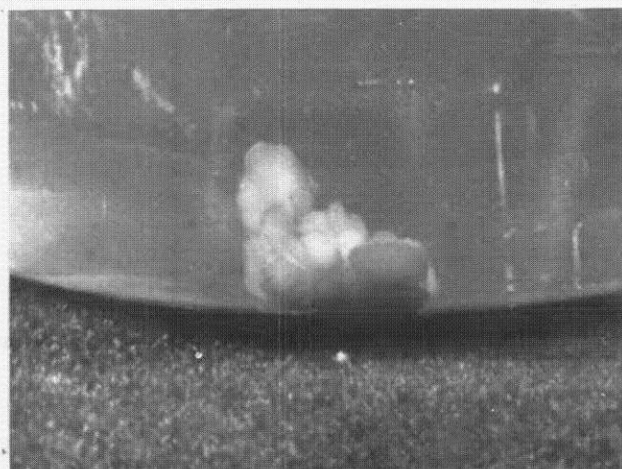
1.2 การเพิ่มปริมาณแคลลัส

1.2.1 อิทธิพลของสภาพอาหารแสงและความเข้มข้นของ BAP

การศึกษาการเพิ่มปริมาณแคลลัสของเมล็ดที่ฝาง โดยศึกษาถึงอิทธิพลของอาหารแข็งอาหารเหลว มีแสง และไม่มีแสง ความเข้มข้นของ BA



ภาพที่ 1 การเกิดแคลลัสของเมล็ดจากฝาง เมื่อเลี้ยงในอาหารแข็ง สูตร PCI-0.08 D1K ในที่มืด ถ่ายภาพเมื่ออายุ 3 เดือน 3 สัปดาห์ ( X 3.71)



ภาพที่ 2 แคลลัสเกิดจากเมล็ดที่ฝาง ในอาหารเหลวสูตร PCSL + BAP 1 ppm. ในที่มืด ( X 3)



ต่าง ๆ กัน สามารถสรุปเป็นเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของแคลลัสทั้งตารางที่ 2  
 ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของแคลลัสเป็นเวลา 1 เดือน เมื่อเลี้ยง  
 ในอาหารสูตร PCSL ที่มี BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ในสภาพ  
 อาหารต่างกันและอยู่ในที่มีแสงและไม่มีแสง

ปริมาณ BAP (ppm)	เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของแคลลัส			
	อาหารเหลว		อาหารแข็ง	
	ไม่มีแสง	มีแสง	ไม่มีแสง	มีแสง
0	98.79	102.80	76.38	85.60
1	213.36	112.47	61.20	73.85
2	142.63	89.16	63.88	81.64
3	124.94	62.25	36.49	49.18

จากการทดลองพบว่า อาหารเหลวสามารถเลี้ยงแคลลัสให้เจริญเติบโตรวดเร็วกว่าอาหารแข็ง เมื่อมีสภาวะแวดล้อมอื่นเหมือนกัน เมื่อพิจารณาคุณลักษณะของแคลลัส พบว่าในอาหารเหลวแคลลัสจะฟูกว่าในอาหารแข็งทั้งภาพที่ 2 อิทธิพลของแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตของแคลลัส พบว่าในอาหารเหลวแสงมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัส เมื่อมี BAP แต่ในอาหารแข็งแสงช่วยเร่งการเจริญเติบโตบ้างเล็กน้อย ลักษณะของแคลลัสในที่มีแสงจะเป็นสีเขียว ในอาหารเหลวเป็นสีเขียวอ่อน

ส่วนในอาหารแข็งมีสีเขียวเข้ม ในที่ไม่มีแสงแคลลัสมีลักษณะเป็นสีเหลือง ทั้งในอาหารเหลวและในอาหารแข็ง เมื่อพิจารณาอิทธิพลของ BAP BAP ที่มีความเข้มข้นน้อยจะช่วยให้การเจริญเติบโต ถ้าความเข้มข้นของ BAP มากขึ้น (BAP = 3 ppm.) ประสิทธิภาพจะลดลง สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของแคลลัส คือ อาหารเหลว PCSL + BAP 1 ppm. เลี้ยงในที่มืด สามารถมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตสูงสุดคือ 213.36%

### 1.2.2 อิทธิพลของน้ำตาล

ผลการทดลองปรากฏตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของแคลลัสในช่วง 1 เดือน เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร PCSL + BAP 1 ppm. และเติมน้ำตาล กลูโคสหรือซูโครส 2% เมื่อเลี้ยงในที่มืด

ชนิดของน้ำตาล	เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโต
กลูโคส 2%	247.49
ซูโครส 2%	277.95

จากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเลี้ยงแคลลัสในอาหารสูตร PCSL ใส่ซูโครส 2% แคลลัสสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าใส่กลูโคส 2% เมื่อเติม BAP 1 ppm. และเลี้ยงไว้ในที่มืดเหมือนกัน



### 1.3 การเกิดคนและราก

จากการทดลองพบว่า แคลลัสที่นำมาจากที่มีเนื้อเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1N1K ไว้ในที่ที่มีแสงประมาณ 1 - 2 สัปดาห์ จะเกิดสีเขียวและค่อย ๆ เพิ่มขึ้น ลักษณะแคลลัส มีเซลล์เกาะกันค่อนข้างแน่น แต่แคลลัสยังคงหลุดออกจากกันได้ง่าย เมื่อทำการเปลี่ยนอาหาร ส่วนแคลลัสที่อยู่ในที่มีแสง ซึ่งมีสีเขียวอยู่แล้ว จะไม่เกิดการเปลี่ยนสี เมื่อเลี้ยงต่อไปประมาณ 1 เดือน บางหลอดทดลองแคลลัสมีลักษณะคล้าย จะเกิดคน เมื่อเลี้ยงต่อไปอีกจะเห็นเป็นต้นชัดเจน นอกจากนี้ปริมาณแคลลัสก็จะเพิ่มขึ้นด้วย ลักษณะของแคลลัสที่เกิดใหม่เซลล์เกาะกันหลวม ๆ หลุดออกจากกันได้ง่าย ส่วนแคลลัสที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้น จะมีลักษณะเป็นก้อนกลมเล็ก ๆ ผิวเรียบ และค่อย ๆ เกิดเป็นต้นในเวลาต่อมา ดังแสดงในภาพที่ 3 เมื่อต้นมีขนาดโตมากขึ้น จะเกิดรากตรงบริเวณข้อและที่โคนติดกับแคลลัส ซึ่งใช้เวลาประมาณ 4 เดือน (ดังภาพที่ 4 และ 5)



ภาพที่ 3 การเพิ่มปริมาณแคลลัสและการเกิดคนเมื่อเลี้ยงแคลลัสจากเมล็ดที่ฝังในอาหารสูตร MS-1N1K เป็นเวลา 7 เดือน (x 1.33)  
( C = แคลลัส, Sh = ต้น )



ภาพที่ 4 การเกิดต้นและรากเมื่อเลี้ยงแคลลัสจากเมล็ดจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในอาหารสูตร MS-1N1K เป็นเวลา 7 เดือน (sh = ต้น, R = ราก) (x 1.75)



ภาพที่ 5 การเกิดต้นและรากเมื่อเลี้ยงแคลลัสจากเมล็ดจากฝาง ในอาหารสูตร MS-1N1K ในที่มืด เป็นเวลา 7 เดือน (x 1.33)



## 2. การเพาะเลี้ยงอวัยวะส่วนต่าง ๆ จากต้นอ่อน

จากการทดลองเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ จากต้นอ่อนพันธุ์สาวาย ( $H_{18}$ ) และพันธุ์ไทย ( $n_7$ ) เป็นเวลา 7 เดือน ในอาหารสูตรต่าง ๆ การเจริญเติบโต และเปลี่ยนแปลงมี 3 แบบ

### 2.1 การเกิดแคลลัสจากอวัยวะต่าง ๆ

อวัยวะที่ทดลองมี ใบ ก้านใบ ช่อ และปลายราก มีบางอวัยวะเท่านั้นที่สามารถเกิดแคลลัสได้ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสจากอวัยวะส่วนต่าง ๆ จากต้นอ่อนในอาหารสูตรต่าง ๆ กัน

อาหาร	เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส			
	ใบ	ก้านใบ	ช่อ	ปลายราก
MS	0	0	0	0
MS-1D1K	0	0	0	0
MS-1N1K	80	100	100	0

จากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าอวัยวะที่สามารถสร้างแคลลัสได้ คือ ใบ ก้านใบ และช่อ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1N1K ตำแหน่งที่เกิด

แคลลัสในใบและก้านใบเหมือนกัน คือ เกิดตรงบริเวณรอยตัดและที่ผิว แต่ใบจะเกิดแคลลัสได้เร็วกว่าก้านใบ โดยจะเกิดแคลลัสเมื่อเลี้ยงใต้น้ำประมาณหนึ่งเดือน โดยตรงบริเวณรอยตัดและที่ผิวจะบวมขึ้นและเกิดเป็นแคลลัส มีสีเหลือง ขนาดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงได้ 3 เดือนจะเริ่มเปลี่ยนเป็นรากเป็นต้น ก้านใบจะเกิดแคลลัสช้ากว่าใบ และปริมาณแคลลัสน้อยกว่าโดยจะเห็นแคลลัสชัดเจนเมื่อเลี้ยงใต้น้ำ 3 เดือน ต่อมาขนาดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่านั้น ก็เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นและรากเมื่อเลี้ยงใต้น้ำ 5 เดือน ส่วนข้อจะเกิดเป็นต้นและรากก่อนจึงเกิดแคลลัสขึ้นที่บริเวณข้อเค็มตรงโคนต้นที่เกิดใหม่และค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นต้นและรากในเวลาต่อมา ส่วนปลายรากไม่สามารถเกิดแคลลัสเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1D1K ได้ประมาณ 1 เดือนก็ตาย แต่ในอาหารสูตร MS-1N1K จะมีชีวิตอยู่จนอายุ 7 เดือน รากยาวขึ้นเล็กน้อย และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นแคลลัสต้นหรือรากเลย

## 2.2 การเกิดต้นและรากโดยตรง

จากการทดลองพบว่า ข้อ เท่านั้นที่สามารถเกิดต้นและรากได้โดยตรงในอาหารทุกสูตรที่ทำการศึกษา ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การเกิดต้นและรากโดยตรงจากอวัยวะต่าง ๆ ที่ทำการทดลองในอาหารสูตรต่าง ๆ กัน

อาหาร	เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นและรากโดยตรง			
	ใบ	ก้านใบ	ข้อ	ปลายราก
MS	0	0	100	0
MS-1D1K	0	0	100	0
MS-1N1K	0	0	100	0



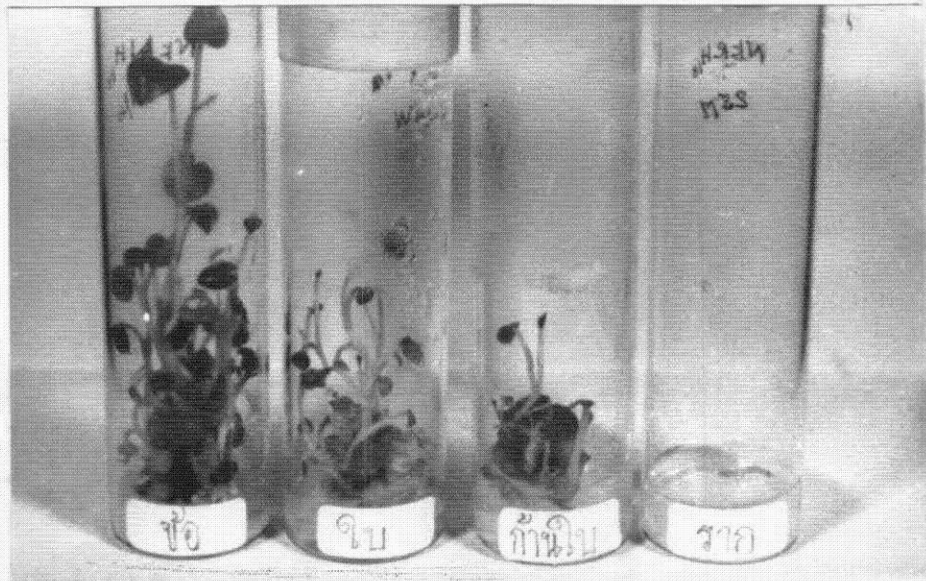
พบว่า ใบ ก้านใบ และปลายราก ไม่สามารถเกิดต้นและรากได้ในอาหารทุกสูตรที่ทดลอง มีเพียงข้อเท่านั้นสามารถเกิดเป็นต้นและรากได้โดยตรงถึง 100% ในอาหารทุกสูตร แต่ปริมาณต้นและรากที่เกิดจากข้อแตกต่างกันคือ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS อย่างเดียวประมาณ 1 เดือน ตาจะเจริญเป็นคูนขนาด 1 มม. และเจริญเติบโตไปเป็นต้น โดยเกิด 1 ต้น ต่อ 1 ข้อ เท่านั้น เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1B1K ตาจะเจริญขึ้นจากข้อมากกว่า 1 ตาในเดือนแรก และเจริญเติบโตขึ้นเป็นต้นเป็นรากได้หลายต้น และเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1N1K พบว่าในเดือนแรกเกิดตาขึ้นหลายตาใน 1 ข้อ ตาเหล่านั้นเจริญเป็นต้นและรากในขณะเดียวกัน จะเกิดการสร้างแคลลัสขึ้นตรงบริเวณข้อเค็ม และแคลลัสเหล่านั้นจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นและรากเพิ่มปริมาณมากขึ้น

### 2.3 การเกิดต้นและรากจากแคลลัส

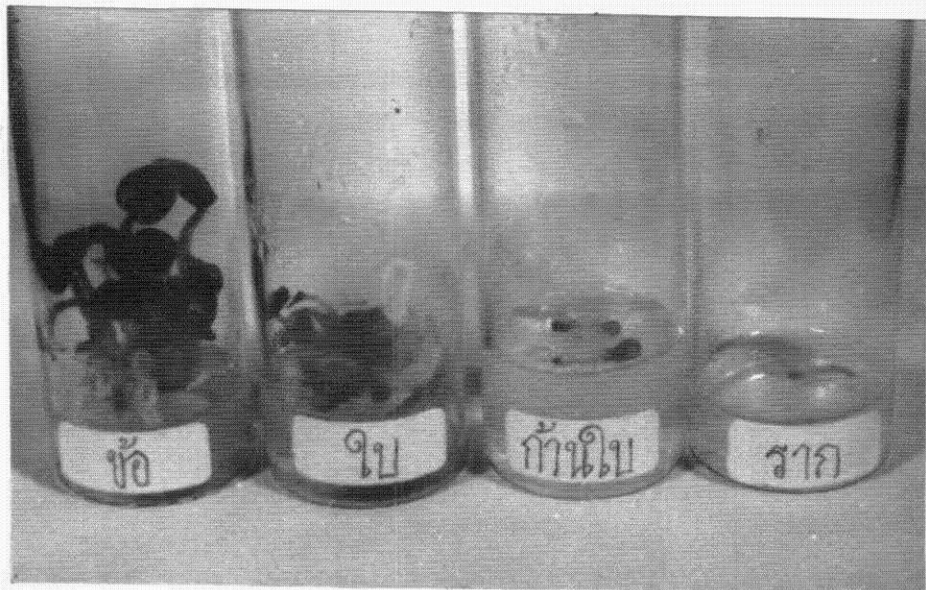
จากตารางที่ 4 อวัยวะต่าง ๆ มี ใบ ก้านใบ และข้อ สามารถเกิดแคลลัสได้ในอาหารสูตร MS-1N1K และแคลลัสเหล่านั้นจะเพิ่มขนาดขึ้น ต่อมา จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นเป็นรากในเวลาต่อไป ดังภาพที่ 7, 8



ภาพที่ 6 ต้นอ่อนหน้าวัวพันธุ์ไทย ( $n_7$ ) และพันธุ์ฮาวาย ( $H_{18}$ ) ที่นำมาทดลอง (X 1)



ภาพที่ 7 เปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ จากต้นอ่อนพันธุ์ฮาวาย H<sub>18</sub> ในอาหารสูตร MS-1N1K ให้เกิดเป็นต้นและราก ถ่ายภาพเมื่ออายุ 7 เดือน (X 1)



ภาพที่ 8 เปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ จากต้นอ่อนพันธุ์ไทย (n<sub>7</sub>) ในอาหารสูตร MS-1N1K ให้เกิดเป็นต้นและราก ถ่ายภาพเมื่ออายุ 6 เดือน 2 สัปดาห์ (X 1)



### 3. การเพาะเลี้ยงอวัยวะส่วนต่าง ๆ จากคนที่ปลูกในกระถาง

#### 3.1 การศึกษาหาอวัยวะที่ปลูกเชื้อ

เมื่อเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ ในอาหาร MS เป็นเวลา 1 - 2 สัปดาห์ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 จำนวนชิ้นที่ทดลองทั้งหมดต่อต้นและ เปอร์เซ็นต์ของอวัยวะที่ปลูกเชื้อ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 1 - 2 สัปดาห์

อวัยวะต่าง ๆ	ใบอ่อน	ก้านใบอ่อน	จานรองคอกอ่อน	ก้านช่อกอกอ่อน	ช่อกอกอ่อน	ตา	ปลายราก
จำนวนชิ้นที่ทดลอง	159	11	15	5	3	7	7
เปอร์เซ็นต์ปลูกเชื้อ	82.34	63.63	86.67	80.00	0	0	42.86

จากตารางที่ 6 ใบอ่อนมีปริมาณที่นำมาทดลองมากที่สุด รองลงมาคือ จานรองคอกอ่อน ก้านใบอ่อน นอกนั้นมีปริมาณน้อย ส่วนเปอร์เซ็นต์ปลูกเชื้อ ในจานรองคอกอ่อน ใบอ่อน ก้านช่อกอกอ่อน มีปริมาณสูงถึง 80% ขึ้นไป ส่วนก้านใบอ่อน อยู่ในระดับปานกลาง 63.63% รากอยู่ในระดับต่ำคือ 42.86% ส่วนช่อกอกอ่อน และตามีเปอร์เซ็นต์ปลูกเชื้อเป็น 0 ซึ่งการเกิดเชื้อจะสามารถสังเกตได้ภายในสัปดาห์แรกของการทดลองเชื้อที่เกิดจะเกิดจากแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่และราเป็นส่วนน้อย อวัยวะที่เหมาะสมในการศึกษาต่อไป คือ ใบ เพราะอยู่ในสภาพปลูกเชื้อได้เป็นจำนวนมาก

3.2 ความสามารถในการเกิดแคลลัสจากอวัยวะต่าง ๆ

เมื่อเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ ในอาหารสูตร MS-1N1K ในสภาพที่มีแสง ปรากฏผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 9 และในอาหารสูตร MS-1D1B ในที่มีค ปรากฏผลดังแสดงในภาพที่ 10

จากภาพที่ 9 พบว่าทุกอวัยวะที่ใช้ในการทดลองไม่สามารถเกิดแคลลัสได้ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1N1K ใ้รับแสง การเปลี่ยนแปลงของอวัยวะมี ดังนี้

ใบอ่อน มีสีเขียวเข้มขึ้น ขนาดขยายเล็กน้อย มีเพียง 1 ชิ้นใน 8 ชิ้น ที่เกิดแคลลัสเพียง 1 จุด ขนาดเล็กมากและตายไป ส่วนใบที่เห็นในภาพที่ 9 จะมี ลักษณะใบบาง สีเขียวเข้ม รอยค้ำมีสีดำ และคงสภาพนี้ไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง

ก้านใบอ่อน และก้านช่อกอกอ่อน รอยค้ำจะขยายเล็กน้อย มีสีดำ และ ขยายมากขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

จานรองช่อกอกอ่อน สีแดงจะค่อย ๆ เข้มขึ้น ขนาดขยายใหญ่เล็กน้อย รอยค้ำมีสีดำ บางชิ้นกลายเป็นสีดำทั้งชิ้น เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ปลายราก ตายเมื่อเลี้ยงได้ประมาณ 1 เดือน ตรงโคนจะเริ่มค้ำและ ขยายมากขึ้นจนทั่วทั้งชิ้น และตายในที่สุด

ใบ	ก้านใบ	จานรองช่อก	ก้านช่อก	ราก
				



ภาพที่ 9 อวัยวะต่าง ๆ ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS-1N1K ในสภาพ ที่มีแสงเป็นเวลา 3 เดือน 3 สัปดาห์ (X 1)





ภาพที่ 10 อวัยวะต่าง ๆ ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS-1D1B ในที่มืด เป็นเวลานาน 3 เดือน 3 สัปดาห์ ( X 1 )

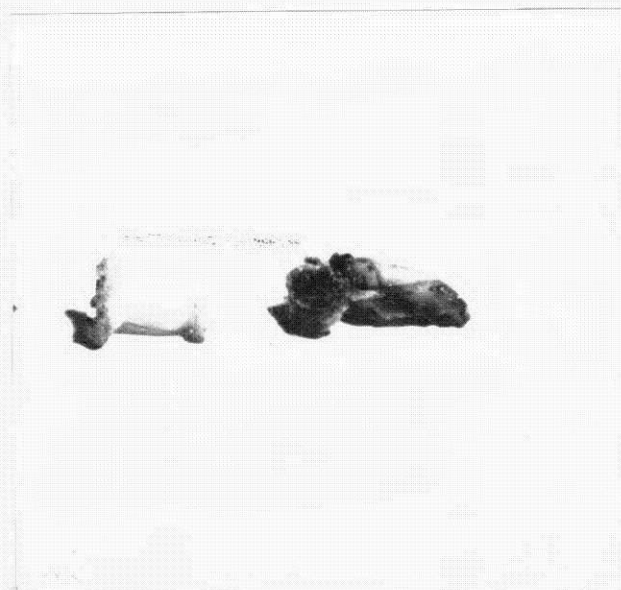
จากภาพที่ 10 พบว่าใบ ก้านใบ และก้านช็อคอก สามารถเกิดแคลลัส ได้มีการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะต่าง ๆ ดังนี้

ใบอ่อน ขยายใหญ่ขึ้นตรงบริเวณรอยตัดจะเกิดแคลลัส (ภาพที่ 11) เมื่อเลี้ยงได้นานประมาณ 1 เดือน จะเกิดแคลลัสประมาณ 57.17% และต่อมาจะเกิดแคลลัสเพิ่มขึ้นอีกเป็น 100% เมื่ออายุได้ 3 เดือน ลักษณะแคลลัสจะมีสีเหลือง เซลเกาะกันอย่างหลวม ๆ ลักษณะชุ่มน้ำ เมื่อเลี้ยงต่อไปแคลลัสบางชั้นกลายเป็นสีน้ำตาล รุกตามไปทั่วทั้งชิ้น และตายไป ส่วนชิ้นที่เหลือแคลลัสไม่เพิ่มปริมาณขึ้น (ภาพที่ 11)

ก้านใบอ่อน และก้านช็อคอกอ่อน พบว่าบริเวณรอยตัดขยายใหญ่ขึ้น บางชิ้นจะเกิดเซลล์เพิ่มขึ้น แต่เซลล์เหล่านั้นจะกลายเป็นสีน้ำตาล ไม่เพิ่มขนาดจนเห็น เป็นก้อนแคลลัสชัดเจน และบริเวณรอยตัดจะกลายเป็นสีน้ำตาล เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

จานรองคอกอ่อน สีแดงจะค่อย ๆ จางลงจนเป็นสีชมพูเกือบขาว  
สภาพของเนื้อเยื่อยังคงสด สภาพไขวบน้ำ ขนาดขยายใหญ่ปานกลาง บริเวณรอยตัดเป็น  
สีค้ำ และบริเวณที่สัมผัสกับอาหารจะเป็นสีเหลือง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ปลาบรอก จะเริ่มแสดงอาการตายเมื่อเลี้ยงไคร่นาน 1 เดือน โดยแสดงผล  
เช่นเดียวกับเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1N1K และตายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง



ภาพที่ 11 การเกิดแคลลัสจากไขว่อนพันธุ์วงสมรรถของบริเวณรอยตัด แคลลัส  
ที่ยังมีชีวิตอยู่ (ซ้าย) และแคลลัสที่ตายแล้ว (ขวา) เมื่อเลี้ยงใน  
อาหารสูตร MS-1D1B ในที่มืด ( X 1.5)

### 3.3 การศึกษานาสุครที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากไขว่อน

ผลการทดลองปรากฏในภาพที่ 9 และภาพที่ 10 พบว่าสูตรอาหาร  
MS-1N1K ในสภาพมีแสงไม่สามารถชักนำให้ไขว่อนเกิดแคลลัสทั้งภาพที่ 9 แต่  
สูตรอาหาร MS-1D1B ในสภาพมืดสามารถชักนำให้ไขว่อนเกิดแคลลัสได้ เมื่อ  
เลี้ยงไคร่นานประมาณ 1 เดือน จะเกิดแคลลัสได้ 57.17% และจะเพิ่มมากขึ้นจนถึง



100% เมื่อเลี้ยงไคนานประมาณ 3 เดือน เมื่อสิ้นสุดการทดลองแคลลัสไม่เพิ่มปริมาณหรือเพิ่มปริมาณน้อยมาก

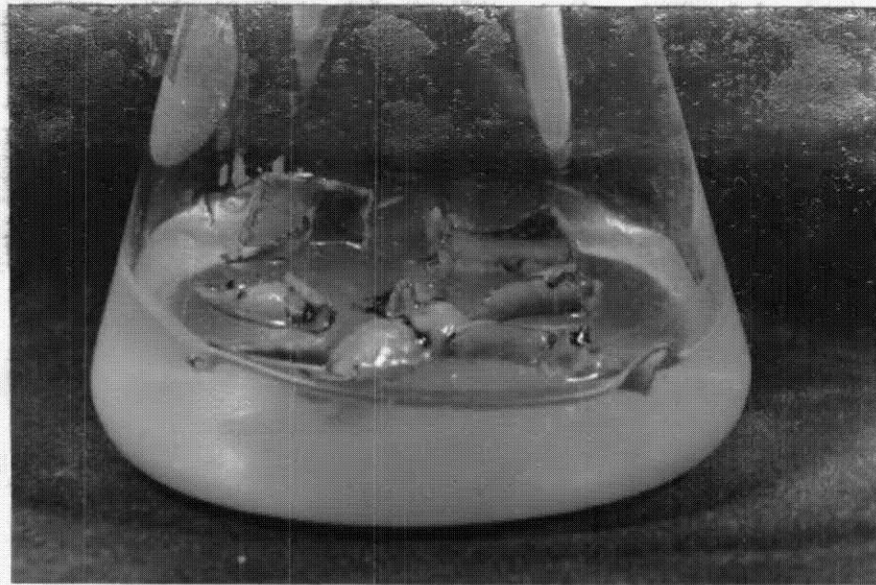
### 3.4 ความสามารถในการสร้างแคลลัสจากใบอ่อนหน้าวัวพันธุ์ต่าง ๆ

เมื่อนำหน้าวัว พันธุ์ต่าง ๆ มาทดลองทั้งหมด 17 พันธุ์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 7 และภาพที่ 12, 13

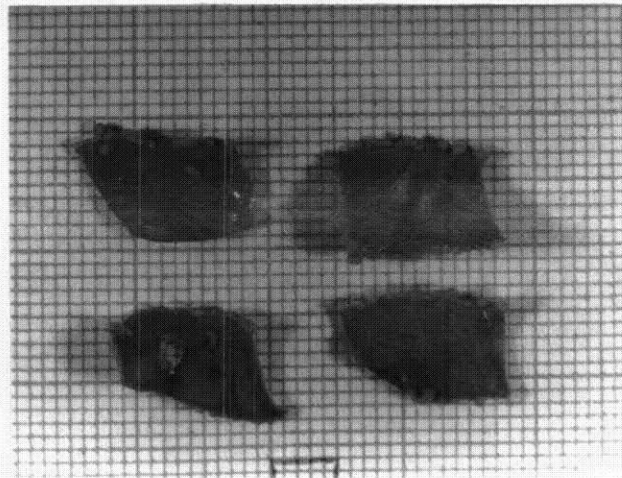
ตารางที่ 7 เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสของหน้าวัวพันธุ์ต่าง ๆ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1D1B ในที่มืดเป็นเวลา 2 - 3 เดือน

หน้าวัวพันธุ์ต่าง ๆ				เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส
ดวงสมร	Nitta	n <sub>68</sub>	T <sub>22</sub>	100
ณกามาศ	marian seefurth	T <sub>3</sub>	T <sub>57</sub>	
จักรพรรดิ	Hawaii - Orange - 139	T <sub>7</sub>		
T <sub>4</sub>	n <sub>2</sub>	Kaumana		80 - 50
การาทอง				10 - 50
n <sub>6</sub>				0

จากตารางที่ 7 พบว่าความรวดเร็วในการเกิดแคลลัส และปริมาณมากน้อยต่างกันดังนี้



ภาพที่ 12 การเกิดแคดส์จากไบอ่อนพันธุ์ *Marian seefurth* เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1D1B ในที่มืด เป็นเวลานาน 2 เดือน 3 สัปดาห์ (X 1.5)



ภาพที่ 13 แคดส์จากไบอ่อนพันธุ์ *กามาต* เกิดตรงบริเวณรอยตัด เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1D1B ในที่มืด นาน 2 เดือน 3 สัปดาห์ (X 1.6)



### 3.4.1 พันธุ์ที่สามารถเกิดแคลลัสได้ 100%

พันธุ์กามาศ ดวงสมร Marian seefurth Harwaii-Orange-139 T<sub>22</sub> T<sub>57</sub> ต<sub>2</sub> เกิดแคลลัสได้เร็ว สามารถเกิดแคลลัสและเห็นไคซึก เมื่อเลี้ยงไประมาณ 1 เดือน และแคลลัสเพิ่มปริมาณมากขึ้นเมื่อเวลา 2 - 3 เดือน สามารถชักนำไปศึกษาการเพิ่มปริมาณแคลลัสได้

พันธุ์ T<sub>7</sub> T<sub>3</sub> จักรพรรคี เกิดแคลลัสไ้รวดเร็วก่อน แต่ปริมาณแคลลัสมีน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ที่กล่าวมาแล้ว

พันธุ์ n<sub>68</sub> และ Nitta เกิดแคลลัสไ้รวดเร็วก่อน แต่แคลลัสไม่เพิ่มปริมาณและตายในที่สุด

### 3.4.2 พันธุ์ที่สามารถเกิดแคลลัสได้ 80 - 50%

พันธุ์ n<sub>2</sub> T<sub>4</sub> และ Kaumana สามารถเกิดแคลลัสในเวลาใกล้เคียงกันกับพันธุ์ต่าง ๆ ที่เกิดแคลลัสได้ 100% และขนาดของแคลลัสพอ ๆ กับพันธุ์ T<sub>7</sub>

### 3.4.3 พันธุ์ที่สามารถเกิดแคลลัสได้ 10 - 5%

พันธุ์คาราทอง สามารถเจริญไ้รวดเร็วก่อน เพิ่มปริมาณแคลลัสไ้มากพอกับดวงสมร

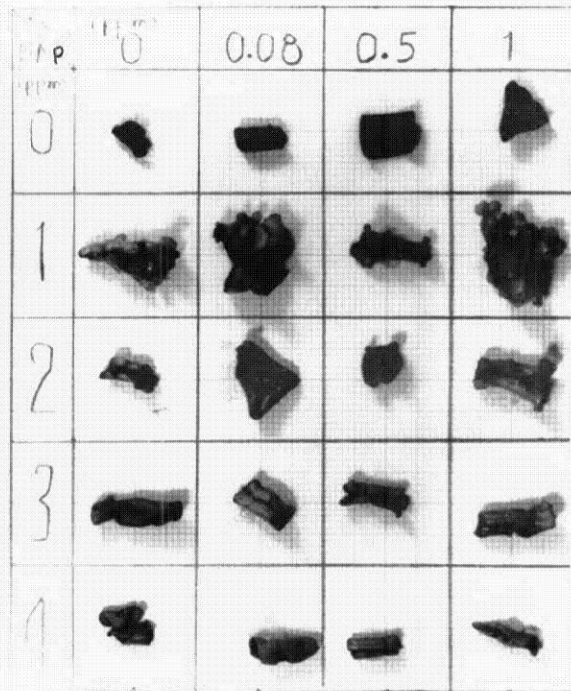
### 3.4.4 พันธุ์ที่ไม่สามารถเกิดแคลลัสได้

n<sub>6</sub> ไม่สามารถเกิดแคลลัสไ้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยขึ้นไขขยายใหญ่ขึ้นกว่าเดิมมากประมาณ 2 เท่า ลักษณะไขจะสด สีเขียวอ่อน แต่มริเวณรอยตัดมีสีดำ และคงอยู่ในสภาพนี้ตลอด หลังจากสิ้นสุดการทดลองไ้เวลา 3 เดือน

### 3.5 ศึกษาอิทธิพลของ 2, 4-D และ BAP ในการเกิดแคลลัส

#### 3.5.1 อาหารสูตร MS

เมื่อเลี้ยงใบอ่อนหน้าวัวพันธุ์ดวงสมรในอาหารสูตร MS ที่มี 2, 4-D และ BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ผลการทดลองปรากฏในภาพที่ 14



ภาพที่ 14 การเกิดแคลลัสจากใบอ่อนหน้าวัวพันธุ์ดวงสมร เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2, 4-D และ BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ในสภาพที่มีดัก ถ่ายภาพเมื่ออายุ 3 เดือน 1 สัปดาห์ ( X 0.8)

เมื่อใช้อาหารสูตร MS โดยไม่มี 2, 4-D หรือ BAP เลย ปรากฏว่าไม่สามารถเกิดแคลลัสได้ เพียงแต่ใบขยายใหญ่เล็กน้อย สีใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจะตายในที่สุด



เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D 0.08, 0.5, 1 ppm และ BAP 0 ppm จะแสดงลักษณะคล้ายกันและคล้ายกับสูตรอาหารที่ไม่มี 2, 4-D และ BAP ค่าย คือ ใบขยายใหญ่เล็กน้อย สีใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง กลายเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด ลักษณะใบบาง ไม่เกิดแคลลัส

เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D 0, 0.08, 0.5, 1 ppm และ BAP 1 ppm สามารถทำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าเมื่อใช้ BAP ความเข้มข้นอื่น ใบขยายใหญ่ขึ้น มีสีเขียวอ่อน ลักษณะใบหนาสด และแคลลัสเพิ่มปริมาณมากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D มากขึ้น สามารถเกิดแคลลัสได้ 100%, 62.5%, 83.35% และ 100% ตามลำดับ และความเข้มข้นของ 2, 4-D 1 ppm, BAP 1 ppm สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด

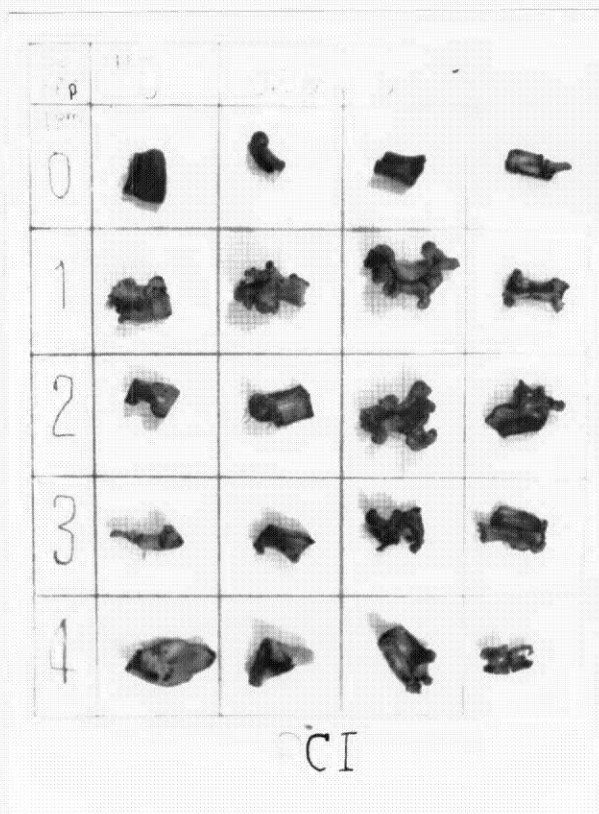
เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D 0, 0.08, 0.5, 1 ppm และ BAP 2 ppm ความสามารถทำให้เกิดแคลลัสได้ แต่มีปริมาณน้อยกว่า เมื่อใช้ BAP 1 ppm ลักษณะของใบคล้ายกันคือ ใบขยายใหญ่ขึ้น มีสีเขียวอ่อน ลักษณะใบหนาเกิดแคลลัสในเปอร์เซ็นต์ต่าง ๆ กัน คือ 66.67%, 50.00%, 50.00%, 50.00% ตามลำดับ และปริมาณแคลลัสจะมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D มากขึ้น

เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D 0, 0.08, 0.5, 1 ppm และ BAP 3 ppm ใบขยายใหญ่ขึ้น เป็นสีเขียวอ่อน ลักษณะใบบาง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสดังนี้ 0%, 50%, 75%, 16.66% ตามลำดับ ปริมาณแคลลัสที่เกิดจะมากขึ้นเมื่อ 2, 4-D มากขึ้น แต่น้อยกว่าเมื่อใช้ BAP 2 ppm

เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D 0, 0.08, 0.5, 1 ppm และ BAP 4 ppm ใบขนาดเล็ก สีเขียว ลักษณะใบบาง เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมีดังนี้ 0%, 25%, 12.5%, 37.5% ตามลำดับ ปริมาณแคลลัสน้อยมาก เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของ BAP 3 ppm

### 3.5.2 อาหารสูตร PCI

เมื่อเลี้ยงไบโออนหน้าวัวพันธุ์ดวงสมร ในอาหารสูตร PCI ที่มีความเข้มข้นของ 2, 4-D และ BAP ต่าง ๆ กัน ผลปรากฏในภาพที่ 15



ภาพที่ 15

การเกิดแคลลัสจากไบโออนหน้าวัวพันธุ์ดวงสมร เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร PCI ที่มีความเข้มข้นของ 2, 4-D และ BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาพที่มีค ถ่ายภาพเมื่ออายุ 2 เดือน 3 สัปดาห์ (x 0.8)



เมื่อให้อาหารสูตร PCI ที่ไม่มี 2, 4-D และ BAP โดย ไขชยายใหญ่เล็กน้อย สีไข่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลักษณะไขบางไม่เกิดแคลลัสและตายในที่สุก

เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D 0, 0.08, 0.5, 1 ppm และ BAP 0 ppm ลักษณะเช่นเดียวกับไม่มี 2, 4-D คือ ไขชยายใหญ่เล็กน้อย สีไข่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลักษณะไขบาง ไม่เกิดแคลลัสและบางชิ้นตายไป พบว่าเมื่อมี 2, 4-D มากขึ้นปริมาณการตายน้อยลง

เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D 0, 0.08, 0.5, 1 ppm และ BAP 1 ppm ลักษณะไขชยายใหญ่มากขึ้น สีไข่เป็นสีเขียวอ่อน ลักษณะไขหนา เกิดแคลลัสทุกความเข้มข้น เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมีดังนี้ คือ 40%, 70%, 87.5%, 75% ตามลำดับ ปริมาณแคลลัสจะเพิ่มขึ้น เมื่อ 2, 4-D มากขึ้น จนถึง 0.5 ppm และจะลดลงเมื่อความเข้มข้น 1 ppm

เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D 0, 0.08, 0.5, 1 ppm และ BAP 2 ppm ลักษณะของไขชยายใหญ่มากขึ้น สีไข่เป็นสีเขียวอ่อน ลักษณะไขหนา เกิดแคลลัสทุกความเข้มข้น เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมีดังนี้ คือ 50%, 66.67%, 87.50%, 37.50% ตามลำดับ ปริมาณแคลลัสจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อ 2, 4-D มีปริมาณมากขึ้น ถึง 0.5 ppm และจะลดลงเมื่อความเข้มข้นเพิ่มเป็น 1 ppm

เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D 0, 0.08, 0.5, 1 ppm และ BAP 3 ppm ลักษณะไขชยายใหญ่เล็กน้อย สีไข่เริ่มเหลือง ลักษณะไขบาง เกิดแคลลัสทุกความเข้มข้น เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมีดังนี้ คือ 85%, 37%, 75%, 50% ตามลำดับ ปริมาณแคลลัสจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อ 2, 4-D เพิ่มขึ้น ถึง 0.5% และปริมาณแคลลัสจะลดลงเมื่อเพิ่มเป็น 1 ppm

เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D 0, 0.08, 0.5, 1 ppm และ BAP 4 ppm ลักษณะไขชยายใหญ่มากขึ้น สีไข่เปลี่ยนเป็นสีเหลือง เกิดแคลลัสทุกความเข้มข้น เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมีดังนี้ 50%, 25%, 50%, 66.75% ตามลำดับ

ปริมาณแคลลัสจะเพิ่มมากขึ้น เมื่อ 2, 4-D เพิ่มขึ้นถึง 0.5 ppm และจะลดลง  
เมื่อเพิ่มเป็น 1 ppm

### 3.6 ศึกษาอิทธิพลของ BAP และชนิดของน้ำศาลในการเพิ่มปริมาณแคลลัส

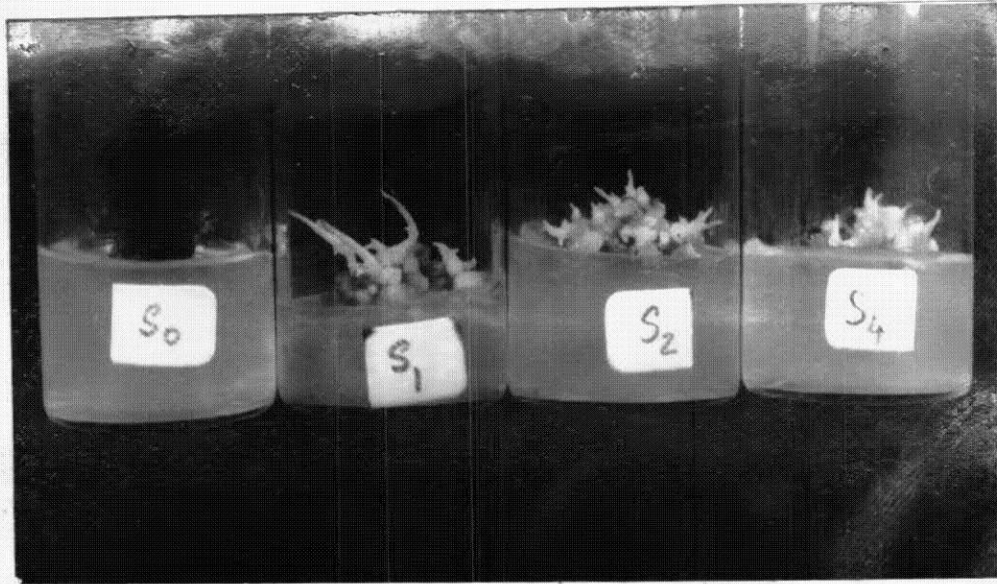
การเลี้ยงแคลลัสที่เกิดจากใบอ่อนพันธุ์กามาศในอาหารสูตร PCSS  
ใส่กลูโคส หรือ ซูโครส 2% และมี BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เก็บไว้ในที่มืด  
เป็นเวลา 3 เดือน 2 สัปดาห์ แสดงผลการทดลองโดยภาพที่ 16, 17



ภาพที่ 16

ผลการทดลองเมื่อเลี้ยงแคลลัสที่เกิดจากใบอ่อนพันธุ์กามาศ  
ในอาหารสูตร PCSS ใส่กลูโคส 2% และ BAP ความเข้มข้น  
0, 1, 2, 4 ppm ตามลำดับ ในที่มืด ถ่ายภาพเมื่อ  
อายุ 3 เดือน 2 สัปดาห์ ( X 1.4)





ภาพที่ 17 ผลการทดลองเมื่อเลี้ยงแคลดัสที่เกิดจากไบโอฟิล์มธรรมชาติ  
ในอาหารสูตร PCSS ใส่ ซูโครส 2% และมี BAP ความ  
เข้มข้น 0, 1, 2, 4 ppm ตามลำดับ ในที่มืด ถ่ายภาพ  
เมื่ออายุ 3 เดือน 2 สัปดาห์ ( X 1.4)

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างแคลดัสที่เลี้ยงในอาหารสูตร PCSS ใส่  
กลูโคส 2% (PCSS-G) และใส่ซูโครส 2% (PCSS-S) พบว่าแคลดัสที่  
เลี้ยงในอาหารสูตร PCSS-S จะเจริญเร็วกว่าแคลดัสที่เลี้ยงในอาหารสูตร PCSS-G  
ความแตกต่างกันในการเจริญเติบโตของแคลดัส ที่เลี้ยงในอาหารที่มี BAP ความ  
เข้มข้นต่าง ๆ กันนั้นจะปรากฏชัดในอาหารสูตร PCSS-G มากกว่าในอาหารสูตร  
PCSS-S

ในอาหารสูตร PCSS-G ที่มีความเข้มข้นของ BAP ต่าง ๆ กันดังนี้  
BAP 0 ppm แคลดัสไม่เพิ่มปริมาณไบโอฟิล์มและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล  
แคลดัสมีสีเหลืองมากขึ้น และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเช่นกัน

BAP 1 ppm แคลลัสเจอร์มิโตมากที่สุด แคลลัสมีลักษณะ เป็นก้อน สีเหลืองค่อนข้างขาว เซลเกาะกันแน่น ผิวของแคลลัส เรียบ

BAP 2 ppm แคลลัส เจริญเติบโตน้อย มีสีเหลืองค่อนข้างขาว เซลเกาะกันอย่างหลวม ๆ ลักษณะแคลลัสประกอบด้วยก้อนกลมเล็ก ๆ รวมเป็นก้อนเดียวกัน ต่อมาก้อนเล็ก ๆ เหล่านี้จะเปลี่ยนแปลงเป็นต้น โดยเกิดใบอ่อนขึ้นที่ ส่วนยอดของก้อนกลมเหล่านั้น การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เกิดเมื่อปลายเดือนที่ 2 ต้นที่เกิดขึ้นเจริญเติบโตยืดยาวอย่างเห็นได้ชัดมีปริมาณต้นน้อย

BAP 4 ppm แคลลัสเจริญเติบโตช้าในระยะ 2 เดือนแรก จะเพิ่มปริมาณรวดเร็วในเดือนที่ 3 แคลลัสมีสีเหลืองอ่อน เซลเกาะกันอย่างหลวม ๆ ชุ่มน้ำ ผิวของแคลลัสขรุขระคล้ายกับจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นยอดในปริมาณมาก

ในอาหารสูตร PCSS-S ที่มีความเข้มข้นของ BAP ต่าง ๆ กัน ดังนี้

BAP 0 ppm แคลลัสไม่เพิ่มปริมาณ ใบเหลือง และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แคลลัสมีสีเหลืองมากขึ้นและ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

BAP 1, 2, 4 ppm แคลลัสมีสีเหลืองค่อนข้างขาว เซลเกาะกันอย่างหลวม ๆ ลักษณะแคลลัสประกอบด้วยก้อนกลมเล็ก ๆ รวมเป็นกลุ่มเดียวกัน การเจริญเติบโตของ แคลลัสจะเพิ่มจำนวนก้อนเล็ก ๆ มากขึ้น ก้อนแคลลัสเหล่านั้นเจริญเติบโตใหญ่ขึ้น ประมาณ 1 - 2 มม. จะหยุดการเพิ่มขนาดและเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยยอดจะแหลมขึ้นเจริญเป็นต้นเห็นใบอ่อนชัดเจน ปริมาณแคลลัสที่เพิ่มขึ้น ใน 2 ppm จะมีปริมาณมากที่สุดรองลงมา คือ 1 และ 4 ppm ตามลำดับ ปริมาณต้นที่เกิดขึ้นใน 2 ppm มากที่สุดของรองลงมาคือ 4 ppm และ 1 ppm ตามลำดับ



### 3.7 ความสามารถในการเพิ่มปริมาณแคลลัสของหน้าวัวพันธุ์ต่าง ๆ

#### 3.7.1 สูตร MS-1D1B

เมื่อใบอ่อนถูกชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS-1D1B แล้ว ทำการเลี้ยงต่อไปในสูตรอาหารเดิม พบว่าแคลลัสของหน้าวัว 10 พันธุ์ ซึ่งมีการเพิ่มปริมาณ และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล การเปลี่ยนสีของแคลลัสจะช้าหรือเร็วขึ้นอยู่กับพันธุ์

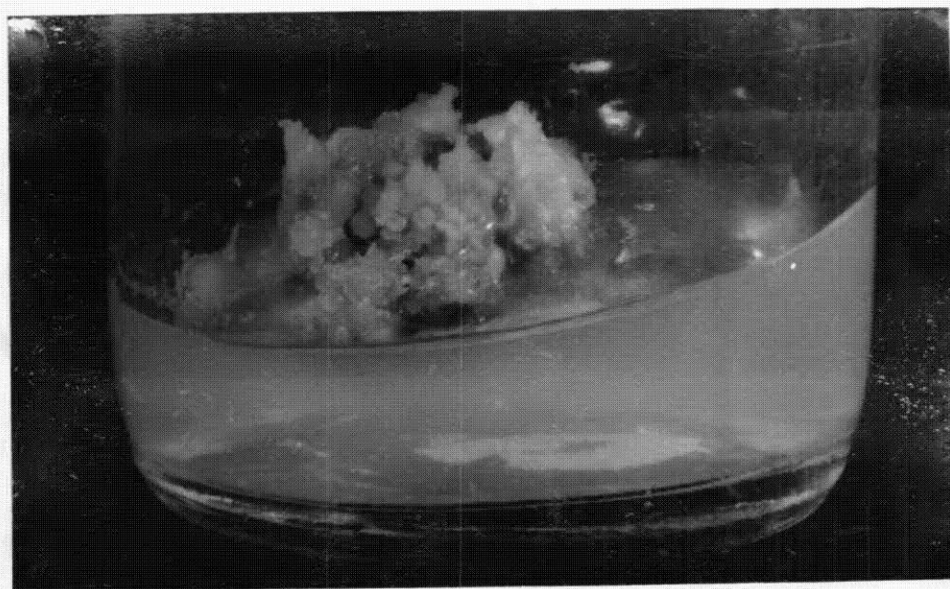
ส่วนแคลลัสที่สามารถเลี้ยงต่อไปได้ คือ พันธุ์ ฅกามาศ Marian seefurth และ T<sub>22</sub> หลังจากใบอ่อนเกิดแคลลัสแล้ว แคลลัสจะเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว แคลลัสของพันธุ์ ฅกามาศ และ Marian seefurth มีสีเหลือง เซลเกาะกันอย่างหลวม ๆ (ถึงภาพที่ 18) เมื่อเลี้ยงได้ 2 เดือน แคลลัสจะเพิ่มปริมาณมากกว่าเดิมประมาณ 10 เท่า แต่แคลลัสของพันธุ์ T<sub>22</sub> มีสีขาว เซลเกาะกันแน่นกว่า เมื่อเลี้ยงได้ 2 เดือน การเพิ่มปริมาณแคลลัสน้อยกว่า 2 พันธุ์ดังกล่าวมาแล้ว แคลลัสพันธุ์ Marian seefurth จะเจริญเติบโตมากขึ้นจนอายุได้ 8 เดือน โดยไม่เปลี่ยนแปลงเป็นต้นและราก (ภาพที่ 18) แต่พันธุ์ ฅกามาศเมื่อเลี้ยงได้ประมาณ 3 เดือนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นและรากซึ่งจะกล่าวรายละเอียดในหัวข้อ 3.9.1 ส่วนพันธุ์ T<sub>22</sub> เกิดการติดเชื้อขึ้นในเดือนที่ 3 จึงไม่สามารถสังเกตผลในเวลาต่อมาได้

#### 3.7.2 สูตร MS - 1.5D 2B

จากการทดลอง พบว่าบางพันธุ์เท่านั้นที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ คือ พันธุ์ T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>7</sub> ลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้น มีลักษณะคล้ายกัน คือ มีสีเหลืองอ่อน เซลเกาะกันอย่างหลวม ๆ ดังแสดงในภาพที่ 19 การเพิ่มปริมาณแคลลัสจะมากหรือน้อยขึ้นกับพันธุ์ แคลลัสพันธุ์ T<sub>7</sub> มีการเพิ่มปริมาณแคลลัสมากที่สุด รองลงมาคือพันธุ์ T<sub>4</sub> และ T<sub>3</sub> ตามลำดับ ถึงภาพที่ 20 พันธุ์ที่ไม่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณแคลลัสในอาหารสูตร MS - 1.5D 2B มีปริมาณ 7 พันธุ์



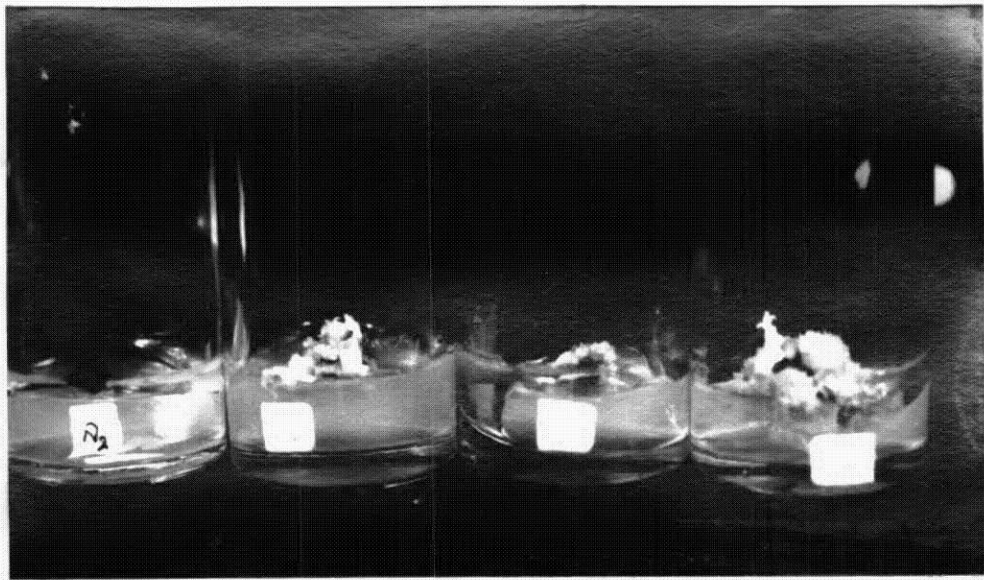
ภาพที่ 18 แคลดัสพันธุ Marian seefurth ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS-1D1B ในที่มืด เป็นเวลาประมาณ 8 เดือน ( X 2 )



ภาพที่ 19 ลักษณะแคลดัสพันธุ T<sub>7</sub> เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1.5D 2B ในที่มืด เป็นเวลา 3 เดือน ( X 2.67 )



ในระยะแรกไมจะค่อย ๆ เหลืองและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แคลลัสจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างช้า ๆ เช่นกัน การเปลี่ยนสีของแคลลัสจะช้าหรือเร็วขึ้นกับพันธุ์ เช่น พันธุ์  $T_2$  ในระยะเวลา 3 เดือน แคลลัสจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเกือบหมก และจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหมกเมื่อเลี้ยงได้ 7 เดือน ดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 เปรียบเทียบแคลลัสของพันธุ์ต่าง ๆ คือ พันธุ์  $T_2$ ,  $T_4$ ,  $T_3$ ,  $T_7$  ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS - 1.5D 2B ในที่มืด เป็นเวลา 7 เดือน ( X 0.84)

### 3.7.3 สูตร PCSS + ซูโครส 2% + BAP 2 ppm (PCSS-S<sub>2</sub>)

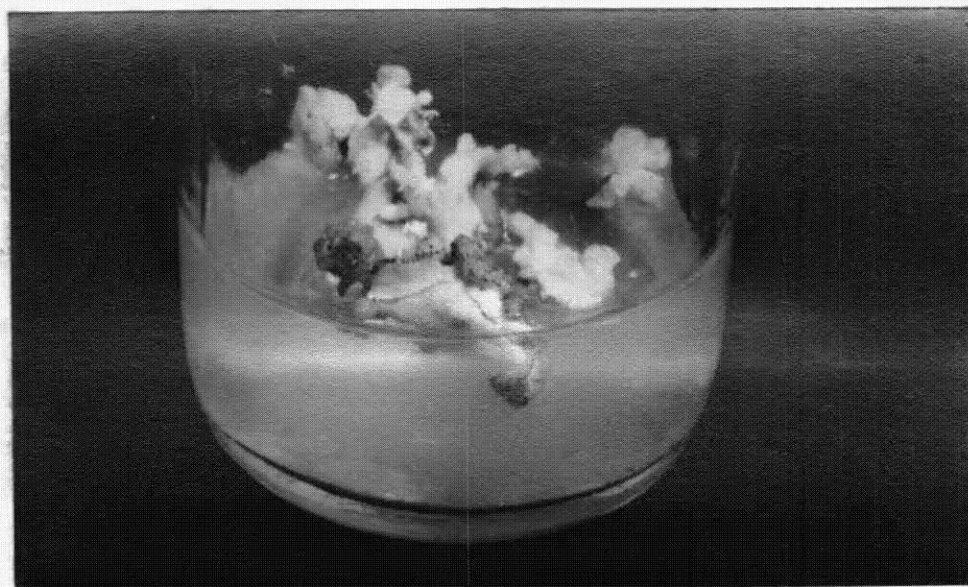
จากการทดลองเลี้ยงแคลลัสพันธุ์ต่าง ๆ 10 พันธุ์ พบว่า 8 พันธุ์ สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้มากกว่า 2 เท่า เมื่อเลี้ยงได้ประมาณ 1 เดือน แคลลัสจะเพิ่มปริมาณมากหรือน้อยขึ้นกับพันธุ์ ดังแสดงในภาพที่ 21 มีแคลลัส 4 พันธุ์

คือ  $T_7$ ,  $T_4$ ,  $T_{22}$  และบิกามาต แคลลัสจะเปลี่ยนเป็นต้นและรากเมื่อเลี้ยงได้ 3 เดือน แคลลัส 3 พันธุ์ คือ Hawaii Orange-139, Kaumana จักรพรรดิ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน แคลลัสจะเพิ่มปริมาณเพียงอย่างเดียวกิ่งภาพที่ 21 และแคลลัสพันธุ์กว้างสมร เมื่อเลี้ยงได้ 2 สัปดาห์ แคลลัสสามารถเจริญเติบโตอย่างเห็นได้ชัด กิ่งภาพที่ 22 แคลลัสทั้งหมดมีลักษณะคล้ายกัน คือ มีสีเหลืองอ่อน เซลเกาะกันอย่างหลวม ๆ แคลลัสประกอด้วยก้อนกลมเล็ก ๆ ประกอบกันกิ่งภาพที่ 23 ส่วนพันธุ์  $n_{68}$  และ  $n_2$  แคลลัสไม่เพิ่มปริมาณ ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และเป็นสีน้ำตาล ในขณะที่เกี่ยวกับแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเช่นกัน และตายในที่สุด



ภาพที่ 21 แคลลัสพันธุ์ Hawaii- Orange-139, Kaumana จักรพรรดิ ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร PCSS-S<sub>2</sub> ในที่มืด เป็นเวลา 3 เดือน 3 สัปดาห์ (X 1.8)



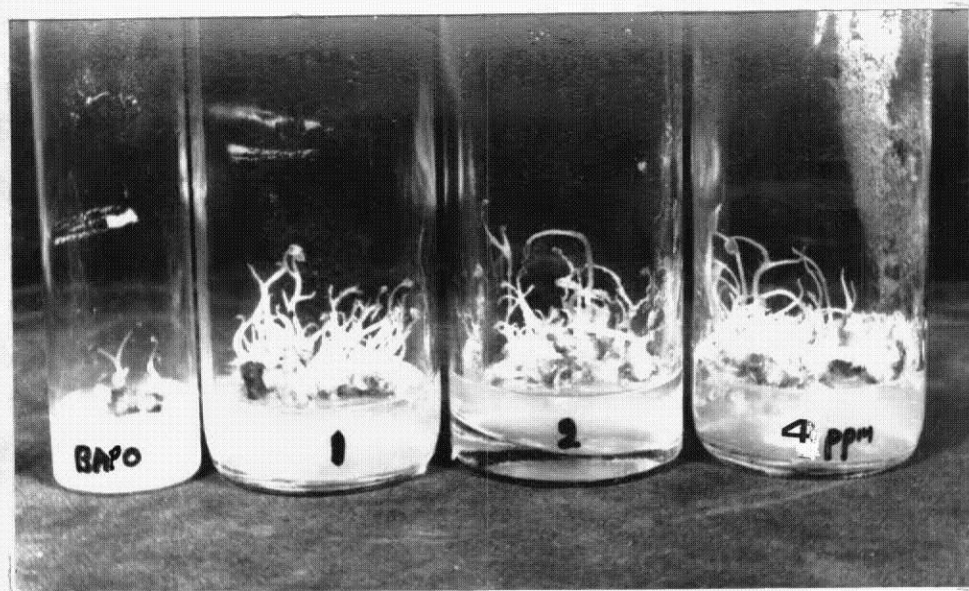


ภาพที่ 22 แคลดัสพันธุ์กว้างสมร เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร PCSS-S<sub>2</sub> ในที่มีค เป็นเวลา 2 สัปดาห์ (x 2)

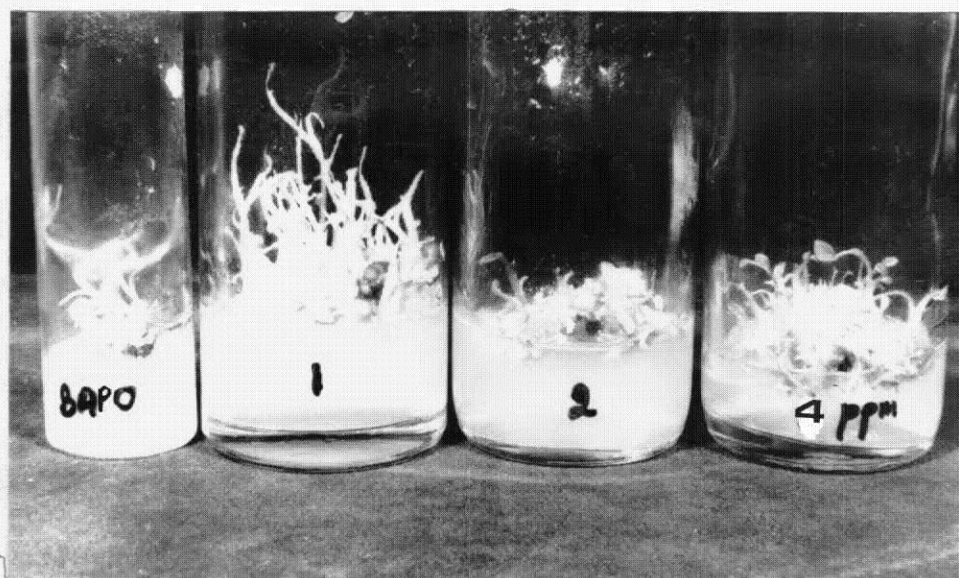
### 3.8 อิทธิพลของ BAP และชนิดของน้ำตาลในการ เกิดต้นและราก

จากการทดลองต่อจากหัวข้อ 3.6 ซึ่งเป็นระยะที่แคลดัสพันธุ์กามาศ เจริญเติบโต และเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นและราก เมื่อเลี้ยงได้ 3 เดือน 2 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร เค็มและสภาพเค็มคือมีคดออกต่อไปเป็นเวลา 7 เดือน ที่ปรากฏดังภาพที่ 23 และ 24

เมื่อเลี้ยงแคลดัสในอาหารสูตร PCSS-G และ PCSS-S ที่มี ความเข้มข้นของ BAP ต่าง ๆ กัน สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ทุกการทดลอง แต่ปริมาณต้นจะมากหรือน้อยและการ เกิดต้นจะช้าหรือเร็วต่างกัน



ภาพที่ 23 การเกิดต้นจากแคลลัสพันธุ์กามาศ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร PCSS-G ความเข้มข้นของ BAP ต่าง ๆ กัน เก็บไว้ในที่มืด เป็นเวลา 7 เดือน (x 0.97)



ภาพที่ 24 การเกิดต้นจากแคลลัสพันธุ์กามาศ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร PCSS-S ความเข้มข้นของ BAP ต่าง ๆ กัน เก็บไว้ในที่มืด เป็นเวลา 7 เดือน (x 0.97)



ในอาหารสูตร PCSS-G เมื่อมี BAP ความเข้มข้นดังนี้

BAP 0 ppm เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน แคลลัสส่วนใหญ่ตาย จะเห็นเป็นสีน้ำตาล แคลลัสที่มีชีวิตอยู่จะมีสีเหลืองและเริ่มเปลี่ยนเป็นต้น ปริมาณต้นที่เกิดขึ้นมีเพียง 2 ต้นเท่านั้น

BAP 1 ppm แคลลัสจะเปลี่ยนแปลงโดยเกิดเป็นก้อนกลมเล็ก ๆ บนแคลลัสก้อนใหญ่ และแคลลัสก้อนกลมเล็ก ๆ เหล่านั้น จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้น ปริมาณต้นมากขนาดต้นใหญ่

BAP 2 ppm แคลลัสจะเปลี่ยนเป็นต้นในเกือบที่ 3 ขนาดของต้นเล็กปริมาณมาก ลำต้นยาว

BAP 4 ppm แคลลัสเปลี่ยนเป็นต้นในเกือบที่ 3 แต่ยังไม่ชัดเจนเหมือนต้นใน BAP 2 ppm ปริมาณต้นมากที่สุด ขนาดต้นเล็ก ลำต้นยาว

ในสูตรอาหาร PCSS-S เมื่อมี BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ กันดังนี้

BAP 0 ppm เมื่อเลี้ยงได้ 5 เดือน แคลลัสส่วนใหญ่ตาย แคลลัสที่ยังเป็นสีเหลืองจะเปลี่ยนแปลงเป็นต้น จะเกิดต้นทั้งหมด 5 ต้น ลำต้นยาว ขนาดเล็ก

BAP 1 ppm แคลลัสเริ่มเปลี่ยนเป็นต้น เมื่ออายุ 3 เดือน ปริมาณต้นมาก ขนาดของต้นใหญ่ ลำต้นยาว

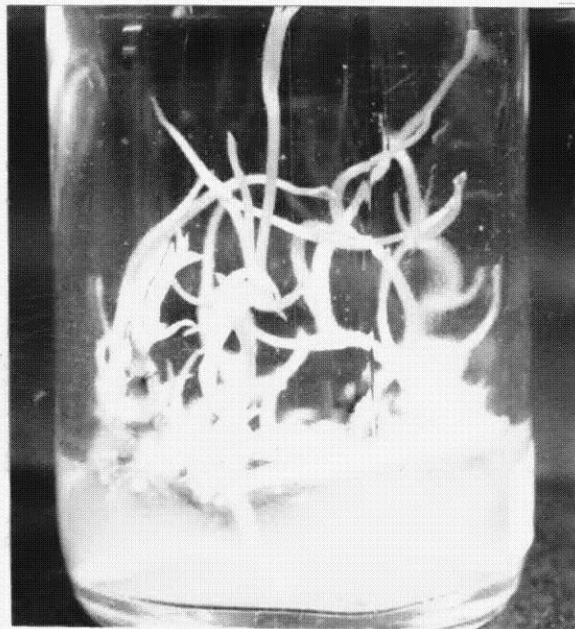
BAP 2 ppm แคลลัสเริ่มเปลี่ยนเป็นต้นเมื่ออายุ 3 เดือน ปริมาณต้นมาก ขนาดของต้นเล็ก ลำต้นไม่ยาว เห็นแคตอกติอยู่กับแคลลัส และเกิดแคลลัสมากขึ้น แคลลัสเหล่านั้นเปลี่ยนเป็นต้น แต่ขนาดต้นไม่ยาว เห็นแคตอกติเช่นกัน

BAP 4 ppm แคลลัสเริ่มเปลี่ยนเป็นต้นเมื่ออายุ 3 เดือน ปริมาณต้นมากที่สุด ต้นที่เกิดก่อนจะเจริญเติบโต โดยก้านใบจะยืดยาวออก แต่ไม่เห็นลำต้น มียอดติดอยู่กับแคลลัส ยอดใหญ่ที่เกิดขึ้น เห็นเป็นใบไม่ชัดเจนเท่ายอดของ BAP 2 ppm สามารถสังเกตเห็นคล้ายตาปลาด้งภาพที่ 24

### 3.9 ความสามารถในการ เกิดเป็นต้นและรากจากแคลลัสหน้าวัชพันธุ์ต่าง ๆ

#### 3.9.1 สูตร MS-1D1B

จากการสังเกตผลต่อจากหัวข้อ 3.7.1 ซึ่งแคลลัสของพันธุ์ ผกา มาศ Marian seefurth และ T<sub>22</sub> แคลลัสสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารสูตร MS-1D1B ในที่มีก แต่มีพันธุ์ผกา มาศเพียงพันธุ์เดียวเท่านั้น ที่สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นต้นและรากได้ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานานประมาณ 3 เดือน โดยแคลลัสเริ่มมีผิวขรุขระและเจริญเป็นยอดเล็ก ๆ เกิดขึ้นในปริมาณมาก และเจริญเติบโตเป็นต้นชัดเจน มีลำต้นขนาดใหญ่ ยาว มีสีเขียว ใบมัน ต่อมาอีก 2 เดือน เกิดรากขึ้นที่บริเวณแคลลัสและบริเวณข้อเจริญยืดยาวออกจนอายุได้ 6 เดือน ดังภาพที่ 25 จึงนำไปถูกแสงในการทดลองที่ 3.10



ภาพที่ 25 ต้นที่เกิดจากการเลี้ยงแคลลัสในสูตร MS-1D1B ในที่มีก เป็นเวลา 6 เดือน (x 1.67)



## 3.9.2 สูตร MS-1.5D 2B

จากการสังเกตผลการทดลองข้อ 3.7.2 ซึ่งเลี้ยงแคลลัสของ พันธุ์ T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>7</sub> ในอาหารสูตร MS-1.5D 2 B พบว่าพันธุ์ T<sub>7</sub> และ T<sub>4</sub> สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นต้นเป็นรากได้ โดยแคลลัสพันธุ์ T<sub>7</sub> ที่มีอายุ ประมาณ 3 เดือน จะเปลี่ยนรูปร่างลักษณะไป คือ เซลเกาะกันแน่นกว่าเดิม ขรุขระมากขึ้น สามารถเปรียบเทียบความแตกต่าง ระหว่างแคลลัสที่เกิดขึ้นใหม่ กับแคลลัสที่มีอายุมากพอที่จะเปลี่ยนเป็นต้นได้ควยตาเปล่า จากนั้นแคลลัสที่เปลี่ยนแปลง ไปจะเกิดยอดและเจริญเติบโตเป็นลำต้นชัดเจน เมื่อเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 5 เดือน จะเกิดรากขึ้นตรงบริเวณแคลลัสและข้อของลำต้น เมื่ออายุ 7 เดือน ปริมาณรากน้อยกว่าปริมาณลำต้น ดังปรากฏในภาพที่ 26

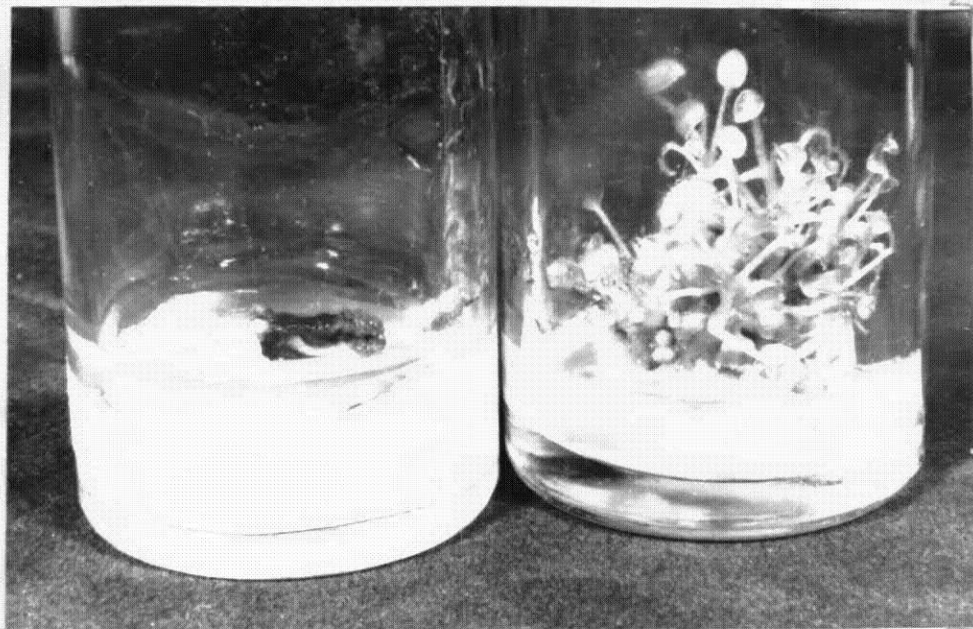
ในพันธุ์ T<sub>4</sub> เริ่มเปลี่ยนแปลงในเดือนที่ 4 การเปลี่ยนแปลงเหมือนกับพันธุ์ T<sub>7</sub> แต่เมื่ออายุ 7 เดือน ปริมาณรากมากกว่าปริมาณต้น (ภาพที่ 28) แต่พันธุ์ T<sub>3</sub> ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นต้น แต่จะเกิดรากขึ้น 1 ราก ดังปรากฏในภาพที่ 20



ภาพที่ 26 ต้นและรากที่ไ้จากการเลี้ยงแคลลัสพันธุ์ T<sub>7</sub> และ T<sub>4</sub> ในสูตรอาหาร MS-1.5D 2B ในที่มืด เป็นเวลา 7 เดือน (X 1.33)

3.9.3. สูตร MS-1.5D 2B + แสง

เมื่อนำแคลลัสพันธุ์  $l_2$  ในสภาพโกลด์ตาย มีสีน้ำตาลเป็นส่วนมาก มีเพียงบางส่วนที่มีสีเขียว ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร MS-1.5D 2B ในที่มืด เป็นเวลานาน 3 เดือน นำมาไว้ในที่มีแสง เมื่อแคลลัสได้รับแสง 2 สัปดาห์ แคลลัสจะเพิ่มปริมาณมากขึ้น โดยเจริญจากส่วนที่ยังเหลืองอยู่ แคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีเขียว เซลล์เกาะกันอย่างหลวม ๆ แคลลัสจะเกิดเป็นก้อนกลมเล็ก ๆ รวมเป็นกระจุก แต่ตะกอนจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้น ต้นที่เกิดขึ้นใบจะมีสีเขียวและกางออก ต่อมาจะเกิดรากที่บริเวณแคลลัสและที่ข้อของลำต้น ดังภาพที่ 27



ภาพที่ 27 เปรียบเทียบแคลลัสพันธุ์  $l_2$  ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS-1.5D 2B ในที่มืด เป็นเวลา 7 เดือน (ซ้าย) และในที่มืดเป็นเวลา 3 เดือน แล้วย้ายไปไว้ในที่มีแสงอีก 4 เดือน (ขวา) ( X 1.11)



### 3.9.4 สูตร MS-1N1K

จากการสังเกตผลการทดลองในเวลา 3 เดือน หลังจากเลี้ยง แคลคัสพันธุ์ต่าง ๆ 10 พันธุ์ในอาหารสูตร MS-1N1K ในที่มีแสง พบว่าแคลคัส ทุกพันธุ์ไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้ และแคลคัสจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ในขณะที่เกี่ยวกับใบอ่อนยังคงสภาพเขียวอยู่ และเมื่อเลี้ยงต่อไปจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และตายในที่สุด

### 3.9.5 สูตร PCSS-S<sub>2</sub>

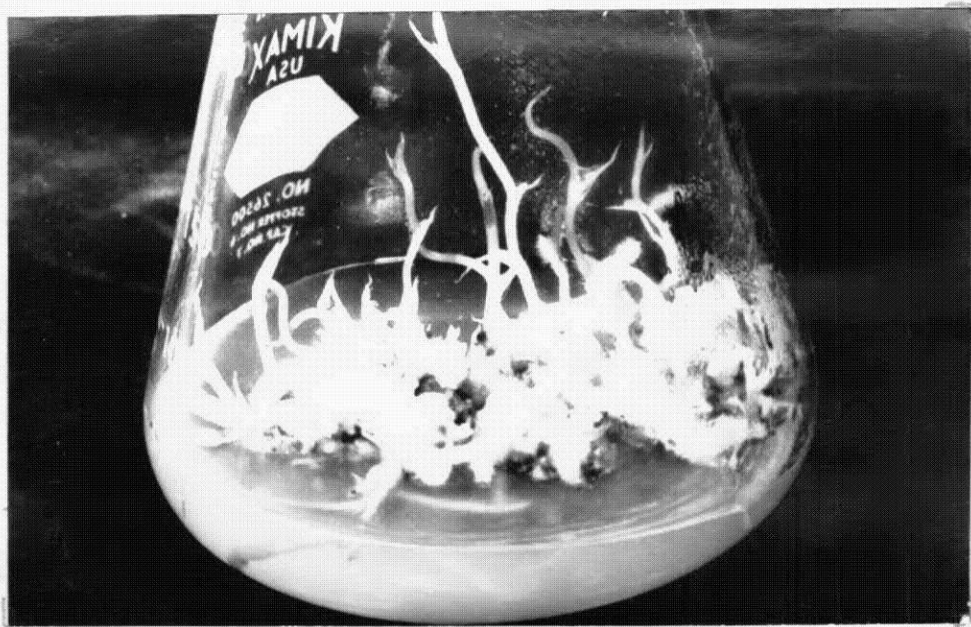
จากการสังเกตผลต่อจากข้อ 3.7.2 ซึ่งแคลคัสพันธุ์ T<sub>7</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>22</sub> และนกามาศ สามารถเจริญเติบโตและเปลี่ยนเป็นต้นเป็นรากได้ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร PCSS-S<sub>2</sub> ส่วนพันธุ์ Hawaii-Orange-139 Kaumana จักรพรรดิ ไม่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นเป็นราก แคลคัสที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นจะมีการแบ่งเซลล์ของแคลคัสเจริญเป็นคุ่ม เนื้อเยื่อเจริญและเกิดยอดขึ้นที่บริเวณนั้นดังภาพที่ 28 ต่อจากนั้นยอดจะเจริญเติบโตเป็นต้นชัดเจน แต่ใบยังไม่กางจึงเห็นลำต้นชัดเจนดังภาพที่ 29 ต่อจากนั้นจะเกิดรากในกิ่งที่ 5 ตรงบริเวณแคลคัสและบริเวณข้อ เวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงแคลคัสให้เป็นต้นเป็นราก ในพันธุ์ T<sub>7</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>22</sub> และนกามาศ ใกล้เคียงกัน แต่ปริมาณต้นและขนาดต้น จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์

### 3.10 การสร้างคลอโรฟิลล์

เมื่อนำต้นอ่อนที่เจริญเติบโตในที่มีมาไว้ในที่มีแสง ในสัปดาห์แรกจะเกิดสีเขียวขึ้นที่ใบอ่อน ขณะที่ยังม้วนอยู่ จากนั้นสีเขียวจะเข้มขึ้นพร้อมกับใบจะกางและขยายใหญ่ขึ้น ประมาณ 1 เดือนใบจะเขียวหมดทั้งต้น เมื่อเลี้ยงต่อไปโดยไม่เปลี่ยนอาหารใหม่ จะเกิดรากมากขึ้น จนกระทั่ง 4 เดือน จะมีปริมาณรากมากเป็น 2 เท่า ขนาดของต้นโตมากขึ้นพร้อมที่จะนำไปปลูกในกระถางได้ ดังปรากฏในภาพที่ 30

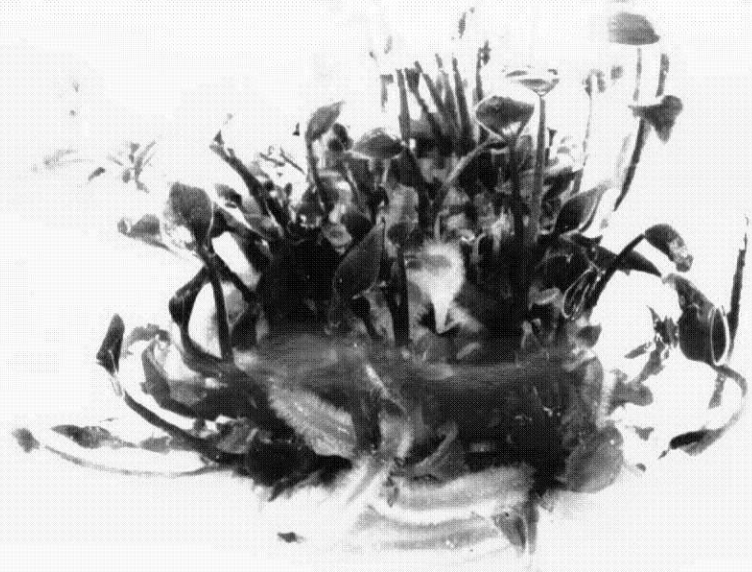


ภาพที่ 28 ต้นและรากที่เกิดจากแคลลัสพันธุ์ T<sub>4</sub> เมื่อเลี้ยงในอาหาร PCSS-S<sub>2</sub> ในที่มืด เป็นเวลา 6 เดือน ( X 2 )



ภาพที่ 29 ต้นและรากที่เกิดจากแคลลัสพันธุ์ T<sub>7</sub> เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร PCSS-S<sub>2</sub> ในที่มืด เป็นเวลา 7 เดือน ( X 1.7 )





ภาพที่ 30 ต้นและรากพันธุ์ T<sub>7</sub> ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร PCSS-S<sub>2</sub> ในที่มีแสง เป็นเวลา 4 เดือน ( X 1.67)

#### 4. การย้ายมาปลูกในกระถาง

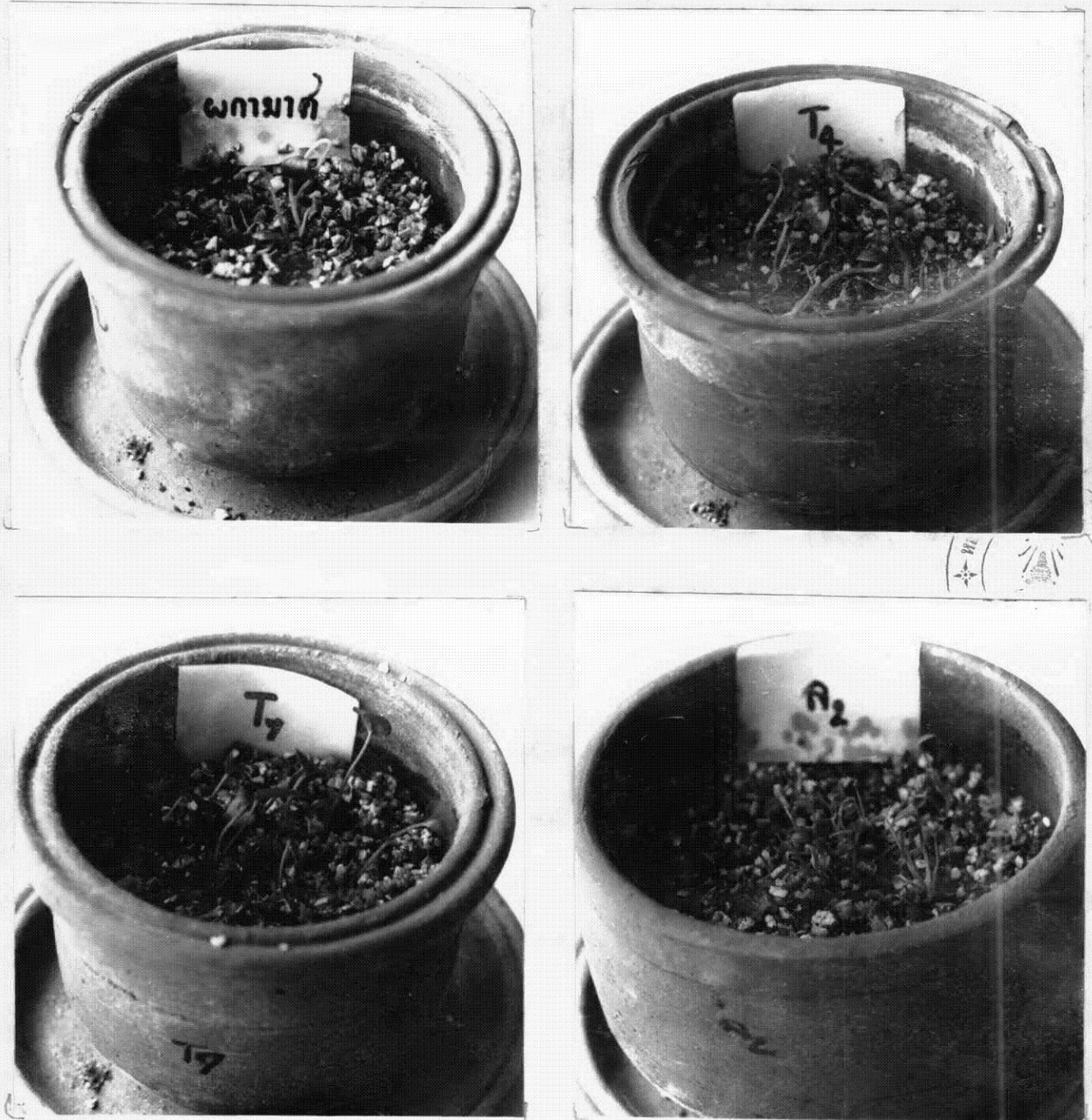
ต้นอ่อนจากการทดลองข้อ 1, 2, 3 สามารถนำมาปลูกภายนอกได้ ทั้งอิฐมอดูและเวอร์มิคูไลต์ โดยจะให้ผลเหมือนกันคือ ตั้งตัวได้ประมาณ 1 สัปดาห์ และรอนกระทั่งแข็งแรงอีก 1 สัปดาห์ ต้นที่ปลูกในเวอร์มิคูไลต์สามารถย้ายไปปลูกในเครื่องปลูกอื่นต่อไปได้ แต่ถ้าใช้อิฐมอดูหุบไม้จำเป็นต้องย้าย ก็สามารถเจริญต่อไปได้ โดยใช้อิฐมอดูเป็นเครื่องปลูก ดังแสดงในภาพที่ 31



ภาพที่ 31

ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
 และต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบจากต้นอ่อนพันธุ์ฮาวาย H<sub>18</sub>  
 เมื่อนำมาปลูกในกระถางโดยใช้อิฐมอดูทุบละเอียดเป็นเครื่องปลูก  
 ปลูกในโรงเรือนเป็นเวลา 4 เดือน ( X 0.87) และเป็นเวลา  
 1 เดือน ( X 0.87) ตามลำดับ





ภาพที่ 32 ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนพันธุ์ พกา มาศ, T<sub>4</sub>, T<sub>7</sub>  
และ G<sub>2</sub> เมื่อนำมาปลูกในเวอร์มิคูไลต์เป็นเวลา 2 สัปดาห์  
( X 0.75)