การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวลูกผสมพันธุ์ฉลองขวัญ

MICROPROPAGATION OF NYMPHAEA HYBRID 'CHALONG KWAN'

เยาวมาลย์ น้อยใหม่

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวลูกผสมพันธุ์ฉลองขวัญ

เยาวมาลย์ น้อยใหม่

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์ **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวลูกผสมพันธุ์ฉลองขวัญ**
Micropropagation of *Nymphaea* Hybrid 'Chalong kwan'
ชื่อ – นามสกุล **นางเยาวมาลย์ น้อยใหม่**
สาขาวิชา **เทคโนโลยีการผลิตพืช**
อาจารย์ที่ปรึกษา **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปิยะวดี เจริญวัฒนะ, Ph.D.**
ปีการศึกษา **2555**

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... **ประธานกรรมการ**
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชตา ทนวิทูวัตร, วท.ด.)

.... **กรรมการ**
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุภาวดี ตั้งธีระวัฒนะ, Ph.D.)

.... **กรรมการ**
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปิยะวดี เจริญวัฒนะ, Ph.D.)

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อนุมัติวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

....**คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร**
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อำนาจ ศิลวัตร, Ph.D.)
วันที่ 10 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2556

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวลูกผสมพันธุ์ฉลองขวัญ
ชื่อ – นามสกุล นางเยาวมาลย์ น้อยใหม่
สาขาวิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปิยะวดี เจริญวัฒนะ, Ph.D.
ปีการศึกษา 2555

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวลูกผสมพันธุ์ฉลองขวัญ ได้ดำเนินการที่คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ช่วงระหว่างปี 2553-2555 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบของชิ้นส่วน วิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสม และปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญในสภาพปลอดเชื้อ ตลอดจนการศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมในสภาพธรรมชาติ

โดยใช้หัวย่อย ยอดอ่อน และใบอ่อน ในการฟอกฆ่าเชื้อ การฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ตามด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที พบว่าหัวย่อยมีการปลอดเชื้อและการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับร้อยละ 85.0 และ 68.3 ตามลำดับ จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าสามารถชักนำการเกิดยอดสูงสุด จำนวน 8 ยอดต่อหัวย่อย เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP10 ไมโครโมลาร์ และให้จำนวนใบสูงสุด 25.7 ใบต่อหัวย่อย บนอาหารที่เติม BAP 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA 10 ไมโครโมลาร์ การชักนำการเกิดยอดจากยอดอ่อนได้ดีที่สุด 4.1 ยอดต่อชิ้น บนอาหารที่เติม BAP 5 ไมโครโมลาร์ และให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 12.7 ใบต่อชิ้น บนอาหารที่เติม BAP 10 ไมโครโมลาร์ การชักนำรากจากยอดที่มีหัวย่อยให้ราก จำนวน 15.2 รากต่อยอด บนอาหารสูตรที่เติม NAA 10 ไมโครโมลาร์ และการใช้ BAP ร่วมกับ IAA, zeatin ร่วมกับ NAA และ kinetin ไม่สามารถชักนำการเกิดดอกในขวดเพาะได้ในทุกสูตรอาหาร หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

การย้ายต้นอ่อนออกปลูกในสภาพธรรมชาติ พบการรอดชีวิตเท่ากับร้อยละ 86.9 และมีหัวใหม่เกิดขึ้นจำนวนเฉลี่ย 1.3 หัวต่อต้น และวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดินเหนียวและมูลวัวในอัตราส่วน 7:1 ให้จำนวนใบและดอกมากกว่าวัสดุปลูกที่มีเฉพาะดินเหนียว

คำสำคัญ: บัวลูกผสม บัวพันธุ์ฉลองขวัญ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การชักนำยอด สารควบคุมการเจริญเติบโต

Thesis Title Micropropagation of *Nymphaea* Hybrid ‘Chalong Kwan’
Name – Surname Mrs. Yaowamal Noimai
Program Crop Production Technology
Thesis Advisor Assistant Professor Piyavadee Charoenwattana, Ph.D.
Academic Year 2012

ABSTRACT

The micropropagation of hybrid waterlily, *Nymphaea* ‘Chalong Kwan’ was conducted at the Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi during 2010-2012. The objective of this research was to determine the types of explant, appropriate methods for surface sterilization and factors affecting plant growth in micropropagation of *Nymphaea* ‘Chalong Kwan’*in vitro* as well as determining potting materials for transplanting.

Bulbils, young shoots and young leaves were surface sterilized. The result showed the highest sterilization and survival of 85.0 and 68.3 percent, respectively when sterilizing bulbils in 10% sodium hypochlorite for 20 minutes following by 0.1% mercuric chloride for another 10 minutes. The effects of plant growth regulators were studied and the result showed that the bulbils cultured on MS medium supplemented with 10 µM BAP gave the maximum number of shoots per bulbil (8 shoots) and medium with 5 µM BAP and 10 µM IAA gave the highest number of leaves per bulbil (25.7 leaves). For shoot induction, the young shoots cultured on medium with 5 µM BAP gave the maximum number of shoots of 4.1 shoots per plantlet and medium with 10 µM BAP gave the highest number of leaves of 12.7 leaves per plantlet. It was found that root induction from bulbil-attached shoots cultured on MS medium with 10 µM NAA gave the highest number of roots of 15.2 roots per shoot. The MS medium supplemented with BAP+IAA, zeatin+NAA and kinetin showed no effect on *in vitro* flowering after 6 weeks culture.

The result showed the survival of plantlets was 86.9 percent after transplanting in natural condition and gave the average number of new bulbils of 1.3 bulbils per plantlet. The plantlets planted with the lotus growing mud (cow manure) in proportion of 7:1 gave the average numbers of leaf and flower more than planting with lotus growing mud.

Keywords: hybrid waterlily, *Nymphaea* ‘Chalong Kwan’, plant tissue culture, shoot induction, plant growth regulators

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาอย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะวดี เจริญวัฒนะ อาจารย์ที่ปรึกษาหลักวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้คำปรึกษาและให้คำแนะนำในการเรียน การค้นคว้าวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสิ้นสมบูรณ์ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัชตา ทนวิทูวัตร ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี ตั้งธีระวัฒนะ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภูรินทร์ อัครกุลธร ที่ให้ความอนุเคราะห์ต้นพันธุ์บัวฉลองขวัญในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ รวมถึงได้ให้ความรู้และคำแนะนำต่าง ๆ เป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีอาหาร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือต่างๆ ในการทำการศึกษาวิจัย ซึ่งทำให้งานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชา บ่มเพาะจนผู้วิจัยสามารถนำเอาหลักการมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้แต่งและผู้เรียบเรียงตำรา เอกสาร ผลงานวิจัยต่างๆ ที่ผู้วิจัยนำมาใช้อ้างอิงในงานวิจัยฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ขอบคุณพี่ๆ และน้อง ตลอดจนครอบครัวและเพื่อนนักศึกษาปริญญาโท รวมถึงบุคลากรบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้สนับสนุน ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจให้แก่ผู้วิจัยอย่างดีเสมอมา คุณความดีหรือประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัยฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่บุพการี ผู้มีพระคุณทุกท่าน และครู อาจารย์ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้วิจัยมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

เยาวมาลย์ น้อยใหม่

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย…………………………………………………………………… ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ………………………………………………………………... ง

กิตติกรรมประกาศ…………………………………………………………………. จ

สารบัญ…………………………………………………………………………….. ฉ

สารบัญตาราง……………………………………………………………………… ซ

สารบัญภาพ………………………………………………………………………... ฎ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ……………………………………………………... ฑ

บทที่

1 บทนำ…………………………………………………………………………….. 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา……………………………………………….. 1

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย…………………………………………………………. 2

1.3 สมมุติฐานของการวิจัย…………………………………………………………. 2

1.4 ขอบเขตของการวิจัย…………………………………………………………... 2

1.5 ขั้นตอนการศึกษาวิจัย…………………………………………………………. 2

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ……………………………………………………. 3

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……………………………………………………... 4

2.1 ประเภทของบัวประดับ………………………………………………………... 4

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์……………………………………………………... 5

2.3 การเจริญเติบโตของบัว………………………………………………………... 6

2.4 การขยายพันธุ์บัว……………………………………………………………… 7

2.5 เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช……………………………………………… 8

2.6 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ…………………………………………………. 11

2.7 การปลูกบัวประดับ…………………………………………………………… 16

3 วิธีดำเนินการวิจัย…………………………………………………………………… 18

3.1 อุปกรณ์……………………………………………………………………... 18

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

3.2 วิธีการทดลอง…………………………………………………………………. 19

การทดลองที่ 1 การศึกษาชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญและวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ……………………………………………. 19

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของสารควบคุมเจริญเติบโตต่อการชักนำยอด ราก แคลลัส และดอกของบัวฉลองขวัญ………………… 22

การทดลองที่ 3 การศึกษาวัสดุปลูกในสภาพธรรมชาติ…………………… 25

3.3 สถานที่และระยะเวลาที่ทำการวิจัย…………………………………………. 26

4 ผลการทดลอง……………………………………………………………………. 27

4.1 ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อและวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ……………………………………… 27

4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอด……………………… 31

4.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำราก……………………….. 38

4.4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัส…………………… 41

4.5 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำดอก………………………. 50

4.6 วัสดุปลูกบัวฉลองขวัญในสภาพธรรมชาติ………………………………. 56

5 วิจารณ์ผลการทดลอง สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ…………………………… 58

5.1 วิจารณ์ผลการทดลอง……………………………………………………….. 58

5.2 สรุปผลการวิจัย……………………………………………………………... 68

5.3 ข้อเสนอแนะ………………………………………………………………... 68

บรรณานุกรม……………………………………………………………………......... 69

ภาคผนวก………………………………………………………………………….. 75

ภาคผนวก ก……………………………………………………………………. 76

ภาคผนวก ข……………………………………………………………………. 82

ประวัติผู้วิจัย……………………………………………………………………….. 87

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและการรอดชีวิตของหัวย่อย และหัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธีการ และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์………………… 28

4.2 เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและการรอดชีวิตของยอดอ่อน โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 2 วิธีการ และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์……………………………………… 29

4.3 เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและการรอดชีวิตของใบอ่อน โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธีการ และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์……………………………………… 29

4.4 จำนวนยอดและใบจากการเพาะเลี้ยงหัวย่อย บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์…………………………………….. 31

4.5 จำนวนยอดและใบจากการเพาะเลี้ยงยอดอ่อน บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์…………………………………… 32

4.6 จำนวนยอดและใบจากการเพาะเลี้ยงยอดแบ่งกอ บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์…………………………… 33

4.7 จำนวนและความยาวรากจากการเพาะเลี้ยงยอดที่มีหัวย่อย บนอาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์…………………………………… 38

4.8 จำนวนและความยาวรากจากยอดอ่อนของบัวฉลองขวัญ บนอาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์…………………………………… 39

4.9 จำนวนและความยาวรากจากยอดแบ่งกอของบัวฉลองขวัญ บนอาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์………………………….. 39

4.10 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ร่วมกับ BAP ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพมืดหรือสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์…….. 41

4.11 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพมืด 4 สัปดาห์ และสภาพสว่าง 4 สัปดาห์………………… 42

4.12 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพมืด 4 สัปดาห์ และสภาพสว่าง 4 สัปดาห์…….. 42

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.13 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP หรือ TDZ ร่วมกับ NAAที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพสว่างเป็นเวลา 8 สัปดาห์................. 43

4.14 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน แช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ เขย่านาน 24 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP หรือ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์................................ 44

4.15 การชักนำดอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์.. 50

4.16 การชักนำดอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม zeatin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์.. 51

4.17 การชักนำดอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์... 52

4.18 การเจริญของใบและดอกของบัวฉลองขวัญ เมื่อใช้วัสดุปลูก 2 ชนิด เป็นเวลา 8 สัปดาห์... 56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่ **หน้า**

1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962)…… 76

2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและการรอดชีวิตของชิ้นส่วนหัวย่อยและหัวย่อยแบ่ง 4 ส่วนของบัวฉลองขวัญ ด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี บนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์……………………….. 77

3 การทดสอบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและการรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอดอ่อนของบัวฉลองขวัญ ด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 2 วิธีการ บนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์………………………………………………………. 77

4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของชิ้นส่วนใบอ่อนของบัวฉลองขวัญ ด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี บนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์……………………………………………………………………… 78

5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดและใบของบัวฉลองขวัญจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหัวย่อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์…………………………………………………………. 78

6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดและใบของบัวฉลองขวัญจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดและยอดแบ่งกอ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0 และ 5 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์………………………………………… 78

7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนและความยาวรากของบัวฉลองขวัญจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดที่มีหัวย่อย และชิ้นส่วนยอด บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์……………………………………………………………………. 79

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่ **หน้า**

8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด ใบ และราก จากการชักนำดอกของบัวฉลองขวัญ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.5ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์.. 79

9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด ใบ และราก จากการชักนำดอกของบัวฉลองขวัญบนอาหารสูตร MS ที่เติม zeatin ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.25 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์.. 80

10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด ใบ และราก จากการชักนำดอกของบัวฉลองขวัญบนอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์.. 80

11 การทดสอบค่าเฉลี่ยจำนวนดอกและใบของต้นบัวฉลองขวัญที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ เมื่อใช้วัสดุปลูก 2 ชนิด เป็นเวลา 8 สัปดาห์.................. 81

12 การทดสอบค่าเฉลี่ยขนาดดอก ความกว้างและความยาวใบของต้นบัวฉลองขวัญที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ เมื่อใช้วัสดุปลูก 2 ชนิด เป็นเวลา 8 สัปดาห์.. 81

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 บัวลูกผสมพันธุ์ฉลองขวัญมาจากการผสมระหว่างพันธุ์ลาภประเสริฐ กับพันธุ์ Colorata………………………………………………………………………… 6

3.1 แสดงชิ้นส่วนหัวย่อย ยอดอ่อน และใบอ่อนของบัวฉลองขวัญ (*Nymphaea* 'Chalong Kwan')……………………………………………………………. 19

3.2 แสดงต้นอ่อนบัวฉลองขวัญ ลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ………………………………………………………………………… 19

4.1 การรอดชีวิตของชิ้นส่วนบัวฉลองขวัญหลังการฟอกฆ่าเชื้อ……………………. 30

4.2 การเกิดยอดจากหัวย่อย บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์…. 34

4.3 การเกิดยอดจากยอดอ่อน บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์.. 35

4.4 การตัดแบ่งยอดและเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์……………………………………………………………………. 36

4.5 การเกิดยอดจากยอดแบ่งกอ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์………………………………………………………………… 37

4.6 การเกิดรากของบัวฉลองขวัญเพาะเลี้ยงจาก ยอดที่มีหัวย่อย ยอดอ่อน และ ยอดแบ่งกอ ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA เป็นเวลา 8 สัปดาห์…………………….. 40

4.7 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของบัวฉลองขวัญ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ร่วมกับ BAP ในสภาพมืด หรือสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์……………. 45

4.8 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของบัวฉลองขวัญ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เพาะเลี้ยงในสภาพมืด 4 สัปดาห์ และสภาพสว่าง 4 สัปดาห์……………………………………………………………. 46

4.9 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของบัวฉลองขวัญ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพมืดและสว่าง รวม 8 สัปดาห์…………………………………………………………………... 46

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

4.10 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของบัวฉลองขวัญ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เพาะเลี้ยงในสภาพสว่างเป็นเวลา 8 สัปดาห์…………………………………………………………….. 47

4.11 ลักษณะกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงใบอ่อนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 0.5 ไมโครโมลาร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ……………………………………………………. 48

4.12 ใบอ่อนเมื่อแช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP หรือ TDZ ร่วมกับ NAA ในสภาพสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์………… 49

4.13 การชักนำดอกบัวฉลองขวัญในอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์…………………………………………………………………….. 53

4.14 การชักนำดอกบัวฉลองขวัญ ในอาหารที่เติม zeatin ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์…………………………………………………………………….. 54

4.15 การชักนำดอกบัวฉลองขวัญในอาหารที่เติม kinetin เป็นเวลา 6 สัปดาห์………. 55

4.16 ลักษณะต้นอ่อนและดอกบัวฉลองขวัญปลูกด้วยดินเหนียวและดินเหนียวผสมมูลวัว……………………………………………………………………….. 57

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

$AgNO_3$	Silver nitrate
BAP	N6 – Benzylaminopurine
$CaCl_2O_2$	Calcium hypochloride
2, 4 –D	2, 4 – Dichlorophenoxyacetic acid
H_2O_2	Hydrogen peroxide
HCl	Hydrochloric acid
$HgCl_2$	Mercuric chloride
IAA	Indole - 3 – acetic acid
Kinetin	N6 – Furfurylaminopurine
µM	Micromolar
MS	Murashige and Skoog medium
N	Normal
NAA	1 - Naphthaleneacetic acid
NaOCl	Sodium hyperchloride
NaOH	Sodium hydroxide
TDZ	Thidiazuron

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

บัวสาย หรือ อุบลชาติ (*Nymphaea* sp.) เป็นพรรณไม้น้ำที่มีดอกสวยงาม ได้รับการยกย่องให้เป็นราชินีแห่งพันธุ์ไม้น้ำ (นภาวรรณ และคณะ, 2550) จัดเป็นพืชน้ำที่มีมูลค่ามากที่สุด (Sunian, 2004) มีศักยภาพในการผลิตเป็นไม้ตัดดอกเพื่อการค้า (Chansilpa, 2010) เนื่องจากสีสันและรูปทรงหลากหลาย สามารถนำมาจัดสวนหรือมุมพักผ่อนซึ่งได้รับความนิยมทั้งภายในและต่างประเทศ จัดเป็นสินค้าส่งออกที่มีอนาคตดี ตลาดต่างประเทศมีความต้องการสูง (ณรงค์ และ ณ.นพชัย, 2550) ในปี 2553 พืชสกุล *Nymphaea* มีการส่งออกมากใน 5 อันดับแรกของพรรณไม้น้ำ มีการส่งออกจำนวน 39,760 ต้น คิดเป็นมูลค่า 1,144,090 บาท (ภูริพันธุ์, 2555) บัวฉลองขวัญเป็นบัวไทยสายพันธุ์ใหม่ อยู่ในสกุลบัวผัน เป็นลูกผสมระหว่างพันธุ์ลาภประเสริฐ กับพันธุ์ Colorata เป็นอุบลชาติเขตร้อนบานกลางวัน เกสรตัวผู้เปลี่ยนไปเป็นกลีบดอกชั้นในอย่างสมบูรณ์ กลีบดอกซ้อนกันมากดอกมีขนาดใหญ่สีม่วงเข้ม มีกลิ่นหอมและให้ดอกดก (เสริมลาภ และปริมลาภ, 2551) หากนำไปปักแจกัน ดอกจะบานได้นาน 5-7 วัน จึงถูกคัดเลือกนำมาใช้ในงานดอกไม้สด งานมงคลต่างๆ ธุรกิจโรงแรม หรือธุรกิจสปา สำหรับปักแจกัน จัดช่อดอกไม้ หรือจัดเป็นกระเช้าของขวัญ (กรุงเทพธุรกิจ, 2554 และสารคดีเกษตร, 2555) และมีประโยชน์ด้านเครื่องประทินผิวและน้ำหอม (ไศลเพชร, 2555) เนื่องจากการขยายพันธุ์บัวฉลองขวัญด้วยวิธีทางธรรมชาติทำได้ช้าและได้ปริมาณน้อย สามารถขยายพันธุ์ด้วยต้นอ่อนหรือหัวเท่านั้น เมื่อแยกจากต้นแม่แล้วต้องใช้เวลาประมาณ 2 ปี จึงจะได้ต้นที่นำไปขายได้ ไม่ทันต่อความต้องการของตลาด ส่งผลให้ราคาต่อหน่วยเพิ่มสูงขึ้น (วีรา, 2551) จึงไม่อาจพัฒนาเป็นธุรกิจผลิตพรรณไม้เพื่อการส่งออกได้ ทั้งที่มีแนวโน้มการส่งออกสูง การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถใช้ขยายพันธุ์ปริมาณมาก ในระยะเวลาสั้น อีกทั้งผลผลิตที่ได้ยังมีความสม่ำเสมอ ทำให้ได้ต้นกล้าปลอดโรค คุณภาพดีและคงเอกลักษณ์ของสายพันธุ์เดิมไว้ (สุเม และคณะ, 2551) ดังนั้นการเลือกวิธีการขยายพันธุ์บัวฉลองขวัญด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นการเพิ่มปริมาณการผลิตต้นพันธุ์ หากผลิตได้ตลอดทั้งปี ก็สามารถผลักดันให้บัวฉลองขวัญเป็นพืชเศรษฐกิจของชาติ (วรนุช และชูศรี, 2551) เพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขัน และส่วนแบ่งทางการตลาดได้ และยังใช้เป็นฐานข้อมูลในการศึกษาต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาส่วนของเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญ และหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.2.2 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ต่อการชักนำยอด ราก แคลลัส และดอกบัวฉลองขวัญ

1.2.3 หาวัสดุปลูกที่เหมาะสมในสภาพธรรมชาติ

1.3 สมมุติฐานของการวิจัย

การศึกษาส่วนของเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ อัตราสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำยอด ราก แคลลัส และดอกของบัวฉลองขวัญ ตลอดจนวัสดุปลูกที่เหมาะสมในสภาพธรรมชาติ ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถใช้ขยายพันธุ์บัวฉลองขวัญได้ตรงตามสายพันธุ์ ปริมาณมาก และในระยะเวลาอันสั้น

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญ ประกอบด้วย 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อส่วนต่างๆ ของบัวฉลองขวัญ

การทดลองที่ 2 หาอัตราสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม ต่อการชักนำยอด ราก แคลลัส และดอก

การทดลองที่ 3 หาวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการปลูกบัวในสภาพธรรมชาติ

1.5 ขั้นตอนการศึกษาวิจัย

งานวิจัยมีรายละเอียดในการดำเนินงาน ดังนี้

1.5.1 ศึกษาส่วนของเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

1.5.2 ศึกษาอัตราสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำยอด ราก แคลลัส และดอก

1.5.3 ศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมในสภาพธรรมชาติ

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 สามารถเลือกชิ้นส่วนเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญ และวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.6.2 สามารถหาอัตราสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำยอด ราก แคลลัส และดอกบัวฉลองขวัญ

1.6.3 วัสดุปลูกบัวฉลองขวัญที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ

1.6.4 แนวทางในการขยายพันธุ์บัวฉลองขวัญด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.6.5 ข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับบัวพันธุ์อื่น

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ประเภทของบัวประดับ

นักพฤกษศาสตร์ได้จัดแบ่ง บัวเป็น 2 วงศ์ และแยกออกเป็น 3 สกุล (ภูรินทร์, 2550) คือ

(1) สกุลบัวก้านแข็ง (*Nelumbo*) ชื่อทั่วไปคือ ปทุมชาติ หรือ บัวหลวง มีชื่อสามัญว่า Lotus จัดอยู่ในวงศ์ Nelumbonaceae ลักษณะเด่น คือ ก้านใบและก้านดอกจะชูเหนือน้ำ ลักษณะใบสีเขียวอมเทา ใบค่อนข้างกลมคล้ายจาน ขอบใบเรียบ หน้าใบไม่จับน้ำ ก้านใบและก้านดอกมีหนามอ่อนๆ ดอกมี 2 ประเภท คือ ดอกซ้อนและดอกลา มี 3 สี คือ ชมพู ขาว และเหลือง

(2) สกุลบัวก้านอ่อน (*Nymphaea*) ชื่อทั่วไปคือ อุบลชาติ หรือ บัวสาย มีชื่อสามัญว่า Waterlily จัดอยู่ในวงศ์ Nymphaeaceae อุบลชาติ (*Nymphaea*) จัดอยู่ในกลุ่มพืชดอก ใบเลี้ยงคู่งอกจากเมล็ด ลักษณะลำต้นมีทั้งที่เป็นหัว หรือเป็นเหง้า รากอวบหนาสีขาว ใบเดี่ยว แตกจากหัวหรือข้อของเหง้าใต้ดิน ลักษณะใบรูปไข่หรือรูปวงกลม ฐานใบหยักเว้าชิดหรือห่างกัน ผิวใบเรียบเป็นมันลอยแตะผิวน้ำ ขอบใบเรียบหรือหยักแหลม ก้านใบเรียบเกลี้ยงติดกับแผ่นใบด้านหลังตรงฐานใบ (sub-palate leaf) ดอกเดี่ยว ดอกเกิดจากหัวหรือเหง้าใต้ดินตรงซอกใบก้านดอก (peduncle) บางชนิดมีกลิ่นหอม ก้านดอกส่งดอกขึ้นมาเจริญที่ผิวน้ำหรือชูก้านเหนือน้ำ ดอกประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 4-6 กลีบขนาดใหญ่ กลีบดอกจำนวนมากมีสีต่างๆ ตั้งแต่ขาว ชมพู เหลือง แสด ม่วงจนถึงสีคราม ฟ้าหรือน้ำเงิน เรียงซ้อนกันหลายชั้น เกสรเพศผู้จำนวนมากเรียงซ้อนกันรอบฐานรังไข่ บางชนิดมีเกสรเพศผู้ที่เป็นหมัน รังไข่อยู่เหนือชั้นกลีบดอก และเกสรเพศผู้ ผลเป็นผลเดี่ยวแบบ berry ภายในรังไข่มีหลายช่อง (carpel) ยอดเกสรเพศเมีย (stigma) ติดอยู่ด้านบนของรังไข่ มีสีตามกลีบดอก รังไข่เมื่อได้รับการผสมแล้วจะลงไปเจริญอยู่ใต้น้ำ มักเรียกว่า “โตนด” ภายในมีเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก (สุชาดา และคณะ, 2551) มี 2 ประเภท คือ ประเภทบานกลางวัน และประเภทบานกลางคืน

2.1) ประเภทบานกลางวัน (Tropical Day Blooming Waterlily) มี 2 ชนิด ชนิดแรกคือ อุบลชาติยืนต้น (Hardy Waterlily) ได้แก่ บัวฝรั่ง มีถิ่นกำเนิดในเขตหนาวถึงอบอุ่น ลักษณะใบกลม ขอบใบเรียบ ดอกเป็นรูปทรงถ้วย ลอยอยู่เหนือผิวน้ำ ออกดอกเป็นชุด ชุดละ 3-4 ดอก ติดต่อกัน 2-3 เดือน ดอกมีกลิ่นหอมอ่อนๆ มี 5 สี คือ ขาว ชมพู แดง เหลือง และสีอมแสด ชนิดที่สองคือ อุบลชาติล้มลุก (Tropical Waterlily) ได้แก่ บัวผัน บัวเผื่อน บัวยักษ์ และบัวจงกลนี มีต้นกำเนิด

ในเขตร้อน บัวผัน บัวเผื่อน เป็นบัวใบหยัก ขอบใบไม่เรียบ ดอกชูพ้นน้ำ ดอกดก และออกดอกมาทดแทนกันตลอดเวลา กลีบดอกเรียวยาวแหลม เวลาบานจะแผ่ออก ดอกมีกลิ่นหอมมาก มี 9 สี คือ ขาว ชมพู แดง เหลือง แสด ฟ้าคราม ม่วงแดง ม่วงน้ำเงิน และสีเหลือบ (สีเหลือบมีสีฟ้าเหลือบเหลืองเขียว) บัวยักษ์ หรือบัวยักษ์ออสเตรเลีย (Gigantea) เป็นบัวพื้นเมืองทวีปออสเตรเลีย ใบและดอกมีขนาดใหญ่ ใบหยัก ขอบใบไม่เรียบ ดอกชูพ้นน้ำ ดอกดกและออกทดแทนกันตลอดเวลา มีกลิ่นหอมเล็กน้อย มี 2 สี คือ สีขาว และสีม่วง หรือม่วงคราม บัวจงกลนี เป็นบัวพื้นเมืองของไทย มีแห่งเดียวในโลก ลักษณะใบรี ขอบใบหยัก ออกดอกดก และทยอยออก ดอกมีสีชมพูอ่อน กลิ่นหอมเล็กน้อย ดอกลอยเหนือผิวน้ำ ดอกบานแล้วไม่หุบ

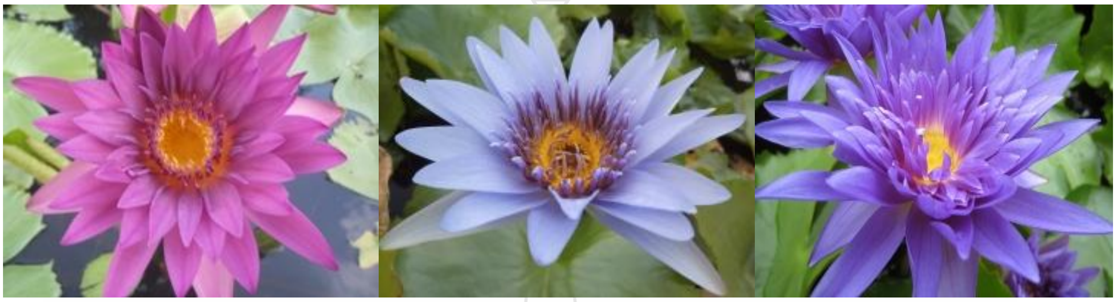
2.2) ประเภทบานกลางคืน (Tropical Night Blooming Waterlily) ได้แก่ บัวกินสาย หรือบัวสาย ใบหยัก ขอบใบไม่เรียบ ดอกชูพ้นน้ำ ดอกดกและออกมาทดแทนกัน ตลอดเวลา ดอกมีกลิ่นหอมอ่อนๆ มี 3 สี คือ ขาว แดง และชมพู

(3) สกุลบัววิกตอเรีย (*Victoria*) หรือบัวกระด้ง ลักษณะเด่น คือ ลำต้นอยู่ใต้ดิน ใบเดี่ยว ลักษณะกลมมีขนาดใหญ่มากลอยแตะผิวน้ำ ขอบใบสูงคล้ายกระด้ง ใบและก้านใบมีหนามแหลม ดอกมีกลิ่นหอม ทยอยออกดอก กลีบดอกชั้นนอกมีหนามแหลมปกติ ดอกจะบานกลางคืน เมื่อแรกที่ดอกบานจะมีสีขาวแล้วจึงเปลี่ยนเป็นสีชมพูและสีแดงเข้ม

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวฉลองขวัญ

บัวฉลองขวัญ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nymphaea* 'Chalong Kwan' ชื่ออื่นคือ 'King of Siam' จัดอยู่ในสกุล *Nymphaea* วงศ์ Nymphaeaceae มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย เป็นบัวลูกผสมระหว่างบัวพันธุ์ลาภประเสริฐ กับ พันธุ์ Colorata โดยอาจารย์ชัยพล ธรรมสุวรรณ เมื่อปี พ.ศ. 2541 จำนวนโครโมโซม 2n = 28 (Songpanich and Hongtrakul, 2010) ลักษณะพันธุ์เป็นอุบลชาติล้มลุกบานกลางวัน หรือบัวผัน ดอกตูม ทรงดอกโคนกว้างปลายเรียว สีเขียวอ่อน ดอกบาน กลีบดอกสีม่วงน้ำเงินเข้ม อับเรณู ก้านอับเรณู และเกสรเพศเมียสีเหลือง ทรงกลีบดอกเรียวยาว ทรงดอกบานแผ่ครึ่งวงกลมถึงค่อนวงกลม กลีบดอกซ้อนมากพิเศษ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-12 เซนติเมตร ให้ดอกดก เฉลี่ย 14 ดอกต่อต้น ต่อเดือน โดยทยอยออกตามกัน บานนาน 3 วัน ดอกมีกลิ่นหอมอ่อนๆ บานกลางวันเวลา 7.00 - 17.00 น. (ภูรินทร์ และ สมพร, 2550) ลักษณะก้านใบและก้านดอกสีเขียวอ่อน ไม่มีขน ลักษณะใบ ใบอ่อน รูปไข่ หน้าใบสีเขียว มีประเล็กน้อย หลังใบสีเขียว มีแถบรูปหอกบริเวณแนวแกนใบ ใบแก่ หน้าใบและหลังใบสีเช่นเดียวกับใบอ่อน แต่แถบรูปหอกสีเข้มขึ้น ขอบใบจักมนไม่เป็นระเบียบ ปลายใบมน ฐานใบเปิดบางส่วน ขนาดใบเส้นผ่าศูนย์กลาง 15-20 เซนติเมตร เกสรเพศผู้เปลี่ยนไปเป็นกลีบดอกอย่างสมบูรณ์ แต่เป็นกลีบ

ดอกขนาดเล็กกว่ากลีบปกติที่อยู่รอบนอก รูปร่างและสีสันเหมือนกลีบดอกปกติ ส่วนเกสรเพศเมียแม้จะมีโครงสร้างเกือบปกติ แต่ไม่สามารถใช้เป็นต้นแม่ได้ (ณรงค์ และ ณ.นพชัย, 2550) ขยายพันธุ์ด้วยต้นอ่อนหรือหัว เป็นบัวที่ไม่พักตัว



พันธุ์ลาภประเสริฐ (*Nymphaea* 'Larpprasert')

พันธุ์ Colorata (*Nymphaea* 'Colorata')

บัวลูกผสมพันธุ์ฉลองขวัญ (*Nymphaea* 'Chalong Kwan')

ภาพที่ 2.1 บัวลูกผสมพันธุ์ฉลองขวัญได้จากการผสมระหว่างพันธุ์ลาภประเสริฐ กับพันธุ์ Colorata

2.3 การเจริญเติบโตของบัว

ในธรรมชาติบัวก้านอ่อนหรืออุบลชาติทุกชนิดจะสืบพันธุ์และขยายพันธุ์ เจริญเติบโตรักษาเผ่าพันธุ์ด้วยเมล็ดจากการผสมพันธุ์ ยกเว้นจงกลนี บัวประดับก้านอ่อนที่เกิดจากเมล็ดส่วนใหญ่จะกลายพันธุ์ไม่เหมือนต้นพ่อ แม่ เพราะเป็นพืชผสมข้าม (cross pollinated crops) บัวประดับส่วนใหญ่จึงเป็นพันธุ์ลูกผสม (hybrid) ดังนั้นต้องปลูกจากส่วนที่ขยายพันธุ์ได้ของต้นแม่ (propagating material) ได้แก่ จากการขยายพันธุ์ของเนื้อเยื่อ จากหน่อ หัว เหง้า หรือต้นอ่อนที่แยกจากต้นแม่โดยตรงเท่านั้น

การเจริญเติบโตของอุบลชาติยืนต้น (บัวฝรั่ง) จะเกิดหน่อหรือเหง้า จากลำต้นใต้ดิน แล้วเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ เติบโตไปในแนวนอน แล้วจะมีปุ่มตาเกิดขึ้น ถ้าต้นสมบูรณ์เหมาะสมก็จะแตกเป็นหน่ออ่อน โตขึ้นเปลี่ยนเป็นเหง้าขยายพันธุ์ต่อไปได้

การเจริญเติบโตของอุบลชาติล้มลุกบานกลางวัน (บัวผัน บัวเผื่อน) จะเกิดได้จากต้น หรือหัวที่แตกจากต้นแม่ ลักษณะของการเจริญเติบโตมีดังนี้

(ก) การเจริญจากต้นอ่อน (shoot) เมื่อต้นแม่เจริญเติบโตมานาน จะแตกต้นอ่อนให้ โดยเกิดต้นจากตา ส่วนใหญ่อยู่ที่ส่วนยอดหรือข้างยอดของเหง้า เจริญเติบโตแทนต้นแม่ที่จะตายและสลายตัวไป

(ข) การเจริญจากหัว (bulb) ในสภาพที่ต้นแม่ (เหง้า) ใกล้จะตาย หรือมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมอย่างกะทันหัน เพื่อไม่ให้สูญพันธุ์ บัวจะสร้างหัวเพื่อสะสมอาหารอยู่ในนั้น

สำหรับอุบลชาติล้มลุกบานกลางคืน (บัวกินสาย) การแตกต้น หัวหรือเหง้า จะแตกไหลออกมาก่อน แล้วเจริญเลื้อยไปใต้ดินระยะหนึ่ง เมื่อต้นโตแข็งแรงแล้วจะสร้างหัวใต้ราก เมื่อหัวโตโดยธรรมชาติก็จะหลุดจากกัน แตกต้นใหม่ขึ้นมา บัวกินสายจึงมีการผลิตหัวได้ง่ายและผลิตได้ตลอดเวลา (เสริมลาภ, 2525)

2.4 การขยายพันธุ์บัว

อุบลชาติทั้งประเภทยืนต้นและล้มลุก ขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ยกเว้นบัวจงกลนี และบัวลูกผสมบางสายพันธุ์ ไม่สามารถขยายพันธุ์โดยอาศัยเพศได้ ขณะเดียวกันก็มีบัวบางชนิดที่ต้องขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดเพียงอย่างเดียว (บัวทิพย์, 2554)

2.4.1 การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ

บัวจัดอยู่ในกลุ่มพืชผสมข้าม (cross pollinated plant) ดอกสมบูรณ์เพศมีเกสรตัวผู้และตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน เกสรตัวเมียจะบานก่อนเกสรตัวผู้ 1-2 วัน เกสรตัวเมียจึงมักได้รับการผสมพันธุ์จากเกสรตัวผู้ของดอกอื่น โดยมีลมและแมลงเป็นตัวช่วยในการผสมพันธุ์ ดอกแม่เมื่อได้รับการผสมแล้วถ้าผสมไม่ติดดอกจะลอยอยู่ปริ่มน้ำแล้วจะโรยไป ถ้าผสมติดดอกจะเริ่มกลายเป็นฝักโดยดอกจะค่อยๆ จมลงใต้น้ำประมาณ 2 สัปดาห์ เมื่อดอกเจริญเป็นฝักแก่และมีเมล็ดแก่ก็จะลอยขึ้นมาบนผิวน้ำใหม่อีกครั้ง จึงเก็บเอาฝักแก่มาแยกเอาเมล็ดนำไปเพาะต่อไป (เสริมลาภ, 2525) การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดไม่ค่อยนิยมปฏิบัติเนื่องจากยุ่งยากและต้องใช้เวลานาน ยกเว้นบัวกระด้งที่ต้องขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (เสนีย์, 2543)

2.4.2 การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

การขยายพันธุ์โดยวิธีนี้เป็นที่นิยม เพราะจะได้ต้นใหม่ที่มีลักษณะตรงตามสายพันธุ์เดิม ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การแยกต้นอ่อนจากหัว อุบลชาติล้มลุกบานกลางวันจะแตกต้นอ่อนจากตาบนหัว เมื่อต้นใหม่เจริญพอสมควรจะสร้างหัวไว้ที่โคนต้น ขยายพันธุ์โดยรอให้ต้นแม่แตกต้นใหม่ขึ้นมา เมื่อเริ่มมีใบลอย 4-5 ใบ ก็ปลิดต้นแยกจากหัวหรือโคนหน่อไปปลูก ถ้าหัวแข็งแรงจะผลิตต้นใหม่ออกมาให้เรื่อยๆ บางหัวอาจได้ถึง 4-5 ต้น (เสริมลาภ, 2525) หรือจากการผลิตหัว อุบลชาติบางพันธุ์ขยายพันธุ์ได้ยากมาก การกระตุ้นให้บัวสร้างหัวใหม่จำนวนมากด้วยการบังคับให้อดอาหาร เป็นวิธีการที่นักขยายพันธุ์นิยมใช้ โดยการปลูกบัวในภาชนะขนาดเล็ก ที่มีอาหาร

เพียงพอต่อการเจริญเติบโตในระยะแรก จากนั้นปล่อยให้บัวอดอาหารจนเข้าสู่ระยะพักตัว ก็จะผลิตหัวเล็กๆ ขึ้นมา (Nash and Stroupe, 1998) สำหรับบัวบางชนิดสามารถขยายพันธุ์จากต้นอ่อนที่เกิดบนใบ (viviparous) โดยจะมีตุ่มสีดำโผล่ขึ้นมากลางใบ หากทิ้งไว้ก็จะมีต้นอ่อนเกิดขึ้น (เสนีย์, 2543)

การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเทคนิคที่ปลอดเชื้อ ลดพื้นที่และต้นทุนในการผลิต โดยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต เช่นไซโทไคนิน มีผลต่อการเกิดยอดจำนวนมาก การชักนำรากจากยอดสามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่เติมออกซิน เป็นต้น การประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับอุบลชาติ ไม่เพียงแต่ขยายปริมาณมากในระยะเวลาสั้นเท่านั้น แต่ยังเป็นประโยชน์ในการรักษาพันธุ์แท้ พันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ พันธุ์หายาก และสายพันธุ์ใหม่ ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ต่อความหลากหลายด้านประชากรพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรมในอนาคต (Shou *et al*., 2008)

2.5 เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นการนำเซลล์หรือชิ้นส่วนของพืช มาเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสมในสภาพที่ปลอดเชื้อในสภาวะที่ควบคุมสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ แสง และความชื้น ชิ้นส่วนพืชจะเจริญเติบโต และพัฒนาไปในรูปแบบต่างๆ เช่น เกิดเป็นยอด ราก เอมบริโอ หรือกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่าแคลลัส (callus) ที่สามารถชักนำให้เจริญเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์เป็นจำนวนมากได้ เป็นต้น (ประศาสตร์, 2538)

2.5.1 การพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช

ชิ้นส่วนของพืชที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ และเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์จะมีการพัฒนาเป็นหน่อเล็กๆ ภายใน 1-2 เดือน และเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชิ้นส่วนพืชเหล่านั้นจะเจริญเติบโต และพัฒนาไปเป็นต้นที่มีปริมาณมากขึ้น เมื่อได้จำนวนต้นตามต้องการ จึงเปลี่ยนสูตรอาหารสังเคราะห์เพื่อชักนำการเกิดราก จนกระทั่งได้ต้นพืชที่มีการเจริญเติบโตได้อย่างต่อเนื่อง ต้องตัดย้ายเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารใหม่ทุก 3 หรือ 4 สัปดาห์ ระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช สามารถแบ่งได้เป็น 3 ระยะ คือ

(1) ระยะเริ่มต้น ชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว จะเริ่มเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นยอดใหม่ ใช้เวลาประมาณ 1-2 สัปดาห์

(2) ระยะเพิ่มปริมาณ เมื่อชิ้นส่วนพืชพัฒนาเป็นยอดแล้วต้องเปลี่ยนสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งมีประสิทธิภาพในการชักนำให้ยอดพืชเพิ่มปริมาณได้ตามต้องการ ใช้เวลาประมาณ 4-6 สัปดาห์

(3) ระยะเกิดราก หลังจากที่เพิ่มปริมาณยอดเพียงพอต่อความต้องการแล้วจะเข้าสู่ระยะสุดท้ายของการพัฒนาชิ้นส่วนพืช คือ การชักนำให้เกิดรากโดยการเปลี่ยนสูตรอาหารที่ประกอบด้วยสารกลุ่มออกซิน ซึ่งมีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดรากพืช เช่น NAA และ IBA เป็นต้น โดยทั่วไปใช้เวลาประมาณ 1 เดือน ชิ้นส่วนพืชจะพัฒนาจนเป็นต้นที่สมบูรณ์ มีทั้งส่วนราก ลำต้น และใบ พร้อมที่จะนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2546)

2.5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช

พืชแต่ละชนิดต้องการอาหารที่แตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ ฉะนั้นจึงมีความจำเป็นในการเลือกสูตรอาหารให้เหมาะสมกับพืชที่จะทำการเพาะเลี้ยง การเจริญและพัฒนาไปเป็นต้นและ/หรือราก ของพืชแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน ฮอร์โมนที่มีอยู่ภายในพืชมีบทบาทอย่างมากกับขบวนการเกิดลักษณะรูปร่างภายในเนื้อเยื่อพืช เช่น พืชบางชนิดอาจจะมีออกซินในปริมาณที่สูง เมื่อนำเนื้อเยื่อของพืชชนิดนี้ไปเลี้ยง เนื้อเยื่อสามารถพัฒนาไปเป็นแคลลัสและรากได้ดี พืชบางชนิดอาจจะมีไซโตไคนิน เนื้อเยื่อของพืชชนิดนี้เมื่อนำไปเลี้ยงจะพัฒนาไปเป็นหน่อได้ดี เป็นต้น แสง (light) ก็เป็นปัจจัยสำคัญ เนื่องจากมีความจำเป็นในการเจริญเติบโตของพืชในหลอดทดลอง เช่น ช่วยในการสร้างราก การสร้างต้นใหม่จากแคลลัส เป็นต้น สำหรับอุณหภูมิ (temperature) ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชมักต่ำกว่าในธรรมชาติ อุณหภูมิที่ใช้มักคงที่ประมาณ 24-26 องศาเซลเซียส และในส่วนความชื้น (humidity) เนื่องจากในหลอดแก้วมีความชื้นค่อนข้างสูง ถ้าความชื้นในห้องเพาะเลี้ยงต่ำ ก็จะเกิดการสูญเสียน้ำภายในหลอดแก้ว ส่งผลให้อาหารแห้งเร็ว แต่ถ้าความชื้นในห้องเพาะเลี้ยงสูงเกินไป จะช่วยให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญได้ดี เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้ง่าย และถ้าความชื้นภายในหลอดทดลองสูงมาก จะทำให้พืชเกิดอาการฉ่ำน้ำ (อภิชาติ, 2010) สำหรับการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืช มีรายงานถึงอุณหภูมิและแสงที่ได้รับมีผลต่อการเกิดยอดและใบจากเนื้อเยื่อของตาบัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 16 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมง ส่งเสริมการเกิดยอดและใบได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญของชิ้นส่วนพืชทั้งจำนวนใบและยอด (Shou *et al.*, 2008)

2.5.3 บทบาทของแร่ธาตุและสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเจริญเติบโตของพืชมีความต้องการแร่ธาตุจำพวกอนินทรีย์สารในรูปของอิออน (ion) ในปริมาณที่แตกต่างกัน แร่ธาตุบางชนิดพืชมีความต้องการในปริมาณมาก เรียกธาตุอาหารเหล่านี้ว่า ธาตุอาหารหลัก (macronutrient) และแร่ธาตุที่ต้องการในปริมาณน้อย เรียกว่า

ธาตุอาหารรอง (micronutrients) ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงต้องให้แร่ธาตุอาหารตามที่พืชต้องการเหมือนในธรรมชาติ และให้คาร์โบไฮเดรตปกติ คือน้ำตาลซูโครส (sucrose) เพื่อนำไปใช้ทดแทนคาร์บอนซึ่งปกติจะได้มาจากการสังเคราะห์แสง นอกจากนั้นยังให้สารประกอบพวกอินทรีย์สาร เช่น วิตามิน กรดอะมิโน และสารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulators) เป็นต้น (บุญยืน, 2540)

สารควบคุมการเจริญเติบโต (ฮอร์โมน) ทั้งที่พืชสังเคราะห์ขึ้นในธรรมชาติ และสารเคมีที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้นมา ล้วนมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโต และพัฒนาของพืช ฮอร์โมนแต่ละชนิดมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยา แตกต่างออกไปในพืชแต่ละชนิด ทั้งนี้ขึ้นกับชนิด และความเข้มข้นของสาร มีดังนี้

(1) ออกซิน สารในกลุ่มออกซินมีทั้งที่พืชสร้างขึ้นเองและสารสังเคราะห์ มีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยืดตัวของเซลล์ และมีผลกระตุ้นการเกิดราก ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นจากบริเวณปลายราก ตา เมล็ด และแคมเบียม สารในกลุ่มออกซิน เช่น IAA NAA IBA และ 2, 4-D เป็นต้น

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชการใช้ฮอร์โมน IBA และ NAA มีประสิทธิภาพสูงกว่า IAA และ 2, 4-D ในการส่งเสริมให้เกิดราก การใช้ออกซินความเข้มข้นสูงในระยะแรกเพื่อให้มีการแบ่งเซลล์และสร้างจุดกำเนิดราก แต่การได้รับออกซินความเข้มข้นสูงเป็นเวลานานจะยับยั้งการเจริญเติบโตของราก การใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนิน เพื่อกระตุ้นให้เกิดออร์แกโนเจเนซิส สำหรับ 2, 4-D เป็นสารกลุ่มออกซินที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัส มักใช้ออกซินร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นๆ

(2) ไซโตไคนิน ฮอร์โมนในกลุ่มนี้จะกระตุ้นการเจริญของพืช ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ กระตุ้นการเกิดยอดแต่ยับยั้งการเกิดราก ส่งเสริมการแตกตาข้าง การใช้ไซโตไคนิน ร่วมกับออกซินจะชักนำให้เกิดแคลลัส ไซโตไคนินถูกสร้างที่บริเวณปลายราก แล้วเคลื่อนย้ายไปยังใบ และส่วนต่างๆ ของพืชทางท่อน้ำ

ฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีทั้งที่พืชสร้างขึ้นในธรรมชาติ ได้แก่ zeatin และฮอร์โมนสังเคราะห์ เช่น BAP และ kinetin เป็นต้น ซึ่ง BAP เป็นสารที่นิยมใช้มากที่สุดในการกระตุ้นให้เกิดยอดจำนวนมาก เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูง และราคาถูก (พิมล, 2538)

การทำงานร่วมกันระหว่างออกซินและไซโตไคนิน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมักใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนิน เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส และเพิ่มปริมาณแคลลัส ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไซโตไคนินและออกซินมีบทบาทต่อการเกิดออร์แกโนเจเนซีส หากความเข้มข้นของ

ออกซินสูง มีผลชักนำให้เกิดราก ในขณะเดียวกันก็ยับยั้งการเกิดยอด แต่ถ้ามีความเข้มข้นของไซโตไคนินสูงจะชักนำให้เกิดยอดและยับยั้งการเกิดราก ดังนั้นการเกิดยอดและรากของพืชจึงขึ้นอยู่กับสมดุลของออกซินและไซโตไคนิน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หากเติมออกซินร่วมกับไซโตไคนินจะมีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อดีกว่าการใช้ออกซิน หรือไซโตไคนินเพียงอย่างเดียว (Collin and Edwards, 1998)

2.6 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ปลายยอด ลำต้น ใบ ดอก ผล เนื้อเยื่อ เซลล์ และโปรโตพลาสต์ เป็นต้น สามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดและเป้าหมายของการเพาะเลี้ยง โดยทั่วไปส่วนที่นำมาใช้ควรมีอายุน้อย เพราะสามารถชักนำให้เกิดการเจริญเติบโตและพัฒนาได้ดีกว่าส่วนที่มีอายุมาก จากการทดลองของ Shou *et al*. (2008) พบว่าขนาดและอายุพืชมีผลต่อการชักนำยอด และการตอบสนองที่แตกต่างกัน

การฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อขจัดสิ่งสกปรกและเชื้อจุลินทรีย์ ที่อาจไปเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะต่อความเป็นกรดและด่าง (pH) การเคลื่อนย้ายธาตุอาหาร และสารกระตุ้นการเจริญเติบโตจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง โดยทั่วไปแล้วการขจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากผิว สามารถใช้สารฟอกกำจัดเชื้อได้หลายชนิด เช่น Calcium hypochlorite ($CaCl_2O_2$), Sodium hypochlorite (NaOCl), Mercuric chloride ($HgCl_2$) และแอลกอฮอล์ เป็นต้น การฟอกฆ่าเชื้อ อาจใช้เพียงสารฟอกฆ่าเชื้อชนิดเดียว หรือใช้หลายชนิด โดยอาจฟอกเพียงครั้งเดียวหรือฟอกเป็นลำดับต่อเนื่องกัน เพื่อให้การฆ่าเชื้อได้ผลดีที่สุด ควรเติมสารจับใบ (surfactant) เพื่อช่วยให้สารฟอกฆ่าเชื้อเข้าไปที่ผิวของพืชที่ไม่เรียบได้ดีขึ้น

การนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ตัดแต่งแล้วลงเลี้ยงบนอาหารแข็ง หรืออาหารเหลว ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิด และปริมาณที่เหมาะสมต่อพืชนั้น เพื่อให้ชิ้นส่วนพืชมีการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ โดยนำไว้ที่ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พร้อมชั้นวางที่มีหลอดไฟเรืองแสงสีขาว ความเข้มแสงประมาณ 40 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน จากนั้นติดตามผลและเปลี่ยนอาหารทุก 2-4 สัปดาห์ (รังสฤษดิ์, 2541)

2.6.1 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต่างๆ ของบัว

มีรายงานการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนบัวสายพันธุ์ต่างๆ ดังนี้ ภัณฑิลา (2551) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวจงกลนีโดยฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที แล้วฟอกตามด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1

เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ชิ้นส่วนปลอดเชื้อ 84.8 เปอร์เซ็นต์ รอดชีวิต 56.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนดอกอ่อนบัวจงกลนี ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที แล้วฟอกตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ชิ้นส่วนปลอดเชื้อ และรอดชีวิต 96.7 เปอร์เซ็นต์ สำหรับใบอ่อน ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ชิ้นส่วนปลอดเชื้อ 83.3 เปอร์เซ็นต์ รอดชีวิต 76.7 เปอร์เซ็นต์ สำหรับวีรา (2551) ทดลองฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนปลายยอดของอุบลชาติพันธุ์โจอี้โทโมคิด 6 วิธี พบว่าวิธีที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที ตามด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที 2 ครั้ง แล้วฟอกตามด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที 2 ครั้ง และนำชิ้นส่วนไปฟอกต่อในแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที 2 ครั้ง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ 11.1 เปอร์เซ็นต์ และ Ubonprasirt (2010) ทดลองฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยของบัวสายเขตร้อนบานกลางคืน (*Nymphaea pubescens*) ด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อ 4 ชนิด พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้แอลกอฮอล์ 30 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 9 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที เมอคิวริกคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที และคลอรอกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเฉลี่ยสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

2.6.2 วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัว

2.6.2.1 การชักนำให้เกิดยอด

สารกลุ่มไซโตไคนินส่งเสริมการแบ่งเซลล์และกระตุ้นการเจริญเติบโตของยอดและใบ พืชแต่ละชนิดตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แตกต่างกัน พืชบางชนิดต้องการไซโตไคนินเพียงอย่างเดียวเพราะภายในเนื้อเยื่อพืชมีสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินในปริมาณที่เหมาะสมอยู่แล้ว ในบัวจงกลนีการใช้ BAP หรือ 2iP ร่วมกับ IAA พบว่าทำให้จำนวนยอด และจำนวนใบน้อยกว่าการใช้ BAP เพียงอย่างเดียว (ภัณฑิลา, 2551) สำหรับในอุบลชาติพันธุ์โจอี้โทโมคิค การใช้ NAA 6 ไมโครโมลาร์ BAP 7.5 ไมโครโมลาร์ และ 2iP 40 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำชิ้นส่วนให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.8 ยอดต่อชิ้นส่วน (สุเม และคณะ, 2551) การเพาะเลี้ยงหัวย่อยบัวสายเขตร้อนบานกลางคืน ด้วยอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด 4 ยอดต่อชิ้นส่วน (Ubonprasirt, 2010) สำหรับบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช การใช้ TDZ 0.005 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 15 ไมโครโมลาร์ ให้ผลดีที่สุด โดยมีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโต และ

พัฒนาการเกิดยอดเท่ากับ 4.85 และ 3.25 คะแนน และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 80 เปอร์เซ็นต์ (กุลวรา และ จันทิมา, 2543) นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำยอดบัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) ด้วยการเพาะเลี้ยงตาบัวหลวงในอาหาร MS ที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และเติม BAP ร่วมกับ NAA สภาวะการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมง หลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ พบว่าในอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.54 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการเพิ่มจำนวนยอดสูงกว่าที่ไม่เติม BAP และพบว่าจำนวนยอดและความยาวยอดลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BAP ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาบัวหลวงในอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ อย่างเดียวมีผลในการชักนำยอดมากที่สุด (Shou *et al*., 2008) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Nymphaea nouchali* var. *versicolor* ‘Bua Phuean’ โดยการแบ่งหัว 4 ส่วน พบว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BAP 2.5 ไมโครโมล และผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้การให้แสง ให้จำนวนใบเฉลี่ย 6.8 ใบ ความยาวก้านใบเฉลี่ย 1.86 เซนติเมตร ต่อชิ้นส่วน (Bodhipadma *et al*., 2011) Jenks *et al*. (2000) รายงานการชักนำยอดจากก้านใบ *Nymphoides indica* พบว่าการใช้ BAP ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอดได้ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 11.5 ยอดต่อชิ้นส่วน และThomas (2007) ศึกษาการชักนำยอดจากใบ *Curculigo orchiioides* Gaertn. โดยใบอ่อนเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 56 เปอร์เซ็นต์ ให้ยอดเฉลี่ยสูงสุด 5.7 ยอด เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 4 ไมโคร์โมลาร์ ร่วมกับ NAA 1 ไมโคร์โมลาร์ และการนำใบมาแช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ 15 ไมโคร์โมลาร์ เขย่านาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ 6 ไมโคร์โมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 96 เปอร์เซ็นต์ ให้ยอดเฉลี่ยสูงสุด 16.2 ยอด หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน

2.6.2.2 การชักนำราก

การชักนำรากจากยอดเป็นผลของความเข้มข้นของออกซินในอาหารเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับชนิดของพืช อายุของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญ ออกซินตามธรรมชาติของพืช และชนิดของออกซินที่นำมาใช้ (Sunian, 2004) มีรายงานการชักนำรากจากยอดบัวหลวง ซึ่งใช้ NAA ความเข้มข้น 5.37 ไมโครโมลาร์ เพียงชนิดเดียว เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอัตราการเกิดรากเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ NAA ระหว่าง 2.69-5.37 ไมโครโมลาร์ และลดลงเมื่อความเข้มข้นของ NAA สูงกว่า 8.06 ไมโครโมลาร์ และ BAP 0.44 ไมโครโมลาร์ มีผลเล็กน้อยต่อการเกิดราก (Shou *et al*., 2008) การเพาะเลี้ยงหน่ออ่อนของบัวลูกผสม (*Nymphaea* ‘James Brydon’) พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากภายใน 4 สัปดาห์ ในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Lakshmanan, 1994) ในพืชอื่น Thomas (2007) ศึกษาการชักนำรากจากยอด *Curculigo orchiioides*

Gaertn. โดยเลี้ยงยอดในอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม IBA 4 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถชักนำยอดให้เกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 4.8 รากต่อยอด Kambaska and Santilata (2009) ศึกษาการชักนำรากจากยอดของ *Zingiber officinale* Rose.สามารถชักนำรากได้สูงสุดในอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม NAA 2 ไมโครโมลาร์ โดยมีจำนวนราก และความยาวรากเฉลี่ย 8.5 ราก และ 3.5 เซนติเมตร ต่อยอด ในเวลา 4 สัปดาห์

2.6.2.3 การชักนำให้เกิดแคลลัส

แคลลัส หมายถึง เซลล์ที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม โดยยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอวัยวะหรือเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ แคลลัสประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma) เพียงอย่างเดียว มีขนาดต่างๆ รูปร่างไม่แน่นอน ส่วนใหญ่เพาะเลี้ยงแคลลัสเพื่อการขยายพันธุ์ การผลิตพืชพันธุ์ทนทานหรือต้านทาน การชักนำให้เกิดแคลลัส ต้องอาศัยปัจจัยทั้งภายในและภายนอก ได้แก่ สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต ตลอดทั้งปัจจัยในต้นพืชเอง (ศิรินธร, 2551) การศึกษาการเกิดแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช โดยนำส่วนเหนือใบเลี้ยง ตา ใบเลี้ยง และใบอ่อนมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ร่วมกับ BAP พบว่าส่วนเหนือใบเลี้ยงมีการเกิดแคลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนตาให้แคลลัสที่มีลักษณะดีที่สุด ใบเลี้ยงเกิดแคลลัสน้อย (Arunyanart and Chaitrayagun, 2005) จิตเกษม และคณะ (2545) รายงานการชักนำให้เกิดแคลลัสในบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก โดยศึกษาผลของชิ้นส่วนเริ่มต้นและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัส ชิ้นส่วนที่ศึกษาได้แก่ เมล็ดอ่อน ตา ไหล และยอด พบว่ายอดจากคัพภะ ที่เลี้ยงใน NAA 50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0.25 ไมโครโมลาร์ มีคะแนนการเจริญเติบโตและขนาดของแคลลัสสูงสุดในทุกสัปดาห์ โดยเฉพาะในสัปดาห์ที่ 4 แคลลัสมีขนาดใหญ่ (0.44 ตร.ซม.) มีสีเขียวใส ฉ่ำน้ำ เกาะกันอยู่หลวมๆ นอกจากนี้ รวีวรฐ และคณะ (2552) ศึกษาผลของชิ้นส่วนเริ่มต้นและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดเอมบริโอจีนิคแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก พบว่าชิ้นส่วนตายอดจากคัพภะ สามารถชักนำให้เกิดเอมบริโอจีนิคแคลลัสได้ โดยเอมบริโอจีนิคแคลลัสสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร NAA 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดเอมบริโอจีนิคแคลลัสได้ 43.33 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตสูงสุด 3.41 เปอร์เซ็นต์ และเอมบริโอจีนิคแคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุด 1.27 เซนติเมตร เนื่องจาก TDZ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ช่วยลดการเกิดสารประกอบฟีนอล ส่งเสริมการเพิ่มปริมาณแคลลัส และ NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความสำคัญในกระบวนการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของเซลล์พืช มีหน้าที่ส่งเสริมการแบ่งเซลล์และการเจริญเติบโต ทำให้พืชมีการสร้างแคลลัสได้ (ศิรินธร, 2551)

2.6.2.4 การชักนำดอกในขวดเพาะ

โดยทั่วไปพืชจะออกดอกได้ต้องอาศัยกระบวนการต่างๆ ทางสรีรวิทยาที่สลับซับซ้อน โดยมีปัจจัยทั้งทางด้านสภาพแวดล้อมภายนอก และอิทธิพลภายในต้นพืชเข้ามาเกี่ยวข้องในการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อเจริญไปเป็นระยะเจริญพันธุ์ (ออกดอก) ซึ่งปัจจัยเหล่านั้น คือ อายุ ความพร้อมของต้นพืช อาหาร ลักษณะทางพันธุกรรม และฮอร์โมนภายในต้นพืช ส่วนปัจจัยภายนอก ได้แก่ แสง สารควบคุมการเจริญเติบโต และธาตุอาหาร เป็นต้น เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ถูกนำมาใช้ในการชักนำการสร้างดอกในระยะเวลาอันสั้น โดยการดัดแปลงสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตให้เหมาะสม (ศิรินธร, 2551) ในพืชกลุ่มบัวยังไม่มีรายงานการศึกษาการชักนำดอกในขวดเพาะ แต่มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโทไคนิน (BAP) และจิบเบอเรลลินกระตุ้นการเกิดตาดอกและกิ่งก้านในบัว viviparous (Kane *et al*.,1991) สำหรับพืชชนิดอื่น มีรายงานการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการออกดอกของเอื้องแซะหอม พบว่าน้ำตาลทุกระดับ และ BAP 0-7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียล กระตุ้นให้เกิดดอกได้ (ลักขณา, 2550) ซึ่งอัตราส่วนของสารประกอบคาร์โบไฮเดรต และไนโตรเจน (C/N ratio) สูงมีผลต่อการพัฒนาตาดอกที่จะพัฒนาเป็นดอก พบว่าอัตราส่วนของสารประกอบคาร์โบไฮเดรต และไนโตรเจนที่ 7.08 สามารถชักนำดอก *Vitex negundo* L.ได้ 80 เปอร์เซ็นต์ (Vadawale *et al*., 2005) ศิรินธร (2551) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการออกดอกของกุหลาบพันธุ์มายวาเลนไทน์ในหลอดทดลอง พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการเกิดดอกสูงสุด 5 ดอกต่อชิ้นส่วน และการย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นจำนวน 6 ครั้ง เกิดดอกสูงสุด 95.08 เปอร์เซ็นต์ และ Wang *et al*. (2002) ศึกษาการชักนำดอกกุหลาบ 6 สายพันธุ์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดดอกสูงสุด 49.2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ประภาพร และคณะ (2553) รายงานการชักนำดอกของกุหลาบหนูในสภาพหลอดทดลอง พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม zeatin ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้กุหลาบหนูออกดอกในสภาพหลอดทดลองได้ 70 เปอร์เซ็นต์

2.6.2.5 การนำพืชออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

ต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีรูปร่างเหมือนต้นพืชปกติในสภาพธรรมชาติ แต่มีขนาดเล็กโดยเฉลี่ยมีความสูงประมาณ 4-8 เซนติเมตร มีใบไม่ต่ำกว่า 4 ใบ จำนวนรากไม่ต่ำกว่า 4 เส้น ความยาวราก 3-5 เซนติเมตร เมื่อนำออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องได้รับการดูแลเป็นพิเศษ เนื่องจากต้นพืชมีการสร้างสารคิวติน (cutin) ที่ทำหน้าที่ควบคุมการสูญเสียน้ำจากใบน้อย ในขณะที่ปากใบยังเปิดกว้าง เมื่อนำออกสัมผัสกับอากาศที่มีแสง อุณหภูมิ ความชื้น ไม่สม่ำเสมอ

พืชจะคายน้ำมากขึ้นทำให้พืชเหี่ยวเฉาและตายได้ง่าย การดูแลต้นพืชที่ได้จากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ก่อนการนำออกปลูก แบ่งออกเป็น 2 ระยะ ดังนี้

(1) การอนุบาลระยะที่ 1 เป็นระยะที่ต้นพืชต้องได้รับการดูแลอย่างใกล้ชิด ด้วยการควบคุมปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และความเข้มแสงให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชชนิดนั้นๆ เป็นช่วงเวลาการดูแลไม่ต่ำกว่า 30 วันตั้งแต่ย้ายปลูก

(2) การอนุบาลระยะที่ 2 เป็นการดูแลรักษาต้นพืชที่ย้ายปลูกต่อจากระยะที่ 1 เป็นเวลา 30-45 วัน พืชมีความแข็งแรงและปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้มากขึ้น ควรเปลี่ยนชนิดของวัสดุและภาชนะที่ใช้ก่อนนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2546)

2.7 การปลูกบัวประดับ

การปลูกบัวประดับมีลักษณะพิเศษคือ ต้องปลูกในสภาวะที่ควบคุมการเจริญเติบโตของบัวให้อยู่ในขอบเขตที่ต้องการและเคลื่อนย้ายได้ ภาชนะปลูกและ/หรือภาชนะรองรับ เป็นภาชนะอะไรก็ได้ที่ขังน้ำและเลี้ยงบัวได้ โดยมีผิวหน้ากว้างเพียงพอกับการแผ่ของใบบัว ได้แก่ อ่าง หรือบ่อปลูก มี 2 แบบ คือ ภาชนะที่ใช้ปลูกบัวเจริญตามแนวนอน ได้แก่ บัวหลวง และบัวฝรั่ง เป็นภาชนะใดก็ได้ที่กลมและกว้าง เพื่อให้พื้นที่แก่บัวเจริญตามแนวนอน ควรกว้างไม่ต่ำกว่า 20 เซนติเมตร ส่วนภาชนะที่ใช้ปลูกบัวที่เจริญเติบโตทางแนวดิ่ง คือ บัวผัน-เผื่อน บัวกินสาย บัวยักษ์ ออสเตรเลีย บัวนางกวัก และจงกลนี เป็นภาชนะกลม ปากกว้างหรือแคบก็ได้ แต่ไม่ควรแคบกว่า 20 เซนติเมตร รูปทรงสูง หรือจะใช้กระถางปลูกต้นไม้ก็ได้ บรรจุดินให้ลึกได้ไม่ต่ำกว่า 12-15 เซนติเมตร ดินปลูก คือ ดินเหนียวหรือดินเหนียวร่วน ดินที่ปลูกในภาชนะจำกัด ควรเป็นดินที่ได้รับการผสมเสริมธาตุอาหาร เพราะสภาพการปลูกจะไม่ได้รับธาตุอาหารที่ละลายมากับน้ำเหมือนบัวที่เจริญในธรรมชาติ

วิธีการปลูกบัว

(1) บัวที่เจริญตามแนวนอน ได้แก่ บัวหลวง บัวฝรั่ง ปลูกด้วยเหง้าหรือไหล ให้ทำร่องขนาดเท่าเหง้าหรือไหล แนวของร่องให้โค้งตามภาชนะ ห่างจากพนังภาชนะประมาณ 3-5 เซนติเมตร สำหรับบัวฝรั่งหรืออุบชาติยืนต้น เกือบทุกพันธุ์มีเหง้าแข็งและใหญ่ การเจริญเติบโตจึงเป็นเส้นตรงคล้ายกล้วยไม้ ปลูกในภาชนะที่บรรจุดินเรียบร้อยแล้ว คือ เปิดเจาะร่องให้ได้ขนาดเท่ากับความกว้างและยาวของเหง้า เป็นแนวจากริมภาชนะเข้ากลางภาชนะ ลึกประมาณ 2-3 เซนติเมตร ให้ปลายเหง้าเจริญเข้าภาชนะกลบดินอัดให้แน่น

(2) บัวที่เจริญตามแนวดิ่ง ได้แก่ บัวผัน-บัวเผื่อน ปลูกจากหัว ต้นอ่อนหรือเหง้าให้ปลูกกลางกระถาง โดยฝังหัวหรือเหง้ากลางภาชนะ ให้ส่วนยอดถูกกลบอยู่ใต้หน้าดินประมาณ 1-2 เซนติเมตร กดอัดดินกลบให้แน่น หรือเจาะรูกลางภาชนะเท่ากับหรือกว้างกว่าขนาดของหัว เหง้า

หรือต้นอ่อนเล็กน้อย แล้วฝังหรือเสียบให้ยอดต่ำกว่าผิวดิน 1-2 เซนติเมตร อัดดินปิดให้แน่น ภาชนะบรรจุดินขนาดปลุก 1 ลูกบาศก์ฟุต หรือขนาดประมาณกระถาง 12 นิ้ว จะปลูกบัวก้านอ่อนอยู่ได้ 1 ปีครึ่ง ถึง 2 ปี (เสริมลาภ, 2549)

ภูรินทร์ และสมพร (2550) รายงานการศึกษาอิทธิพลของขนาดภาชนะ ความลึกของดิน และอัตราปุ๋ยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอุบลชาติและปทุมชาติบางพันธุ์ สำหรับบัวฉลองขวัญ พบว่าขนาดภาชนะปลูก ความลึกของดินปลูก และอัตราปุ๋ยในแต่ละตำรับทดลองไม่มีผลต่อจำนวนดอก จำนวนกลีบดอกและจำนวนใบดี แต่มีผลต่อขนาดดอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การพิจารณาการเจริญเติบโตของบัวฉลองขวัญจากขนาดของดอก พบว่าบัวฉลองขวัญที่ปลูกในภาชนะปลูกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 เซนติเมตร ความลึกดิน 10 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยอัตรา 2.31 กรัมต่อกิโลกรัมดิน ให้ขนาดดอกสูงสุด คือ 13.99 เซนติเมตร วิชัย (2543) ศึกษาการย้ายต้นอ่อนบัวหลวงไทยและบัวหลวงอเมริกัน โดยนำต้นที่สมบูรณ์ไปเลี้ยงในตู้เพาะเลี้ยงอนุบาลพืช เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ใช้วัสดุปลูก 3 ชนิด คือ ดินเหนียว ทราย และดินเหนียวปนทราย ต้นอ่อนของบัวทั้ง 2 ชนิด สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินเหนียวปนทราย ไม่สามารถเจริญได้ในทราย และตายในที่สุด หลังจากนั้นทำการย้ายบัวทั้ง 2 ชนิดออกสู่สภาพธรรมชาติ พบว่า บัวหลวงไทยสามารถปรับตัวและเจริญเติบโตต่อไปได้ แต่บัวหลวงอเมริกันไม่สามารถปรับตัวได้ และเหี่ยวเฉาตายภายใน 1 สัปดาห์ นอกจากนี้ ภัณฑิลา (2551) ศึกษาการย้ายปลูกบัวบัวจงกลนี โดยนำต้นอ่อนที่มีหัวย่อยมาปลูกในตู้ปลาที่มีการหมุนเวียนของน้ำ โดยใช้ทรายผสมดินเหนียวเป็นพื้นล่างของตู้ปลา เปรียบเทียบกับการปลูกต้นอ่อนของบัวจงกลนีในอ่างบัวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 60 เซนติเมตร โดยใช้วัสดุปลูก คือ ดินเหนียว หรือ ดินเหนียว 7 ส่วนผสมปุ๋ยคอกจากมูลวัว 1 ส่วน เลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการใช้วัสดุปลูกดินเหนียว 7 ส่วนผสมปุ๋ยคอกจากมูลวัว 1 ส่วน ให้ผลดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 พืชทดลอง

(1) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวลูกผสมพันธุ์ฉลองขวัญ (*Nymphaea* ‘Chalong Kwan’) ด้วยชิ้นส่วน (explant) ของบัวฉลองขวัญ คือ หัวย่อย ยอดอ่อน และใบอ่อน (ภาพที่ 3.1)

(2) การศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมในสภาพธรรมชาติ ใช้ต้นอ่อนบัวฉลองขวัญลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวย่อยเป็นเวลา 16 สัปดาห์ (ภาพที่ 3.2)

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

(1) เครื่องชั่งไฟฟ้า เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ไมโครเวฟ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ มีดผ่าตัด ปากคีบ จานแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์ บีกเกอร์ ปิเปต กระบอกตวง ช้อนตักสาร แท่งแก้ว ขวดแก้วขนาด 4 ออนซ์ และ 8 ออนซ์ พร้อมฝาปิด

(2) ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พร้อมชั้นวางที่มีหลอดไฟเรืองแสงสีขาว ความเข้มแสงประมาณ 2,500 ลักซ์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน

(3) กล้องจุลทรรศน์

(4) อุปกรณ์สำหรับเก็บข้อมูลและบันทึกผล

3.1.3 สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

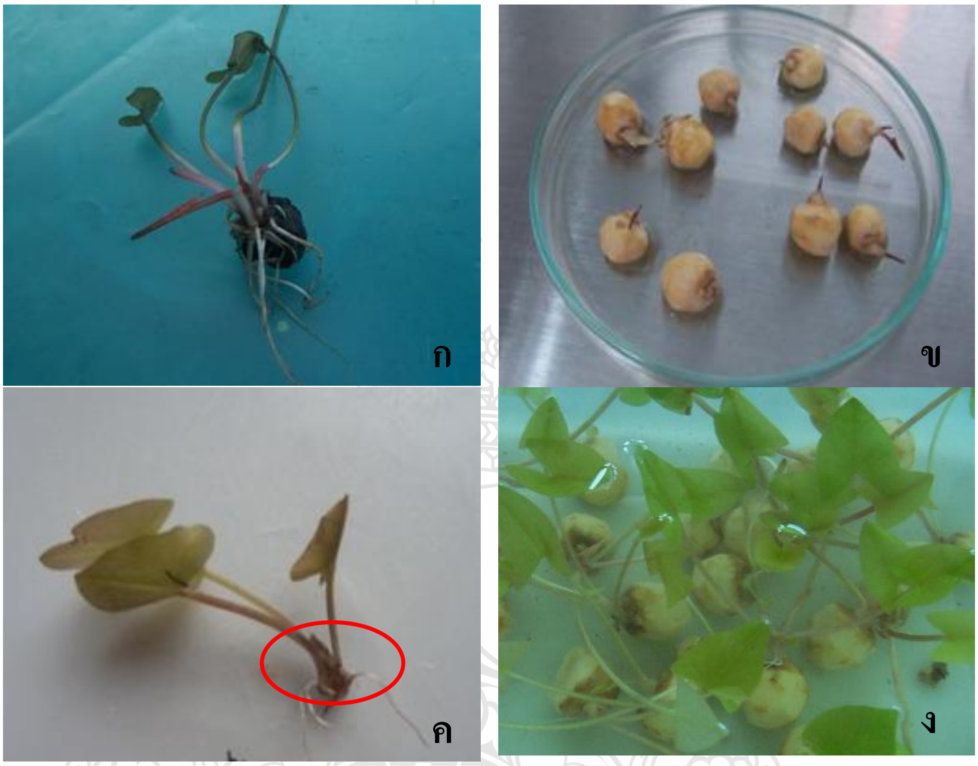
(1) สารเคมีในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) (ตารางผนวกที่ 1)

(2) สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ N_6-benzyladenine purine (BAP), indole acetic acid (IAA), α- naphthalene acetic acid (NAA), 2, 4- dichlorophenoxy acid (2, 4-D), 6-Furfuryl amino purine (kinetin), zeatine และ Thidiazuron (TDZ)

(3) สารเคมีสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ แอลกอฮอล์ เมอคิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) แคลเซียมไฮโปคลอไรด์ ($CaCl_2O_2$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และสารลดแรงตึงผิว (tween 20)

(4) สารเคมีที่ใช้ปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$) และ กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

3.1.4 อุปกรณ์เพาะปลูกพืช ได้แก่ กระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว ดินเหนียว และปุ๋ยคอกจากมูลวัว



ภาพที่ 3.1 ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญ ก) ต้นอ่อน ข) หัวย่อย ค) ยอดอ่อน และ ง) ใบอ่อน

ภาพที่ 3.2 ต้นอ่อนบัวฉลองขวัญ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวย่อยเป็นเวลา 16 สัปดาห์

3.2 วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญและวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต่างๆ ของบัวฉลองขวัญ โดยนำต้นอ่อนมาทำความสะอาดใต้น้ำไหล ล้างดินและสิ่งสกปรกออก จากนั้นล้างด้วยน้ำยาล้างจานเจือจาง ปัดเศษดินที่ติดตามซอกออก ส่วนของหัวย่อยต้องดึงขนบริเวณที่ยอดจะแทงขึ้นมาออก แล้วล้างตามด้วยน้ำสะอาด โดยปล่อยน้ำหยดไหลผ่าน 2 ชั่วโมง ตัดแต่งชิ้นส่วนแยกเป็น หัวย่อย ยอดอ่อนและใบอ่อน แล้วจึงนำชิ้นส่วนต่างๆ ที่ได้ไปทดสอบวิธีฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1.1 การฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อย และหัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน

(1) นำหัวย่อยขนาด 1.0 x 1.0 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 1 กรัม และหัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน ขนาด 1.0 x 1.5 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 1.5 กรัม ฟอกฆ่าเชื้อด้วย 4 วิธีการดังนี้

วิธีการที่ 1 นำหัวย่อยแช่ในเอธิลแอลกอฮอลล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 20 นาที ตามด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที (ภัณฑิลา, 2551)

วิธีการที่ 2 นำหัวย่อยแช่ในเอธิลแอลกอฮอลล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 20 นาที ตามด้วยซิลเวอร์ไนเตรท ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที (ดัดแปลงจาก ภัณฑิลา, 2551)

วิธีการที่ 3 นำหัวย่อยแช่ในเอธิลแอลกอฮอลล์ 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 9 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 5 นาที ตามด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 15 นาที และตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที หลังจากฟอกฆ่าเชื้อแล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที (ดัดแปลงจากบัวทิพย์, 2554)

วิธีการที่ 4 นำหัวย่อยแช่ในเอธิลแอลกอฮอลล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที แล้วแช่ในแคลเซียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที และ 5 นาทีตามลำดับ ตามด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20

จำนวน 2 หยด นาน 15 นาที และ 10 นาทีตามลำดับ แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที (ดัดแปลงจากวีรา, 2550)

(2) หลังจากฟอกฆ่าเชื้อนำหัวย่อยไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสงสีขาวเป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน

(3) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) แบ่งออกเป็น 4 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำมีจำนวน 10 ชิ้น

(4) บันทึกผลหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ บันทึกจำนวนหัวย่อย เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตได้จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อและมีชีวิต}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่ใช้ฟอกทั้งหมด (ในแต่ละซ้ำของการทดลอง)}} \times 100$$

(5) วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Ducan’s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

1.2 การฟอกฆ่าเชื้อยอดอ่อน

(1) นำยอดอ่อนขนาดความยาว 1.0-1.5 เซนติเมตร ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 2 วิธีการดังนี้

วิธีการที่ 1 แช่ยอดอ่อนในเอธิลแอลกอฮอลล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 15 นาที และฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที (ภัณฑิลา, 2551)

วิธีการที่ 2 แช่ยอดอ่อนในเอธิลแอลกอฮอลล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที และฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที (ดัดแปลงจาก ภัณฑิลา, 2551)

(2) หลังจากฟอกฆ่าเชื้อแล้ว ตัดแต่งชิ้นส่วนของยอดอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS บันทึกเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ และการรอดชีวิตหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

(3) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งออกเป็น 2 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำมีจำนวน 10 ชิ้น

(4) บันทึกผลหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอดอ่อน เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

(5) เปรียบเทียบผลโดยวิธี t-test

1.3 การฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อน

(1) ใช้ใบอ่อนที่แผ่ขยายเต็มที่ขนาด 1.5-2.0 เซนติเมตร ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธีการดังนี้

วิธีการที่ 1 แช่ใบอ่อนในสารละลายเอธิลแอลกอฮอลล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงนำไปแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 15 นาที หลังจากฟอกฆ่าเชื้อแล้ว นำใบอ่อน มาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

วิธีการที่ 2 แช่ใบอ่อนในเอธิลแอลกอฮอลล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

วิธีการที่ 3 แช่ใบอ่อนในเอธิลแอลกอฮอลล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

วิธีการที่ 4 แช่ใบอ่อนในเอธิลแอลกอฮอลล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 5 นาที และฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 5 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที

(2) หลังจากฟอกฆ่าเชื้อนำใบอ่อนไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสงสีขาวเป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน

(3) วางแผนการทดลองแบบสมบูรณ์ (CRD) แบ่งออกเป็น 4 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำมีจำนวน 10 ชิ้น

(4) บันทึกผลหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ บันทึกจำนวนใบอ่อน เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

(5) วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของสารควบคุมเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอด ราก แคลลัส และดอก

2.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอด

(1) นำหัวย่อยและยอดอ่อนที่ปลอดเชื้อจากการทดลองที่ 1 เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ เททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

(2) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งออกเป็น 9 สิ่งทดลองสำหรับหัวย่อย และ 6 สิ่งทดลองสำหรับยอดอ่อน แต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำ มี 3 ชิ้น

(3) บันทึกจำนวนยอดที่มีความยาวตั้งแต่ 0.5 เซนติเมตรขึ้นไป และจำนวนใบ เมื่อครบ 6 สัปดาห์

(4) วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำราก

(1) นำยอดที่ได้จากการทดลองที่ 2.1 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ เททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

(2) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งออกเป็น 3 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำ มี 3 ชิ้น

(3) บันทึกจำนวนและความยาวราก เมื่อครบ 8 สัปดาห์

(4) วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัส แบ่งเป็น 3 การทดลองดังนี้

2.3.1 การใช้ 2, 4-D BAP TDZ และ NAA

(1) นำใบอ่อนปลอดเชื้อที่ได้จากการชักนำยอด โดยตัดชิ้นส่วนของใบอ่อนให้มีขนาดประมาณ 1.0 x 1.0 เซนติเมตร

(2) เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 0 5 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ เปรียบเทียบกับ TDZ ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 1.5 ไมโครโมลาร์ หรือ TDZ ความเข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.01 และ 0.05 ไมโครโมลาร์ แต่ละสูตรอาหารเลี้ยงในสภาพมืด และ/หรือสว่าง เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัส

(3) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยการใช้ 2, 4-D ร่วมกับ BAP มี 9 สิ่งทดลอง ส่วนการใช้ TDZ หรือ TDZ ร่วมกับ NAA มี 4 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำมี 3 ชิ้น

(4) บันทึกผลเมื่อครบ 8 สัปดาห์

2.3.2 การใช้ BAP TDZ และ NAA

(1) นำใบอ่อนปลอดเชื้อที่ได้จากการชักนำยอด มาตัดให้มีขนาดประมาณ 1.0 x 1.0 เซนติเมตร

(2) เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ หรือ TDZ ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ แต่ละสูตรอาหารเลี้ยงในสภาพสว่าง เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัส

(3) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งออกเป็น 7 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำ มี 3 ชิ้น

(4) บันทึกผลเมื่อครบ 8 สัปดาห์

2.3.3 การใช้อาหารเหลวที่เติม TDZ ก่อนการชักนำด้วย BAP หรือ TDZ ร่วมกับ NAA

(1) นำใบอ่อนปลอดเชื้อที่ได้จากการชักนำยอด แช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 15 25 และ 50 ไมโครโมลาร์ เขย่านาน 24 ชั่วโมง

(2) ตัดใบให้มีขนาดประมาณ 1.0 x 1.0 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ หรือ TDZ ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ แต่ละสูตรอาหารเลี้ยงในสภาพสว่าง เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัส

(3) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งออกเป็น 16 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำ มี 3 ชิ้น

(4) บันทึกผลเมื่อครบ 8 สัปดาห์

2.4 ผลของสารควบคุมเจริญเติบโตต่อการชักนำดอก

(1) นำชิ้นส่วนหัวย่อยที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครโมลาร์ เปรียบเทียบกับ zeatin ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.25 ไมโครโมลาร์ และ kinetin ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 2.0 ไมโครโมลาร์ เททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แต่ละสูตรอาหารเลี้ยงในสภาพสว่าง เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำดอกในขวดเพาะ

(2) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งออกเป็น 16 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ

(3) บันทึกผลหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

(4) วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 3 การศึกษาวัสดุปลูกบัวฉลองขวัญที่เหมาะสมในสภาพธรรมชาติ

(1) ปรับสภาพก่อนออกปลูก โดยนำขวดเพาะเลี้ยงออกวางนอกห้องเพาะเลี้ยงในสภาพที่ได้รับแสง และอุณหภูมิตามธรรมชาติเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำต้นอ่อนออกจากขวดเพาะ ล้างวุ้นให้หมดจากบริเวณรากในที่ร่ม

(2) อนุบาลต้นอ่อนโดยปลูกลงในอ่างเลี้ยงบัวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร ปลูกอ่างละ 10 ต้นโดยใช้ดินเหนียวเป็นวัสดุปลูก บันทึกจำนวนต้นและเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหลังการย้ายปลูก 4 สัปดาห์

(3) การย้ายปลูก นำต้นอ่อนจากอ่างอนุบาลที่สมบูรณ์และแข็งแรงปลูกลงในอ่างเลี้ยงบัวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร ปลูกอ่างละ 1 ต้นโดยใช้วัสดุปลูก คือ ดินเหนียว 7 ส่วน ผสมปุ๋ยคอกจากมูลวัว 1 ส่วน เปรียบเทียบกับดินเหนียว

(4) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แบ่งออกเป็น 2 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 3 ต้น

(5) บันทึกจำนวนต้นและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนใบ ความกว้างและความยาวใบ จำนวนและขนาดดอก หลังการย้ายปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์

(6) วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี t-test และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.3 สถานที่และระยะเวลาที่ทำการวิจัย

3.3.1 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จ.ปทุมธานี

3.3.2 ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เริ่มทำการวิจัย เดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนธันวาคม 2555

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญและวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

4.1.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหัวย่อย

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหัวย่อย ด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี และเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 1 คือโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ตามด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที มีการปลอดเชื้อและการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 85.0 และ 68.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 1 ชิ้นส่วนมีการปลอดเชื้อสูงสุดเท่ากับ 96.7 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่วิธีที่ 2 คือการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ตามด้วยซิลเวอร์ไนเตรท ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ชิ้นส่วนมีการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 25.0 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับวิธีการอื่น (ตารางที่ 4.1; ภาพที่ 4.1 ก และ ข)

4.1.2 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดอ่อน

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดอ่อน ด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 2 วิธี พบว่าการฟอกด้วยวิธีที่ 1 คือการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ชิ้นส่วนมีการปลอดเชื้อและรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 53.3 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่าง 2 วิธีการ (ตารางที่ 4.2; ภาพที่ 4.1 ค)

4.1.3 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบอ่อน

การฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อนด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี พบว่าวิธีที่ 2 และ 3 คือการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที และการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ชิ้นส่วนมีการปลอดเชื้อสูงสุด 70.0 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการรอดชีวิตในทุกวิธี (ตารางที่ 4.3; ภาพที่ 4.1 ง)

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและการรอดชีวิตของหัวย่อย และหัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธีการ และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ		เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต	
	หัวย่อย	หัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน	หัวย่อย	หัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน
1	85.0	$96.7^{a1/}$	68.3^{a}	23.3
2	90.0	45.8^{b}	43.3^{b}	25.0
3	100.0	66.7^{b}	33.3^{b}	12.5
4	93.3	58.3_{b}	26.7^{b}	12.5
เฉลี่ย	92.1	66.9	42.9	18.3
F-test	ns	*	*	ns
CV%	12.9	19.8	27.2	47.6

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan’s New Multiple Range Test (DMRT)

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

วิธีที่ 1 แอลกอฮอล์ 70% 1 นาที + NaOCl 10% 20 นาที + $HgCl_2$ 0.1% 10 นาที

วิธีที่ 2 แอลกอฮอล์ 70% 1 นาที + NaOCl 10% 20 นาที + $AgNO_3$ 0.1% 10 นาที

วิธีที่ 3 แอลกอฮอล์ 30% 1 นาที + H_2O_2 9 % 5 นาที + $HgCl_2$ 0.1% 15 นาที + NaOCl 20% 10 นาที

วิธีที่ 4 แอลกอฮอล์ 70% 1 นาที + $HgCl_2$ 0.1% 10 นาที+ CaOCl 5% 10 นาที + CaOCl 5% 5 นาที + CaOCl 1% 15 นาที + CaOCl 1% 10 นาที

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและการรอดชีวิตของยอดอ่อน โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 2 วิธีการ และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

วิธีฟอกฆ่าเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต
1	53.3	53.3
2	40.0	40.0
เฉลี่ย	46.7	46.7
T-test	ns	ns
CV%	35.0	35.0

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

วิธีที่ 1 แอลกอฮอล์ 70% 1 นาที + NaOCl 10% 15 นาที + NaOCl 5% 10 นาที

วิธีที่ 2 แอลกอฮอล์ 70% 1 นาที + NaOCl 15% 10 นาที + NaOCl 5% 10 นาที

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและการรอดชีวิตของใบอ่อนบัวฉลองขวัญ ฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

วิธีฟอกฆ่าเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต
1	$40.0^{b1/}$	0.0
2	70.0^{a}	0.0
3	70.0^{a}	0.0
4	40.0^{b}	0.0
เฉลี่ย	55.0	0.0
F-test	**	-
CV%	18.18	-

** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan's New Multiple Range Test (DMRT)

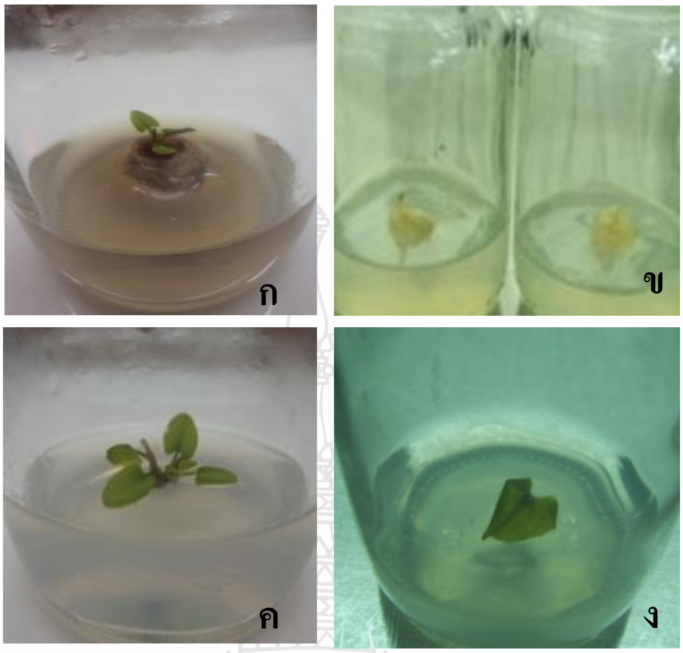
วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

วิธีที่ 1 แอลกอฮอล์ 70% 1 นาที + NaOCl 3% 15 นาที

วิธีที่ 2 แอลกอฮอล์ 70% 1 นาที + NaOCl 6% 10 นาที

วิธีที่ 3 แอลกอฮอล์ 70% 1 นาที + NaOCl 10% 10 นาที

วิธีที่ 4 แอลกอฮอล์ 70% 1 นาที + NaOCl 10% 5 นาที + NaOCl 5% 5 นาที



ภาพที่ 4.1 การรอดชีวิตของชิ้นส่วนบัวฉลองขวัญหลังการฟอกฆ่าเชื้อ

ก) หัวย่อยหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

ข) หัวย่อยแบ่ง 4 ส่วนหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

ค) ยอดอ่อนหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ง) ใบอ่อนหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอด

4.2.1 การชักนำจากหัวย่อย

จากการศึกษาผลของ BAP และ IAA ต่อการชักนำการเกิดยอดของบัวฉลองขวัญ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP และ IAA 3 ระดับความเข้มข้น เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอดเฉลี่ยสูงสุด 8 ยอด และ 15.3 ใบต่อหัว และการเติม BAP ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ พบว่าสามารถชักนำยอดเฉลี่ย 4.3 ยอด และใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 25.7 ใบต่อหัว แตกต่างจากอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.4; ภาพที่ 4.2)

ตารางที่ 4.4 จำนวนยอดและใบจากการเพาะเลี้ยงหัวย่อย บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

BAP (µM)	IAA (µM)	จำนวนยอด[1/]	จำนวนใบ[1/]
0.0	0.0	3.7^{bc}	7.0^{ef}
	5.0	3.0^{c}	6.0^{f}
	10.0	2.3^{c}	4.7^{f}
5.0	0.0	7.3^{ab}	12.0^{cd}
	5.0	4.0^{bc}	17.7^{b}
	10.0	4.3^{bc}	25.7^{a}
10.0	0.0	8.0^{a}	15.3^{bc}
	5.0	3.0^{c}	13.0^{cd}
	10.0	4.3bc	10.7^{de}
	F-test	*	**
	CV%	41.44	17.70

* = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan’s New Multiple Range Test (DMRT)

4.2.2 การชักนำจากยอดอ่อน

เลือกสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมากจากหัวย่อย มาใช้ในการชักนำยอดจากชิ้นส่วนยอดอ่อน ซึ่งจำนวนยอดและจำนวนใบของบัวฉลองขวัญที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างอาหาร 6 สูตร ที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยอาหารที่เติม BAP 5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอดเฉลี่ยได้สูงสุด 4.1 ยอดต่อชิ้นส่วน และการเติม BAP 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 12.7 ใบต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 4.5; ภาพที่ 4.3)

ตารางที่ 4.5 จำนวนยอดและใบจากการเพาะเลี้ยงยอดอ่อน บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

BAP(μM)	IAA(μM)	จำนวนยอด	จำนวนใบ
0.0	0.0	0.8	6.1
5.0	0.0	4.1	12.4
	5.0	2.1	8.1
	10.0	2.0	8.3
10.0	0.0	3.2	12.7
	5.0	2.3	9.3
	F-test	ns	ns
	CV%	55.3	33.9

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เนื่องจากการชักนำยอดจากยอดอ่อนบนอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ โดยไม่เททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ชิ้นส่วนมีการแตกยอดจำนวนมาก ภายใน 2 สัปดาห์สามารถนำมาตัดแบ่งชิ้นส่วนยอดได้เป็น 3 กอต่อชิ้นส่วน แล้วจึงนำไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารเดิม โดยไม่เททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่า ชิ้นส่วนที่ได้มีการแตกยอดอีกเป็นจำนวนมาก ภายใน 1 สัปดาห์ และสามารถนำมาตัดแบ่งชิ้นส่วนยอดได้อีก 3 กอต่อชิ้นส่วน ทำให้สามารถเพิ่มจำนวนยอดจากการตัดแบ่งยอด 2 ครั้ง ได้ต้นใหม่รวม 6 ต้นต่อยอด และจากการตัดแบ่งยอดครั้งที่ 3 และ 4 ในอาหารสูตรเดิมโดยเททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทำให้สามารถเพิ่มจำนวนยอดจากการตัดแบ่งยอดทั้งหมด 4 ครั้ง ได้ต้นใหม่ 27 ต้นต่อยอด จำนวนยอดและจำนวนใบเฉลี่ย

เท่ากับ 6.7 ยอด และ 25 ใบ (ภาพที่ 4.4) แล้วจึงนำยอดที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ IAA จำนวน 6 สูตร และเททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

สำหรับจำนวนยอดและจำนวนใบของบัวฉลองขวัญที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดแบ่งกอบนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าการเติม BAP 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA 5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.7 ยอดต่อชิ้นส่วน และการเติม BAP 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนใบสูงสุดเท่ากับ 15.7 ใบต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 4.6; ภาพที่ 4.5)

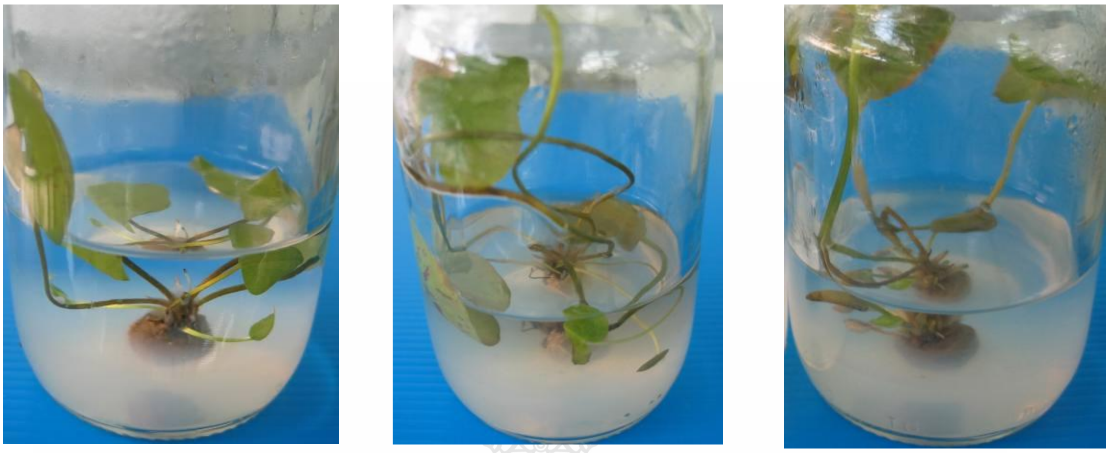
ตารางที่ 4.6 จำนวนยอดและใบจากการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนแบ่งกอ บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

BAP	IAA	จำนวนยอด	จำนวนใบ
(µM)			
0.0	0.0	0.7	$9.0^{c1/}$
5.0	0.0	4.3	12.3^{b}
	5.0	4.7	12.7^{b}
	10.0	3.0	11.3^{b}
10.0	0.0	4.3	15.7^{a}
	5.0	1.7	10.7^{bc}
F-test		ns	**
CV%		82.6	10.1

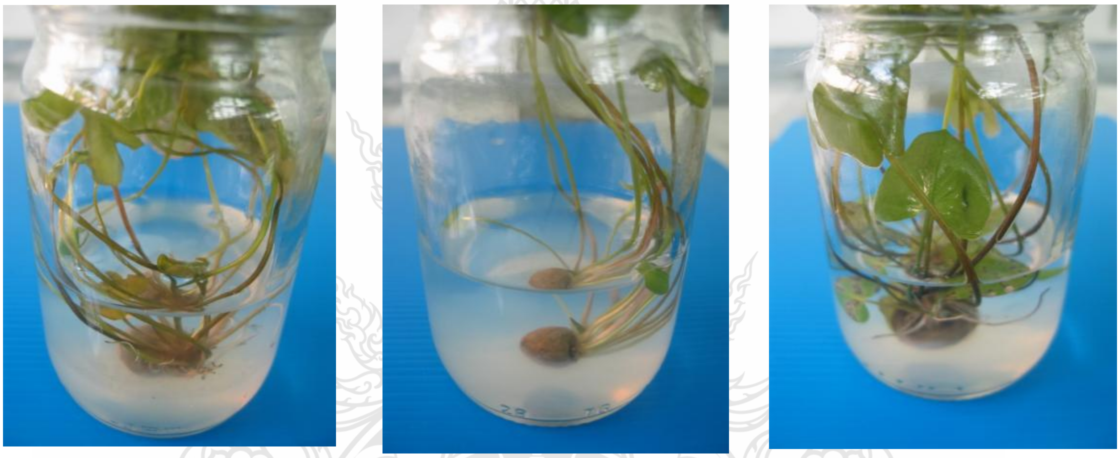
ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

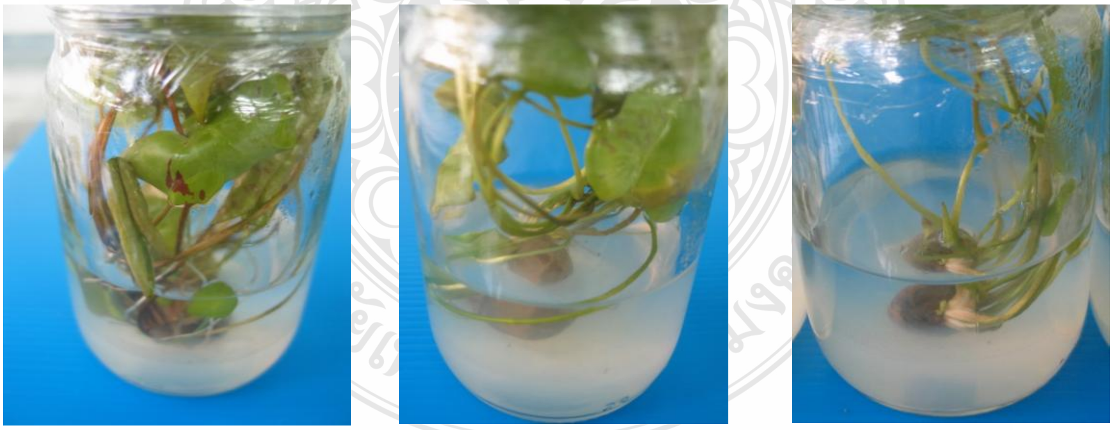
1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan’s New Multiple Range Test (DMRT)



Free Hormone IAA 5 µM IAA 10 µM

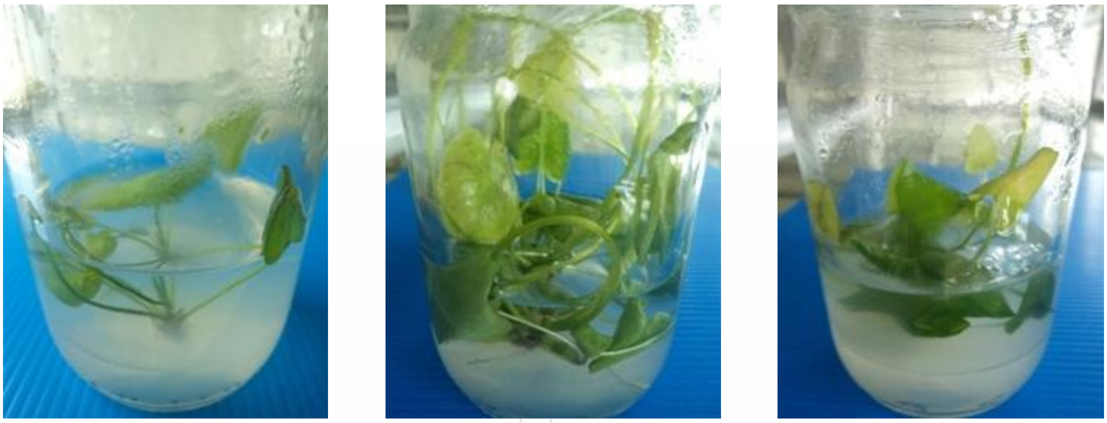


BAP 5 µM BAP 5 µM + IAA 5 µM BAP 5 µM + IAA 10 µM

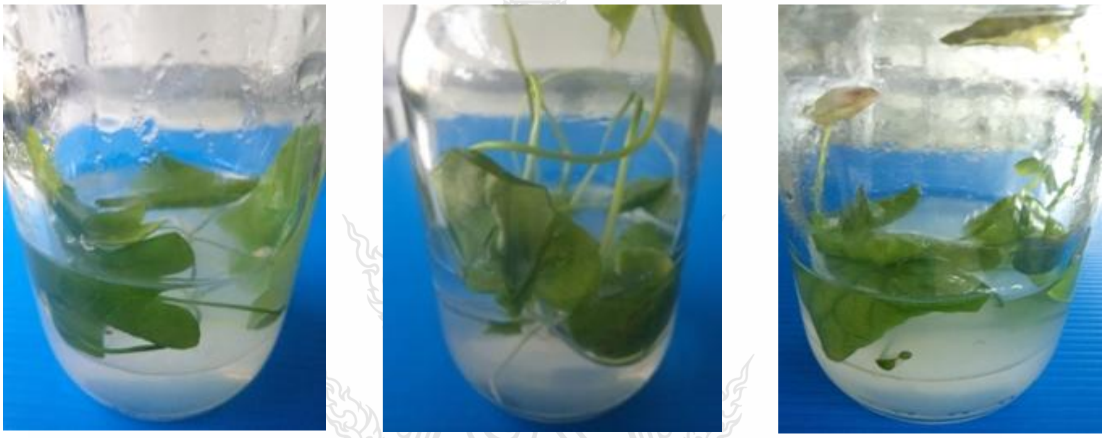


BAP 10 µM BAP 10 µM + IAA 5 µM BAP 10 µM + IAA 10 µM

ภาพที่ 4.2 การเกิดยอดจากหัวย่อย บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์



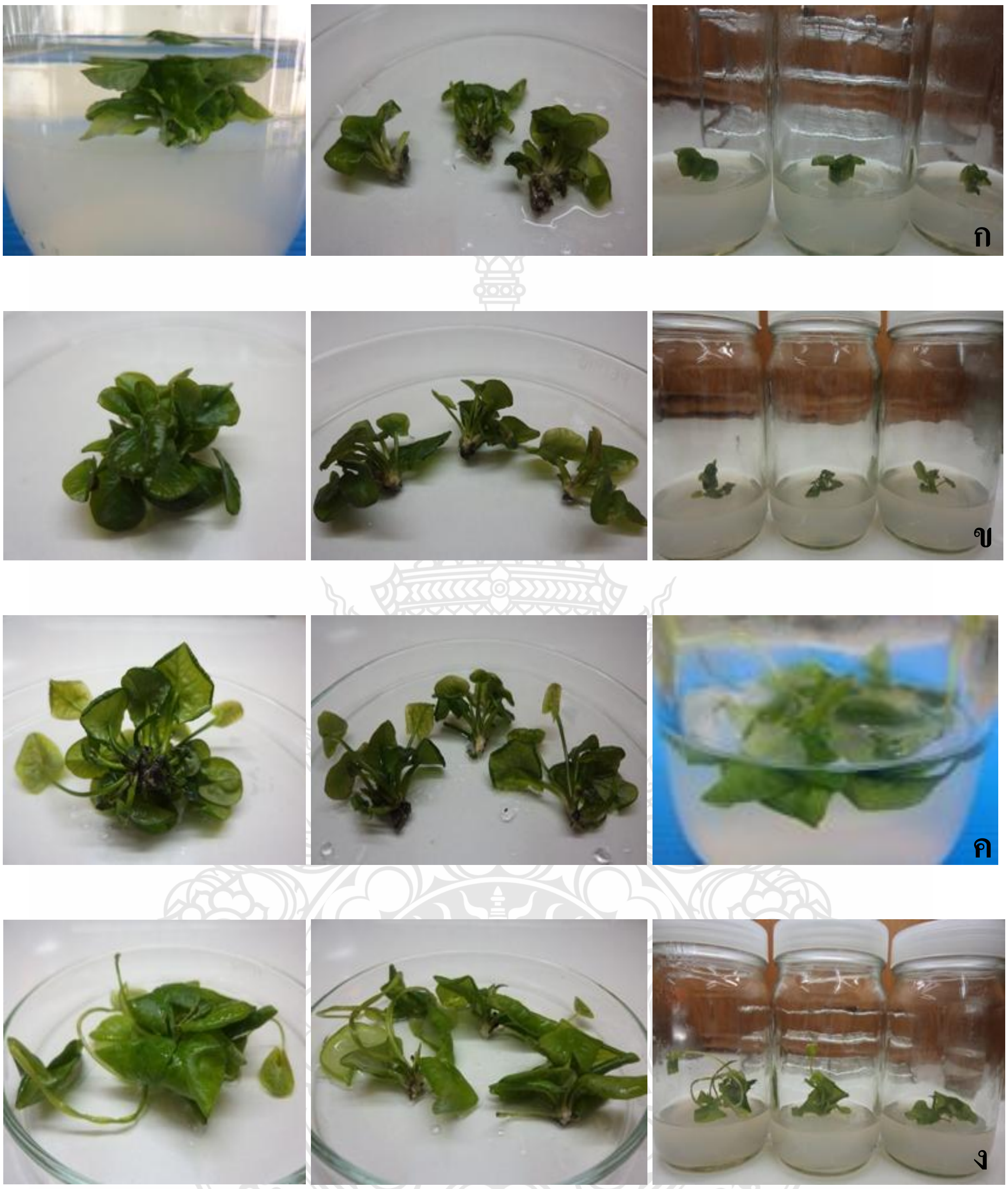
Free Hormone BAP 5 µM BAP 5 µM + IAA 5 µM



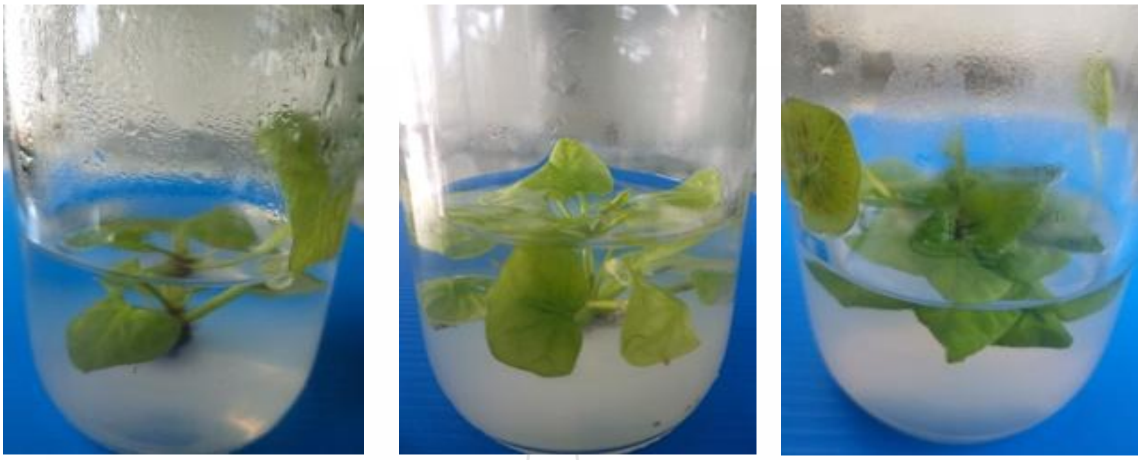
BAP 5 µM + IAA 10 µM BAP 10 µM BAP 10 µM + IAA 5 µM

ภาพที่ 4.3 การเกิดยอดจากยอดอ่อน บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์

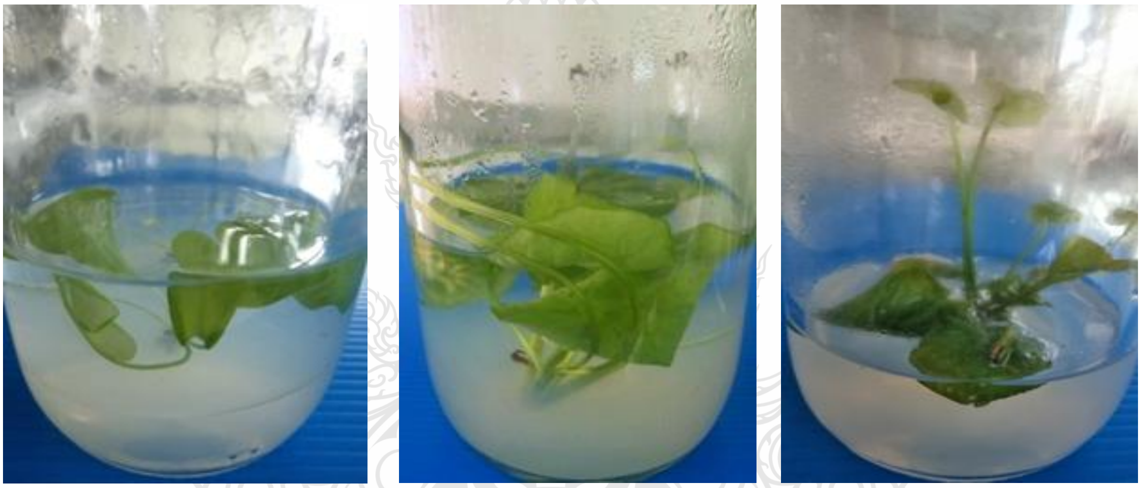
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี



ภาพที่ 4.4 การตัดแบ่งยอด และเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์
ก) การตัดแบ่งยอดครั้งที่ 1 ข) การตัดแบ่งยอดครั้งที่ 2
ค) การตัดแบ่งยอดครั้งที่ 3 ง) การตัดแบ่งยอดครั้งที่ 4



Free Hormone BAP 5 µM BAP 5 µM + IAA 5 µM



BAP 5 µM + IAA 10 µM BAP 10 µM BAP 10 µM + IAA 5 µM

ภาพที่ 4.5 การเกิดยอดจากยอดแบ่งกอ บนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์

4.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดให้เกิดราก

4.3.1 การชักนำรากจากยอดที่มีหัวย่อย

การชักนำรากจากยอดที่มีหัวย่อยของบัวฉลองขวัญ พบว่าอาหารที่เติม NAA 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนรากสูงสุดเฉลี่ย 15.2 รากต่อหัว และอาหารที่เติม NAA 5 ไมโครโมลาร์ ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 9.0 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.7; ภาพที่ 4.6 ก)

ตารางที่ 4.7 จำนวนและความยาวรากจากยอดที่มีหัวย่อยของบัวฉลองขวัญ บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

NAA (μM)	จำนวนราก (ราก/หัว)	ความยาวราก (เซนติเมตร)
0.0	9.0	8.6
5.0	10.3	9.0
10.0	15.2	7.7
F-test	ns	ns
CV%	30.28	37.61

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

4.3.2 การชักนำรากจากยอด

การชักนำรากจากยอดของบัวฉลองขวัญ พบว่าอาหารที่ไม่เติม NAA ให้จำนวนรากสูงสุดเฉลี่ย 3.0 รากต่อยอด และให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 0.8 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.8; ภาพที่ 4.6 ข)

ตารางที่ 4.8 จำนวนและความยาวรากจากยอดอ่อนของบัวฉลองขวัญ บนอาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

NAA (μM)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน)	ความยาวราก (เซนติเมตร)
0.0	3.0	0.8
5.0	1.3	0.4
10.0	0.7	0.2
F-test	ns	ns
CV%	118.1	106.7

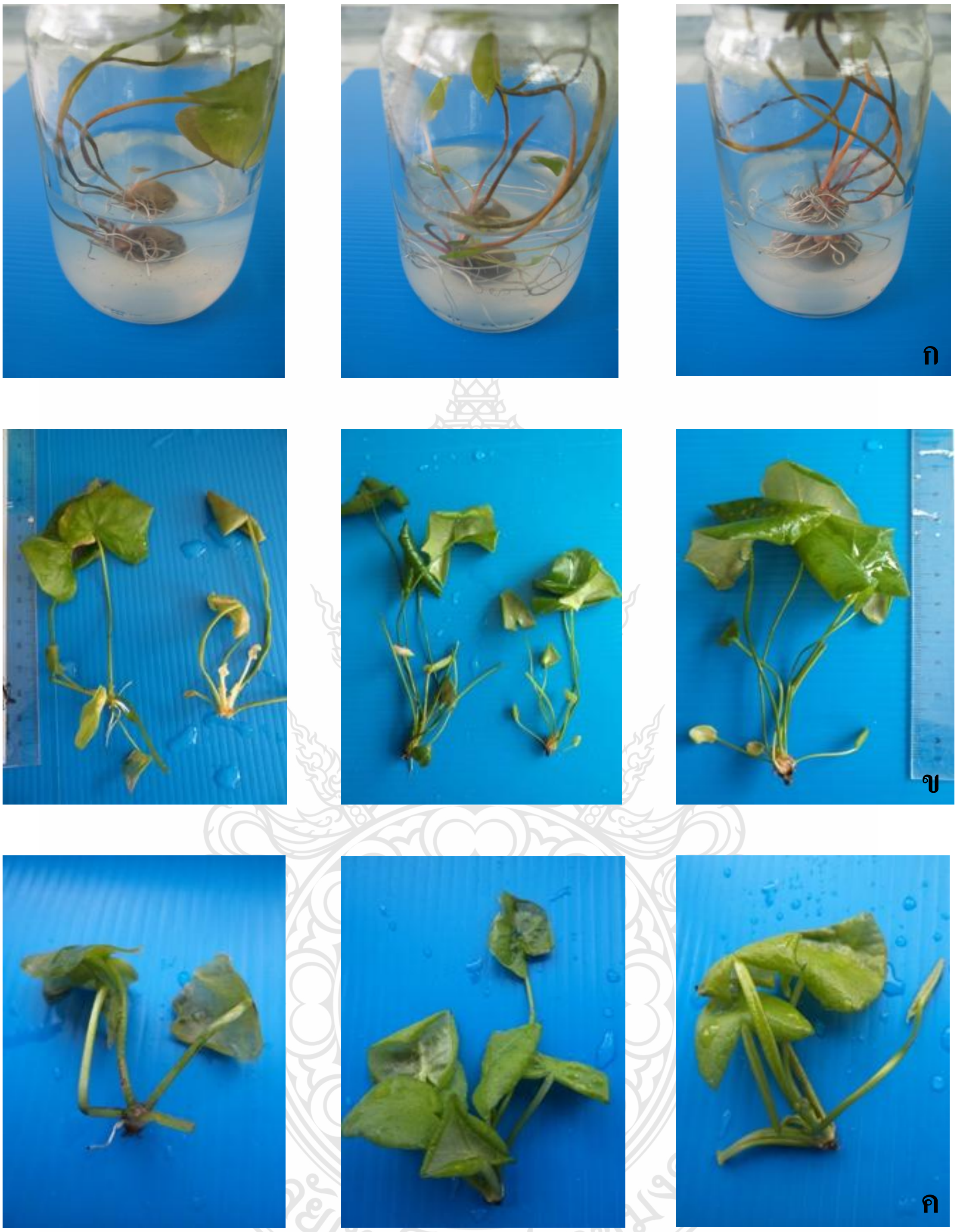
ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

4.3.3 การชักนำรากจากยอดแบ่งกอ

การชักนำรากจากยอดแบ่งกอของบัวฉลองขวัญ พบว่าอาหารที่ไม่เติม NAA ให้จำนวนรากมากสูงสุดเฉลี่ย 0.33 รากต่อยอด และให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 0.5 เซนติเมตร ส่วนการเติม NAA 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ไม่สามารถชักนำรากได้ (ตารางที่ 4.9; ภาพที่ 4.6 ค)

ตารางที่ 4.9 จำนวนและความยาวรากจากยอดแบ่งกอของบัวฉลองขวัญ บนอาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

NAA (μM)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน)	ความยาวราก (เซนติเมตร)
0.0	0.33	0.57
5.0	0	0
10.0	0	0



Free Hormone NAA 5 µM NAA 10 µM

ภาพที่ 4.6 การเกิดรากของบัวฉลองขวัญจากการเพาะเลี้ยง ก) ยอดที่มีหัวย่อย ข) ยอด และ ค) ยอดแบ่งกอ ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA เป็นเวลา 8 สัปดาห์

4.4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัส

4.4.1 การใช้ 2, 4-D BAP TDZ และ NAA

4.4.1.1 การใช้ 2, 4-D ร่วมกับ BAP

การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของบัวฉลองขวัญ พบว่าเมื่อนำใบอ่อนจากต้นที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 0 5 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ ในสภาพมืดหรือสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BAP 0.5 ไมโครโมลาร์ ในสภาพมืด ชิ้นส่วนใบมีกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กสีเขียวเกิดขึ้น ส่วนอาหารสูตรอื่นไม่มีการพัฒนาเป็นกลุ่มเซลล์ และตายภายใน 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.10; ภาพที่ 4.7)

ตารางที่ 4.10 ใบอ่อนจากการชักนำแคลลัส เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ร่วมกับ BAP ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพมืดหรือสว่างเป็นเวลา 8 สัปดาห์

2, 4-D (μM)	BAP (μM)	ลักษณะสีของใบ	
		มืด	สว่าง
0.0	0.0	เหลืองน้ำตาล	เหลืองน้ำตาล
	0.5	เหลืองน้ำตาล	เหลืองน้ำตาล
	1.0	เหลืองน้ำตาล	เหลืองน้ำตาล
5.0	0.0	เหลืองน้ำตาล	เหลืองน้ำตาล
	0.5	เหลืองน้ำตาล	เหลืองน้ำตาล
	1.0	เหลืองน้ำตาล	เหลืองน้ำตาล
10.0	0.0	เหลืองน้ำตาล	เหลืองน้ำตาล
	0.5	ใบเขียวมีกลุ่มเซลล์เล็กๆ	เหลืองน้ำตาล
	1.0	เหลืองน้ำตาล	เหลืองน้ำตาล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

4.4.1.2 การใช้ TDZ

ใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 1.5 ไมโครโมลาร์ในสภาพมืด เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนมีสีเขียวสดและเขียวปนเหลือง และเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงต่อในสภาพสว่างอีก 4 สัปดาห์ ใบอ่อนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและน้ำตาล และไม่มีการเปลี่ยนแปลงในทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 4.11; ภาพที่ 4.8)

ตารางที่ 4.11 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพมืดและสว่าง รวม 8 สัปดาห์

TDZ (μM)	ลักษณะสีของใบ	
	มืด	สว่าง
0.0	เขียวสด	เขียว
0.5	เขียวสด	เขียวปนเหลือง
1.0	เขียวปนเหลือง	เหลือง
1.5	เขียวสด	เขียวขอบน้ำตาล

4.4.1.3 การใช้ TDZ ร่วมกับ NAA

ใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 และ 1.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.01 และ 0.05 ไมโครโมลาร์ ในสภาพมืด 4 สัปดาห์ และเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงต่อในสภาพสว่างอีก 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนใบมีสีเขียวสลับเหลืองน้ำตาล และไม่มีการเปลี่ยนแปลงในทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 4.12; ภาพที่ 4.9)

ตารางที่ 4.12 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพมืดและสว่าง รวม 8 สัปดาห์

TDZ (μM)	NAA (μM)	ลักษณะสีของใบ	
		มืด	สว่าง
0.0	0.0	เขียวสด	เขียวปนเหลืองน้ำตาล
1.5	0.0	เขียวสด	เขียวเหลืองขอบน้ำตาล
	0.01	เขียวสด	เขียวปนเหลือง
	0.05	เขียวสด	เขียวขอบเหลือง

4.4.2 การใช้ BAP TDZ และ NAA

เมื่อนำใบอ่อนจากต้นที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 4 ไมโครโมลาร์ หรือ TDZ 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ ในสภาพสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 0.5 ไมโครโมลาร์ บนผิวใบปรากฏกลุ่มเซลล์ขนาดเล็ก สีเขียวอมน้ำตาล เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบกลุ่มเซลล์ดังกล่าว มีรงควัตถุสีแดง (ตารางที่ 4.13; ภาพที่ 4.10 และ 4.11)

ตารางที่ 4.13 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP หรือ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์

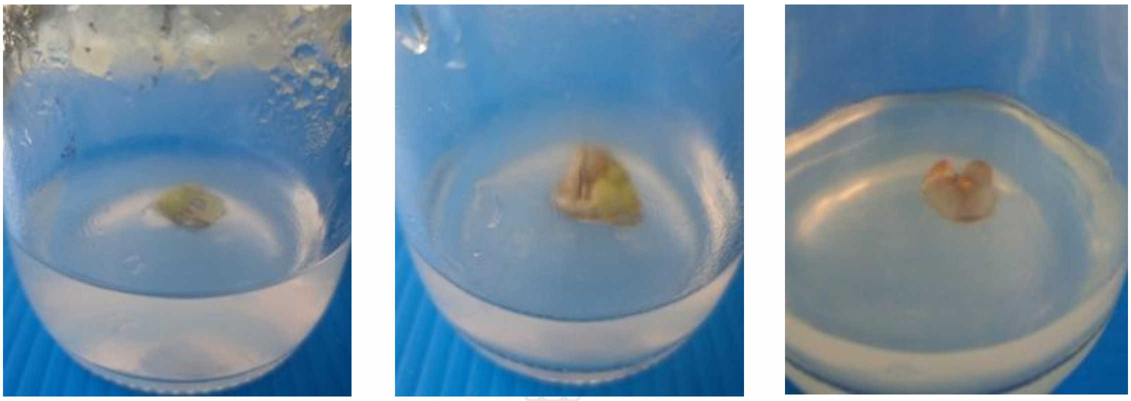
BAP/TDZ (μM)	NAA (μM)	ลักษณะสีของใบ
0	0.0	น้ำตาล
BAP 4	0.0	เขียวเหลืองน้ำตาล
	0.5	เขียวน้ำตาลแดง
	1.0	สีเขียว
TDZ 6	0.0	น้ำตาล
	0.5	เขียวอมน้ำตาล
	1.0	เขียวน้ำตาล

4.4.3 การใช้อาหารเหลวที่เติม TDZ ก่อนการชักนำด้วย BAP หรือ TDZ ร่วมกับ NAA

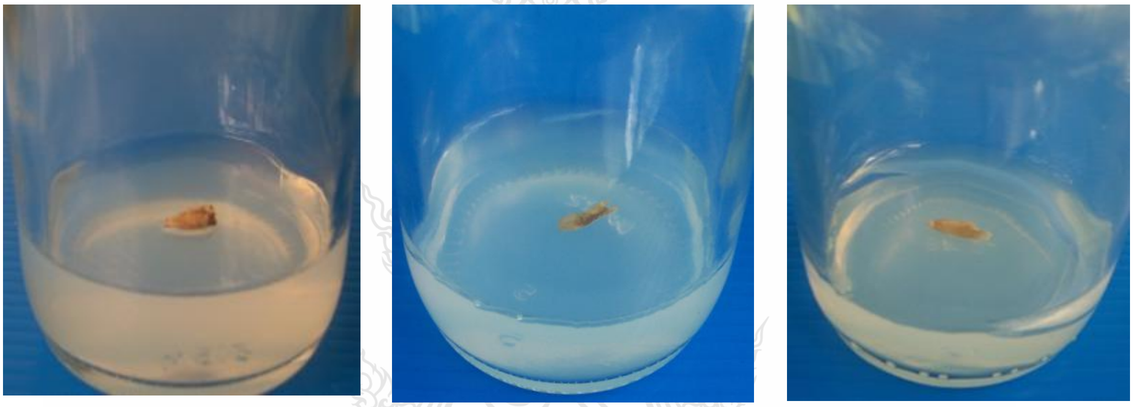
เมื่อนำใบอ่อนจากต้นที่ปลอดเชื้อแช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 15 25 และ 50 ไมโครโมลาร์ เขย่านาน 24 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP หรือ TDZ ความเข้มข้น 4 และ 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ ในสภาพสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนใบที่แช่ในอาหาร ที่ไม่เติม TDZ มีสีน้ำตาลทุกสูตรอาหาร ชิ้นส่วนใบที่แช่ในอาหารเหลว ที่เติม TDZ 15 ไมโครโมลาร์ และเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP 4 ไมโครโมลาร์ ใบมีลักษณะบวมพองและมีกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กบนผิวใบ (ตารางที่ 4.14; ภาพที่ 4.11)

ตารางที่ 4.14 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน แช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP หรือ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพสว่างเป็นเวลา 8 สัปดาห์

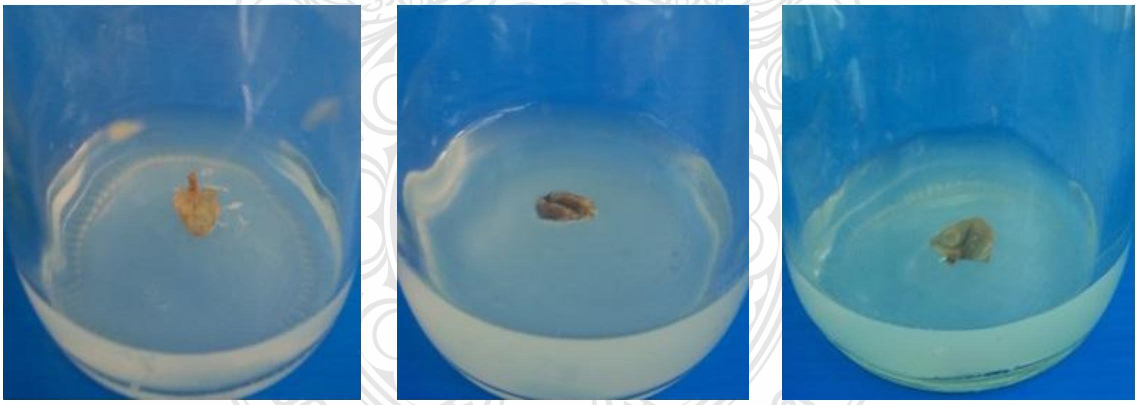
MS เหลว +TDZ (μM)	BAP/TDZ (μM)	NAA (μM)	ลักษณะสีใบ
0	0.0	0.0	น้ำตาล
0	BAP 4.0	0.0	น้ำตาล
		0.5	น้ำตาล
	TDZ 6.0	0.0	น้ำตาล
		0.5	น้ำตาล
15	BAP 4.0	0.0	เขียว
		0.5	เหลืองซีด
	TDZ 6.0	0.0	เหลืองน้ำตาล
		0.5	เขียวปนเหลือง
25	BAP 4.0	0.0	เขียวขอบน้ำตาล
		0.5	เขียวปนเหลือง
	TDZ 6.0	0.0	เหลืองซีด
		0.5	เขียวปนเหลือง
50	BAP 4.0	0.0	เหลืองซีด
		0.5	เหลืองซีด
	TDZ 6.0	0.0	เขียว
		0.5	เขียวปนเหลือง



Free Hormone BAP 0.5 µM BAP 1.0 µM

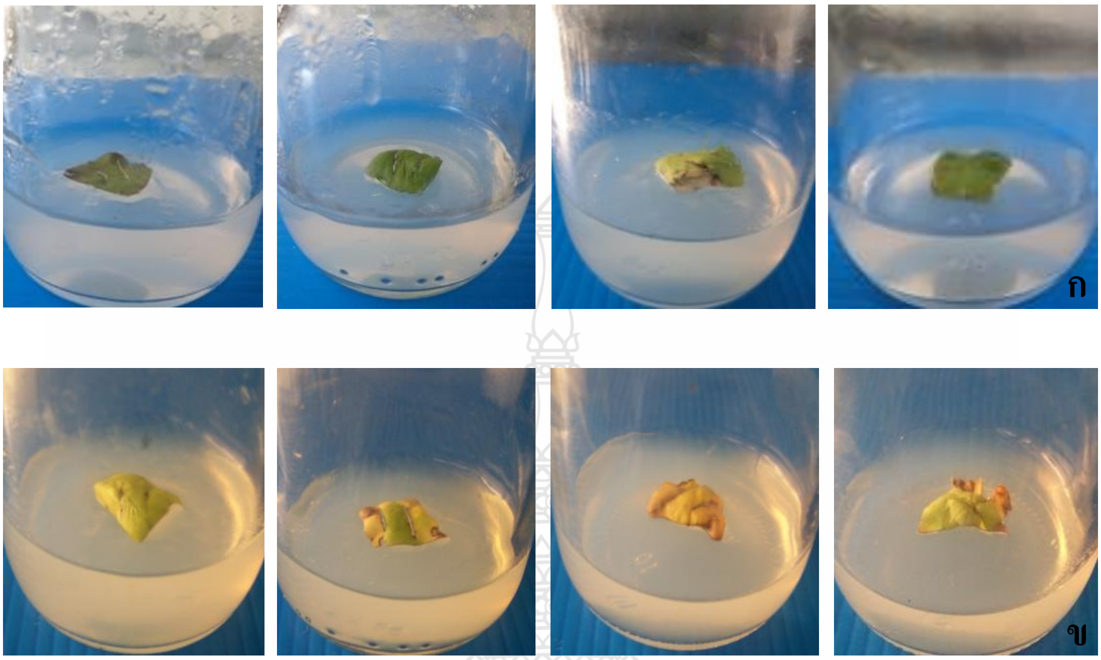


2, 4-D 5.0 µM 2, 4-D 10.0 µM 2, 4-D 5.0 µM+ BAP 0.5 µM



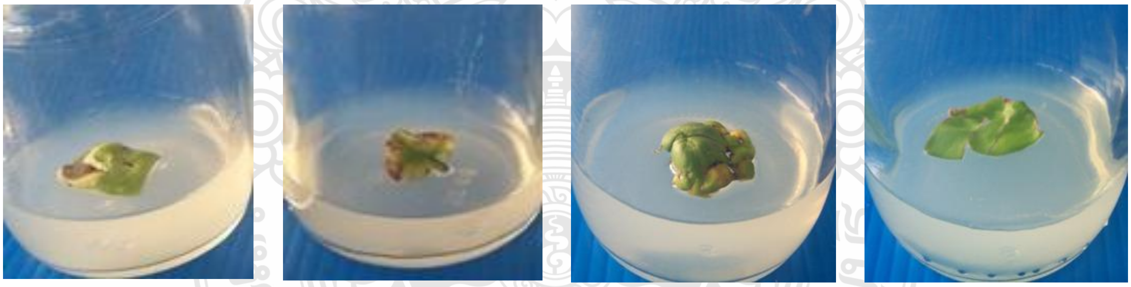
2, 4-D 5.0µM+ BAP 1.0 µM 2, 4-D10.0µM+ BAP 0.5 µM 2, 4-D10.0µM+ BAP 1.0 µM

ภาพที่ 4.7 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ร่วมกับ BAP ในสภาพมืด หรือสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์



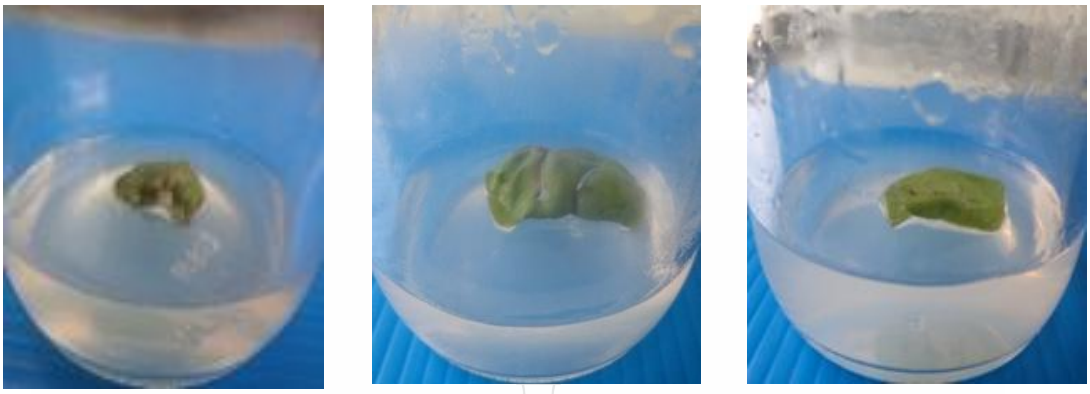
Free Hormone 0.5 µM TDZ 1.0 µM TDZ 1.5 µM TDZ

ภาพที่ 4.8 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อน เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ก) เพาะเลี้ยงในสภาพมืด 4 สัปดาห์ (ข) เพาะเลี้ยงสภาพสว่าง 4 สัปดาห์

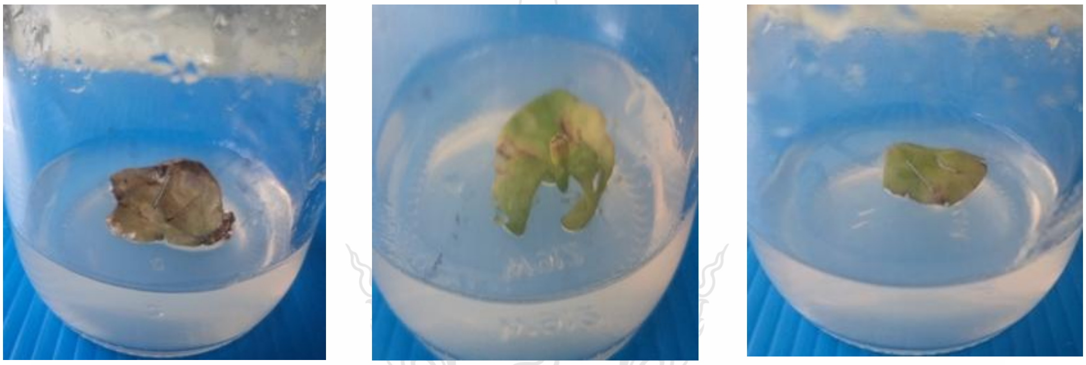


Free Hormone 1.5µM TDZ 1.5µM TDZ+0.01 µM NAA 1.5µM TDZ+0.05 µM NAA

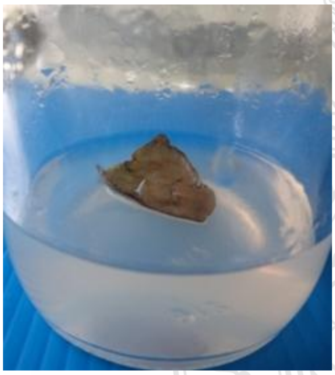
ภาพที่ 4.9 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของบัวฉลองขวัญ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพมืดและสว่าง รวม 8 สัปดาห์



4.0 µM BAP　4.0 µM BAP+0.5µM NAA　4.0 µM BAP+1.0µM NAA

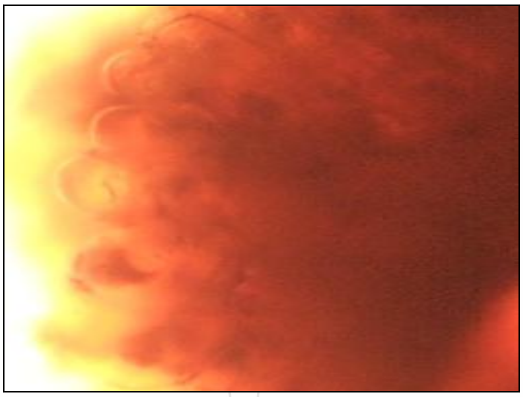


6.0 µM TDZ　6.0 µM TDZ +0.5µM NAA　6.0 µM TDZ +1.0µM NAA

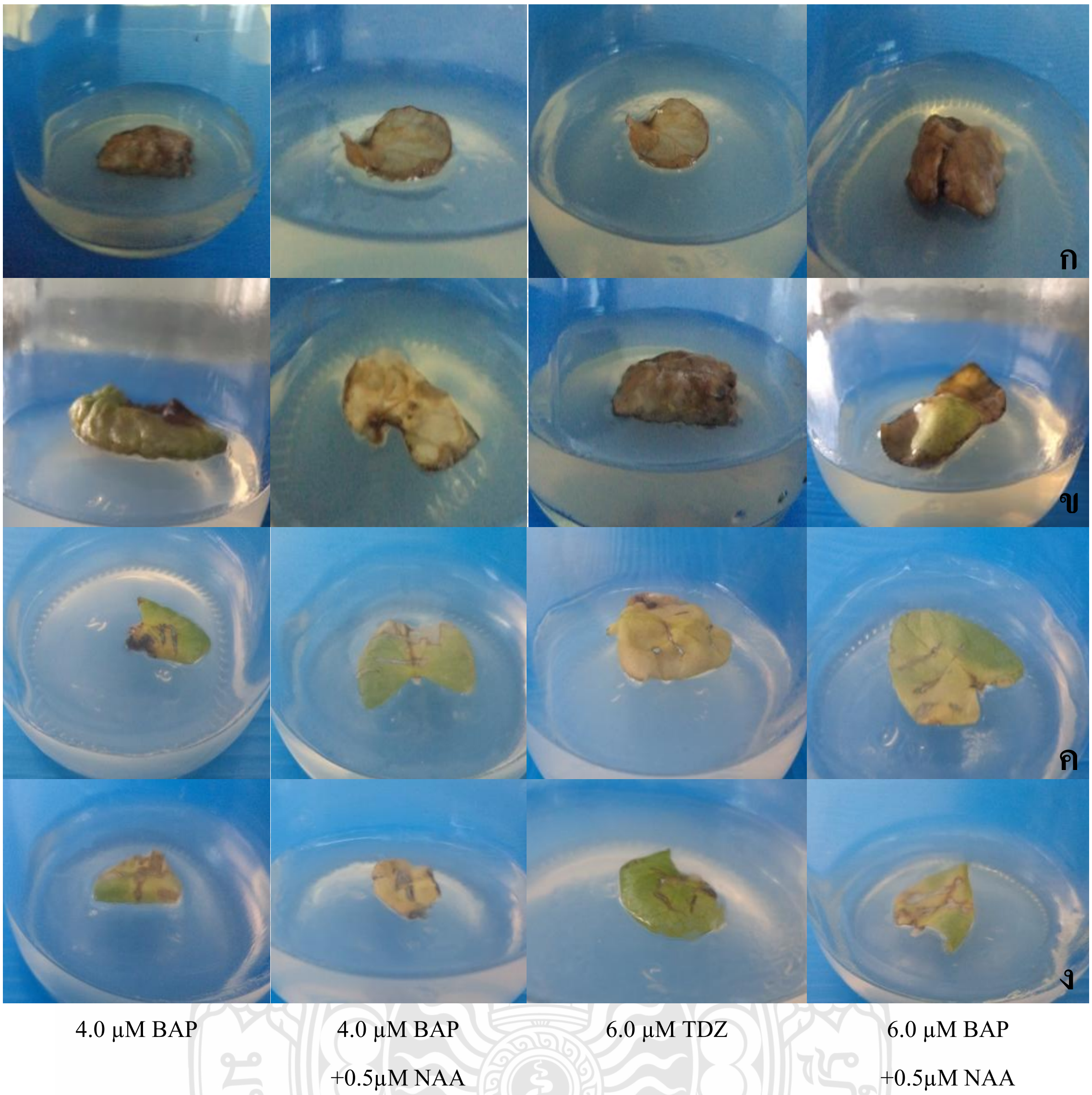


Free Hormone

ภาพที่ 4.10 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของบัวฉลองขวัญ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เพาะเลี้ยงในสภาพสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 4.11 ลักษณะกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงใบอ่อนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 0.5 ไมโครโมลาร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า


ก
ข
ค
ง
4.0 µM BAP
4.0 µM BAP
+0.5µM NAA
6.0 µM TDZ
6.0 µM BAP
+0.5µM NAA

ภาพที่ 4.12 ใบอ่อนเมื่อแช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ และเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP หรือ TDZ ร่วมกับ **NAA** ในสภาพสว่าง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดย
ก) ใบอ่อนไม่ได้แช่ใน TDZ ข) ใบอ่อนแช่ใน 15.0 µM TDZ
ค) ใบอ่อนแช่ใน 25.0 µM TDZ ง) ใบอ่อนแช่ใน 50.0 µM TDZ

4.5 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำดอก

4.5.1 การใช้ BAP ร่วมกับ IAA

การเพาะเลี้ยงหัวย่อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA 0.1 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าไม่สามารถชักนำการออกดอกในทุกสูตรอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารที่เติม BAP 0.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA 0.1 ไมโครโมลาร์ มีการเกิดยอดและใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 3.3 ยอด และ 8.3 ใบ ส่วนอาหารที่เติม BAP 0.1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA 0.1 ไมโครโมลาร์ ให้รากเฉลี่ยสูงสุด 5.3 ราก (ตารางที่ 4.15; ภาพที่ 4.12)

ตารางที่ 4.15 การชักนำดอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

BAP (µM)	IAA (µM)	จำนวนยอด	จำนวนใบ	จำนวนราก
0.0	0.0	3.0	$6.0^{bc1/}$	1.3^{b}
0.0	0.1	1.3	4.0^{c}	0.7^{b}
0.1	0.1	3.0	7.0^{ab}	5.3^{a}
0.2	0.1	3.3	8.3^{a}	2.7^{ab}
0.5	0.1	2.3	5.3^{bc}	2.0^{b}
	F-test	ns	**	*
	CV%	39.1	18.8	65.4

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan’s New Multiple Range Test (DMRT)

4.5.2 การใช้ BAP ร่วมกับ IAA

การชักนำดอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม zeatin ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 2.0 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.25 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าทุกสูตรอาหารไม่สามารถชักนำการออกดอกได้ และบนอาหารที่เติม Zeatin 0.5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอด ใบ และรากเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 7.0 ยอด 26 ใบ และ 8 ราก (ตารางที่ 4.16; ภาพที่ 4.13)

ตารางที่ 4.16 การชักนำดอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม zeatin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

Zeatin (µM)	NAA (µM)	จำนวนยอด	จำนวนใบ	จำนวนราก
0.0	0.0	$2.0^{d1/}$	7.3^{b}	1.7^{b}
0.5	0.0	7.0^{a}	26.0^{a}	8.0^{a}
	0.25	4.7^{c}	8.0^{b}	1.3^{b}
1.0	0.0	5.3^{c}	6.7^{b}	2.0^{b}
	0.25	6.7^{ab}	21.0^{a}	2.3^{b}
2.0	0.0	1.3^{d}	9.3^{b}	1.3^{b}
	0.25	1.7^{d}	8.3^{b}	1.7^{b}
F-test		**	**	**
CV%		22.0	28.8	65.6

** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan's New Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

4.5.2 การใช้ kinetin

การชักนำดอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าทุกสูตรอาหารไม่สามารถชักนำการออกดอกได้ และบนอาหารที่เติม kinetin 2.0 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอด ใบ และรากเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 4.3 ยอด 11.0 ใบ และ 6.3 ราก (ตารางที่ 4.17; ภาพที่ 4.14)

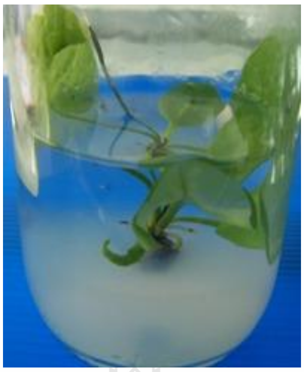
ตารางที่ 4.17 การชักนำดอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

Kinetin (μM)	จำนวนยอด	จำนวนใบ	จำนวนราก
0.0	$2.3^{b\underline{1}/}$	5.7^{b}	4.3^{a}
0.5	$3.7a^{b}$	$7.b^{3}$	0.7^{b}
1.0	$3.0a^{b}$	6.0^{b}	5.0^{a}
2.0	4.3^{a}	11.0^{a}	6.3^{a}
F-test	*	*	*
CV%	21.2	21.8	40.6

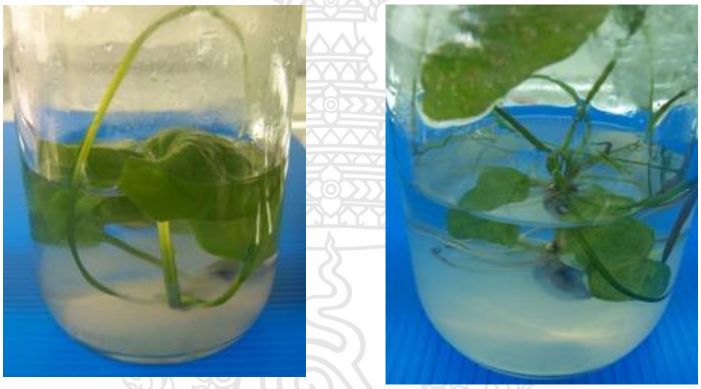
* = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

$\underline{1}$/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan's New Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

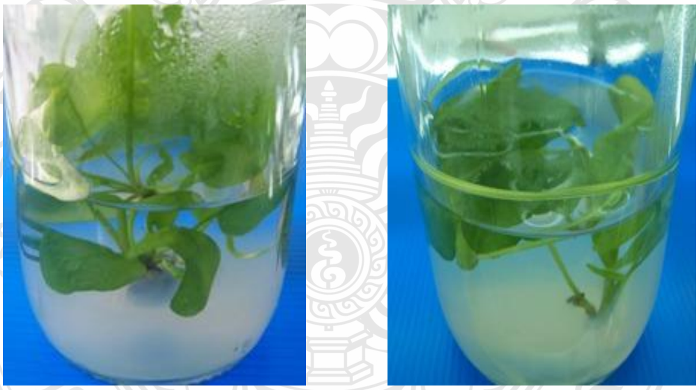


Free Hormone



0.1.µM IAA

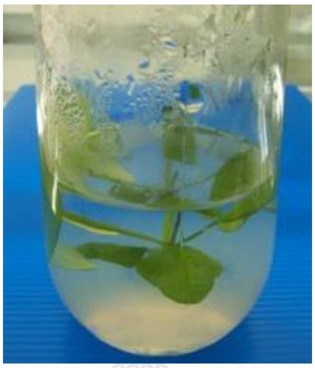
0.1 µM BAP+0.1µM IAA



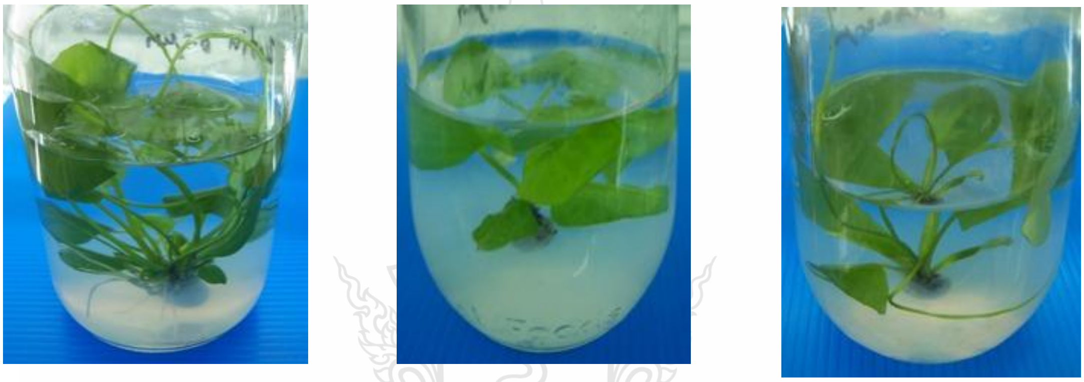
0.2 µM BAP+0.1µM IAA

0.5 µM BAP+0.1µM IAA

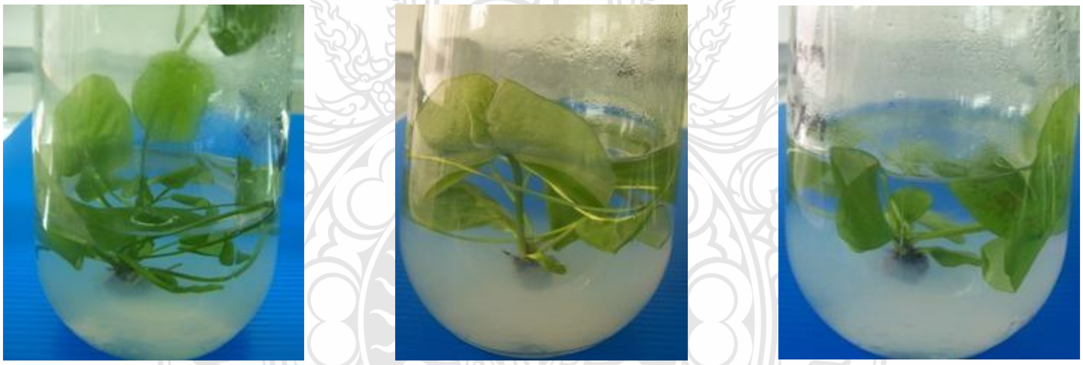
ภาพที่ 4.13 การชักนำดอกบัวฉลองขวัญ ในอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ IAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์



Free Hormone

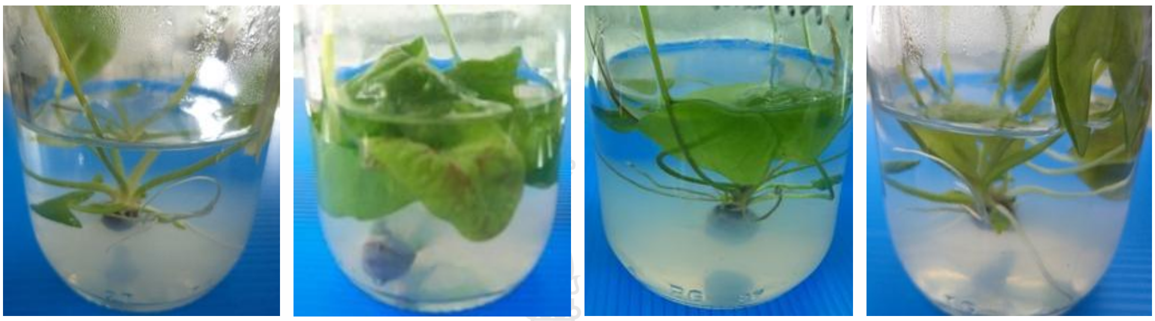


0.5.µM zeatin　0.5.µM zeatin+0.25 µM NAA　1.0.µM zeatin



1.0.µM zeatin+0.25 µM NAA　2.0.µM zeatin　2.0.µM zeatin+0.25 µM NAA

ภาพที่ 4.14 การชักนำดอกบัวฉลองขวัญ ในอาหารที่เติม zeatin ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์



Free Hormone 0.5µM kinetin 1.0µM kinetin 2.0µM kinetin

ภาพที่ 4.15 การชักนำดอกบัวฉลองขวัญ ในอาหารที่เติม kinetin เป็นเวลา 6 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

4.6 วัสดุปลูกบัวฉลองขวัญที่เหมาะสมในสภาพธรรมชาติ

การศึกษาวัสดุปลูกบัวฉลองขวัญที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัวย่อย โดยนำขวดเพาะเลี้ยงออกวางนอกห้องเพาะเลี้ยงในสภาพที่ได้รับแสง และอุณหภูมิตามธรรมชาติ เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำต้นอ่อนออกจากขวดเพาะ ล้างวุ้นบริเวณรากออก อนุบาลต้นอ่อนโดยนำต้นอ่อนออกปลูกในกระถางที่มีวัสดุปลูกคือ ดินเหนียว เพื่ออนุบาลต้นอ่อนเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 86.9 และพบการสร้างหัวย่อยใหม่จำนวนเฉลี่ย 1.3 หัวต่อต้น และเมื่อนำต้นที่แข็งแรงสมบูรณ์ออกปลูกในอ่างบัว โดยใช้วัสดุปลูกดินเหนียว 7 ส่วน ผสมมูลวัว 1 ส่วน เปรียบเทียบกับดินเหนียว เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของมูลวัวให้จำนวนใบและดอกมากกว่าการใช้เฉพาะดินเหนียวอย่างเดียวเป็นวัสดุปลูก จำนวนใบใหม่ 19.6 ใบ ความกว้างใบ 10.8 เซนติเมตร ความยาวใบ 13.7 เซนติเมตร จำนวนดอก 7.7 ดอก ขนาดดอก 7.6 เซนติเมตร และมีการรอดชีวิตทั้งหมด (ตารางที่ 4.18; ภาพที่ 4.15)

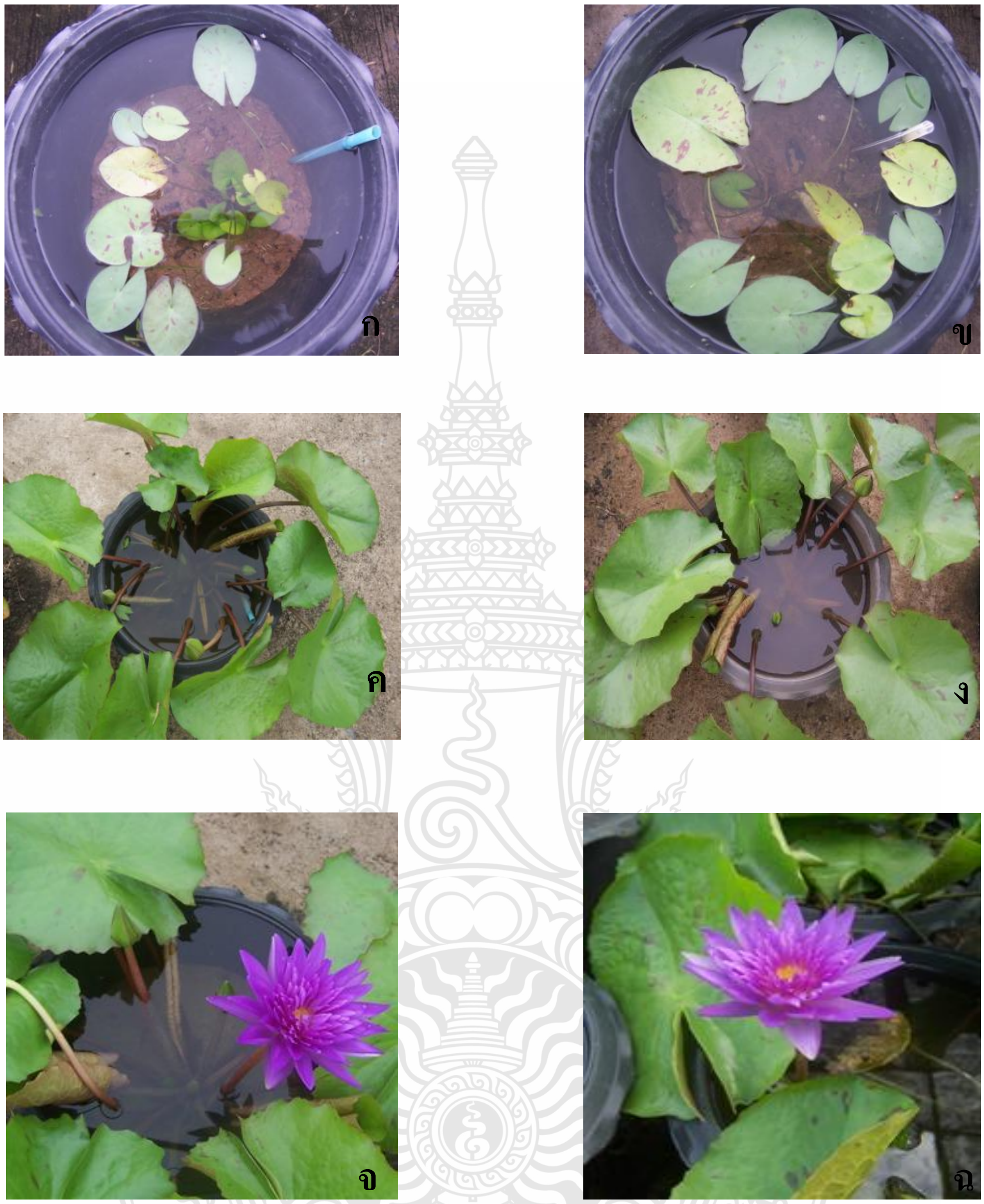
ตารางที่ 4.18 การเจริญของใบและดอก ของบัวฉลองขวัญ เมื่อใช้วัสดุปลูก 2 ชนิด เป็นเวลา 8 สัปดาห์

วัสดุปลูก	จำนวนใบ	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	จำนวนดอก	ขนาดดอก (เซนติเมตร)
1	19.6	10.8	13.7	$7.7^{a1/}$	7.6
2	19.1	10.4	11.5	5.4^{b}	7.4
T-test	ns	ns	ns	*	ns
CV%	22.45	12.54	11.27	35.35	6.05

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan’s New Multiple Range Test (DMRT)



ดินเหนียว ดินเหนียวผสมมูลวัว

ภาพที่ 4.16 ลักษณะต้นอ่อนและดอกบัวฉลองขวัญปลูกด้วยดินเหนียวและดินเหนียวผสมมูลวัว
ก-ข) ต้นอ่อนหลังการย้ายปลูก 4 สัปดาห์
ค-ง) เริ่มให้ดอกหลังการย้ายปลูก 8 สัปดาห์
จ-ฉ) ลักษณะดอกหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1.1 ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อและวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

5.1.1.1 การฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อย

เมื่อนำชิ้นส่วนของบัวฉลองขวัญ ได้แก่ หัวย่อย หัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน ยอดอ่อน และใบอ่อน มาทำการฟอกฆ่าเชื้อ พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกัน 4 วิธี ส่งผลต่ออัตราการปลอดเชื้อ และอัตรารอดชีวิต โดยวิธีที่สามารถทำให้ชิ้นส่วนหัวย่อยปลอดเชื้อและรอดชีวิตมากที่สุดคือ การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ตามด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ชิ้นส่วนมีการปลอดเชื้อและรอดชีวิตเท่ากับ 85.0 และ 68.3 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับรายงานของภัณฑิลา (2551) พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยบัวจงกลนีด้วยวิธีการนี้ ชิ้นส่วนปลอดเชื้อ 84.8 เปอร์เซ็นต์ และรอดชีวิต 56.5 เปอร์เซ็นต์ การฟอกฆ่าเชื้อพรรณไม้น้ำชนิดต่างๆ นิยมฟอกฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง เนื่องจากส่งผลให้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อจุลินทรีย์มากขึ้น ซึ่งการใช้เมอคิวริกคลอไรด์ร่วมในการฟอกฆ่าเชื้อจะทำให้ได้ผลดียิ่งขึ้น เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารละลายคลอรอกซ์ โดยเฉพาะเชื้อรา (รสา, 2548) แต่การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชโดยทั่วไป มักไม่นิยมนำเมอคิวริกคลอไรด์มาใช้ ถึงแม้ว่าจะเป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ แต่ก็มีผลทำลายเนื้อเยื่อพืชสูงเช่นกัน นอกจากนี้เมอคิวริกคลอไรด์ยังเป็นสารที่มีอันตรายต่อมนุษย์ เช่น เมื่อถูกผิวหนังจะทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหนังเป็นแผลไหม้ และยังสามารถระเหยเป็นไอได้ดีที่อุณหภูมิห้อง (บุญยืน, 2540) เมื่อหายใจเข้าไปในปริมาณมาก จะทำให้มีอาการเจ็บคอ แน่นหน้าอก ปวดศีรษะ อาเจียน หมดสติ ไตล้มเหลว และเสียชีวิตได้ รวมทั้งเมอคิวริกคลอไรด์ยังเป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย จึงต้องใช้ด้วยความระมัดระวังอย่างมาก ดังนั้นเมอคิวริกคลอไรด์จึงไม่นิยมนำมาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อพืชทั่วไป ยกเว้นในไม้น้ำที่นำชิ้นส่วนมาจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติ ซึ่งเจริญอยู่ในดินเหนียวหรือโคลน การฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยโดยใช้เมอคิวริกคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ จึงปลอดภัยต่อสุขภาพผู้ทดลอง (ภัณฑิลา, 2551)

การฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ตามด้วยซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ชิ้นส่วนมีการปลอดเชื้อสูงถึง 90.0 เปอร์เซ็นต์ แต่รอดชีวิตเพียง 43.3 เปอร์เซ็นต์ อาจเนื่องมาจากซิลเวอร์ไนเตรทเป็นสารฆ่าเชื้อ (Liau *et al*., 1997, Spacciapoli *et al*., 2001 และ Ip *et al*., 2006) และยับยั้งเชื้อได้ดี (Liau *et al*., 1997) ปฏิกิริยาไอออนของโลหะซิลเวอร์เมื่อสอดแทรกเข้าไปในผนังเซลล์ จะเข้าไปแทนที่เอนไซม์หรือโปรตีน อาจไปยับยั้ง Metabolism ของเนื้อเยื่อเซลล์ ทำให้เซลล์ไม่เจริญเติบโต มีผลต่อจุดเจริญของเนื้อเยื่อ (Pandian *et al*., 2010) จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำ

การฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 9 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ตามด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ฟอกตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที พบว่าชิ้นส่วนมีการปลอดเชื้อ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่รอดชีวิตเพียง 33.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากงานวิจัยของ Ubonprasirt *et al*. (2010) ได้ฟอกฆ่าเชื้อเหง้าบัวสาย (*Nympaea pubescens*) ด้วยวิธีการนี้ พบว่าชิ้นส่วนมีการปลอดเชื้อและรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ อาจเนื่องมาจากเหง้าของบัวสายมีขนาดใหญ่ จึงทนต่อสภาพการฟอกฆ่าเชื้อ และสามารถรอดชีวิตได้

การฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ตามด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้งนาน 10 และ 5 นาที และตามด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง นาน 15 และ 10 นาที ชิ้นส่วนมีการปลอดเชื้อ 93.3 เปอร์เซ็นต์ แต่รอดชีวิตเพียง 26.7 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฆ่าเชื้อ 3 ชนิด จำนวน 5 ครั้ง เป็นสภาวะการฆ่าเชื้อที่รุนแรงเกินไปสำหรับหัวย่อยบัวฉลองขวัญ ดังนั้นการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดจึงต้องคำนึงถึงลักษณะของพืช ชนิดและความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อ (รังสฤษดิ์, 2541) รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้ หากปัจจัยดังกล่าวไม่เหมาะสม อาจทำให้เนื้อเยื่อมีการปนเปื้อนหรือตายได้

ดังนั้นเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อร่วมกับเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของการฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยบัวฉลองขวัญ พบว่าวิธีการที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ตามด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 85.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับวิธีการอื่น และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 68.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ

ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์กับวิธีการอื่น ดังนั้นวิธีการนี้จึงมีความเหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อยบัวฉลองขวัญ

5.1.1.2 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน

การใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อวิธีการแรก คือการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ร่วมกับเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที หัวย่อยแบ่ง 4 ส่วนมีการปลอดเชื้อสูงสุด 96.7 เปอร์เซ็นต์ แต่มีการรอดชีวิตต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการรอดชีวิตของหัวย่อย ที่พบว่าทุกวิธีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่า เนื่องจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนหัวย่อยออกเป็น 4 ส่วน ทำให้เนื้อเยื่อเจริญและบริเวณรอบชิ้นส่วนที่ถูกแบ่ง ถูกทำลายจากสารฟอกฆ่าเชื้อได้โดยตรง ซึ่งการเพาะเลี้ยงหัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน พบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงบัวฝรั่ง หรือบัวผันที่มีหัวขนาดใหญ่ เช่น ในการทดลองของ นภาวรรณ และคณะ (2550) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุบลชาติพันธุ์ Director G.T. Moore และพันธุ์ Joey Tomocik และการทดลองของ Bodhipadma, *et al*. (2011) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัว *Nymphaea nouchali* var. *versicolor* (Bua Phuean)

5.1.1.3 การฟอกฆ่าเชื้อยอดอ่อน

เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อร่วมกับเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจากการฟอกฆ่าเชื้อยอดอ่อนบัวฉลองขวัญ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ดังนั้นวิธีการนี้จึงมีความเหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อยอดอ่อนบัวฉลองขวัญ อย่างไรก็ตามในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดอ่อนยังมีการปนเปื้อนค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องจากชิ้นส่วนพืชที่ได้จากธรรมชาติที่มีการเจริญเติบโตในน้ำจะมีการปนเปื้อนสูงกว่าพรรณไม้น้ำที่มีการเจริญเติบโตเหนือน้ำ (รสา, 2548) ซึ่งการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียที่ชิ้นส่วนพืช ทำให้อาหารมีลักษณะขุ่นข้นกว่าปกติ และเปลี่ยนเป็นสีเหลือง การเกิดโคโลนีของเชื้อ เป็นการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ภายในเนื้อเยื่อของพืช เช่น ในท่อลำเลียงน้ำ เป็นต้น ทำให้ไม่แสดงออกในระยะแรกของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และไม่อาจกำจัดได้โดยการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของชิ้นส่วนพืช จึงทำให้ชิ้นส่วนของพืชเกิดการปนเปื้อนสูง สำหรับการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียในขวดเพาะเลี้ยง พบว่ามีการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เพราะสภาพแวดล้อมภายในขวดเพาะเลี้ยงมีความเหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อ อีกทั้งอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประกอบด้วยน้ำตาลในระดับค่อนข้างสูง คือ 3 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์พวกเชื้อราและแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็ว พร้อมทั้งปลดปล่อยสารพิษที่เกิดจากกระบวนการเมทาบอลิซึม ทำให้เนื้อเยื่อตายได้ (กมลพร และคณะ, 2552)

5.1.1.4 การฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อน

การใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 4 วิธี ใบมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้ออยู่ระหว่าง 40-70 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบการรอดชีวิตของใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งหมด สอดคล้องกับรายงานของอารดา (2548) ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบของอนูเบียส ซึ่งเป็นพรรณไม้น้ำในตู้ปลา พบว่าแม้จะมีอัตราการรอดสูงและอัตราการปนเปื้อนต่ำก็ตาม แต่ไม่พบการพัฒนาของเนื้อเยื่อเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 42 วัน เนื่องจากใบอนูเบียสไม่สามารถทนต่อความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อในระดับความเข้มข้นสูงได้ ซึ่งโดยปกติประสิทธิภาพของสารฟอกฆ่าเชื้อจะเพิ่มขึ้นถ้าใช้เวลาและความเข้มข้นมากขึ้น แต่ถ้าใช้มากเกินไปจะส่งผลต่อความมีชีวิตของพืชได้ (ภัณฑิลา, 2551) ต่างกับรายงานของรัฐภัทร์ และคณะ (2553) ศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบยาว *Microsorium pteropus* (Blume) Ching ซึ่งเป็นพรรณไม้น้ำในวงศ์เฟิร์น โดยการฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อน พบว่าการใช้คลอรอกซ์ ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ระดับความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที เป็นวิธีที่ดีที่สุดในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อรากดำใบยาว ซึ่งมีอัตราการปนเปื้อนจุลินทรีย์ 10 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราการเจริญและพัฒนา 90 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าการใช้สารละลายคลอรอกซ์ร่วมกับสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และชิ้นส่วนเนื้อเยื่อสามารถเจริญพัฒนาโดยแตกใบใหม่ได้ดีกว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์อย่างเดียว และพบว่าสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ โดยไม่ทำลายชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ทำให้ชิ้นส่วนใบอ่อนสามารถเจริญพัฒนาโดยแตกใบใหม่ได้ดีที่สุด การที่ใบอ่อนสามารถเจริญพัฒนาได้ดี เนื่องจากชิ้นส่วนใบอ่อนเป็นเนื้อเยื่อที่กำลังมีการเจริญเติบโต ซึ่งมีเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic cells) สามารถนำมาเพาะเลี้ยงและชักนำให้เจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงเป็นต้นและรากได้ดีในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อที่มีความเข้มข้นสูงเกินไป สามารถทำลายชิ้นส่วนเนื้อเยื่อได้ ทำให้สีของใบเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด

5.1.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอด ราก แคลลัส และดอกของบัวฉลองขวัญ

5.1.2.1 การชักนำให้เกิดยอด

การชักนำยอดด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ IAA จากหัวย่อย ยอดอ่อน และยอดแบ่งกอของบัวฉลองขวัญบนอาหารสูตร MS ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถชักนำการเกิดยอดเฉลี่ย 8.0 4.1 และ 4.7 ยอดตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนยอดที่ได้จากอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำยอดได้เท่ากับ 3.7 0.8 และ 0.7 ยอดตามลำดับ ดังนั้นอาหารที่เติม BAP เพียงชนิดเดียวมีผลต่อการชักนำและเพิ่มจำนวนยอดจากทุกส่วน เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่มีการเติม BAP สอดคล้องกับ Piyachoatskulchai (1996) รายงานผลของ BAP ต่อการเกิดยอดบัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) จากการเพาะเลี้ยงตายอด โดยใช้ BAP ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 11.1 และ 11.6 ยอดตามลำดับ ภายในระยะเวลา 8 สัปดาห์ และจากการเพาะเลี้ยงหัวย่อยบัวจงกลนี (*Nymphaea sp.*) พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอด คืออาหารสูตร MS ที่เติม BAP 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอด 2 ยอด ภายในเวลา 6 สัปดาห์ (ภัณฑิลา, 2551)ในขณะที่ Jenks *et al*. (2000) ชักนำยอด *Nymphoides indica* จากก้านใบ ด้วย BAP 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA 20 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอดสูงสุด 11.5 ยอด และจากรายงานของ Herath *et al.* (2008) ที่เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเหง้าของ *Cryptocoryne* 2 สายพันธุ์ คือ *C. becketti* และ *C. bogneri* พบว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดเฉลี่ยได้สูงสุดทั้ง 2 สายพันธุ์ เท่ากับ 43.0 และ 58.1 ยอด ภายในเวลา 8 สัปดาห์ พืชแต่ละชนิดตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตได้แตกต่างกัน พืชส่วนใหญ่จะตอบสนองต่อการสร้างตาข้างหรือสร้างยอดได้ดีเมื่อใช้ BAP เนื่องจาก BAP มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดยอดได้ง่ายในพืชหลายชนิด (บุญยืน, 2540)

อาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนใบสูงสุดเท่ากับ 25.7 ใบต่อหัวย่อย สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงหัวย่อยบัวจงกลนี โดยการใช้ BAP ร่วมกับ IAA 10 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้จำนวนใบต่อหัวย่อยเพิ่มขึ้น (ภัณฑิลา, 2551) ซึ่งไซโตไคนินมีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดโดยส่งเสริมการแบ่งเซลล์และกระตุ้นการเจริญเติบโตของยอด (Murashige and Skoog, 1962)

เมื่อเปรียบเทียบชิ้นส่วนที่นำมาชักนำยอด พบว่าหัวย่อยให้จำนวนยอดและใบเฉลี่ยสูงกว่าการชักนำจากยอดอ่อน และยอดแบ่งกอ ทั้งในอาหารที่เติมและไม่เติม BAP เนื่องมาจากส่วนหัวย่อยของบัวฉลองขวัญ เป็นส่วนของลำต้นที่มีการสะสมอาหารไว้มากพอที่จะสร้างยอดหรือใบใหม่ได้ (เสริมลาภ, 2525)

ความสมบูรณ์ของต้นที่ได้จากหัวย่อย มีลักษณะก้านใบอวบยาว ใบใหญ่สีเขียวเข้ม หลังใบมีประเล็กน้อย ซึ่งเป็นลักษณะตามธรรมชาติของบัวฉลองขวัญ ในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ส่วนต้นที่ได้จากยอดอ่อน มีลักษณะ ก้านใบอวบยาว ใบสีเขียวใส หลังใบไม่มีประ ใบบางเห็นเส้นใบชัดเจนในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ และต้นจากยอดแบ่งกอ มีลักษณะเช่นเดียวกับการชักนำจากยอดอ่อน ต่างที่ก้านใบมีลักษณะอวบสั้น ยอดและใบเกิดอาการฉ่ำน้ำ

5.1.2.2 การชักนำราก

เมื่อพิจารณาจำนวนรากที่เกิดจากการชักนำยอดที่มีหัวย่อยด้วย NAA ความเข้มข้น 5 และ10 ไมโครโมลาร์ ให้รากจำนวน 10.3 และ 15.2 รากต่อหัวย่อย เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ NAA ที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Kongbankerd *et al*. (2012) ในการชักนำรากจากหัวย่อยของพืช *Charybdis numidica* บนอาหารที่เติม NAA 0.25 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำรากได้สูงสุด 4.58 รากต่อชิ้นส่วน มากกว่าอาหารที่ไม่เติม NAA และจากรายงานวิจัยของอารดา (2548) ชักนำรากจากยอดอ่อนของต้นอนูเบียส (*Anubias barteri*) พบว่าสามารถชักนำรากในอาหารที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้มากกว่าในอาหาร MS อย่างมีนัยสำคัญ

การชักนำรากจากยอดอ่อน และยอดแบ่งกอ ให้จำนวนรากและความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด คือ 3.0 ราก และ 0.8 เซนติเมตร และ 0.33 ราก และ 0.57 เซนติเมตรตามลำดับ ในอาหารที่ไม่มีการเติม NAA โดยจำนวนราก และความยาวรากลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NAA เมื่อชักนำรากจากยอดอ่อน และไม่มีการสร้างรากเมื่อชักนำรากจากยอดแบ่งกอ สอดคล้องกับรายงานของ Mahmad and Taha (2010) ที่ชักนำรากจากยอดของบัวหลวง ในเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่นเดียวกับการชักนำรากจากยอดบัวจงกลนีในอาหารที่ไม่เติม NAA (ภัณฑิลา, 2551) และจากรายงานของรสา (2548) จำนวนรากและความยาวราก ที่เกิดจากการชักนำยอดต้นใบพาย (*Cryptocoryne cordata*.) ลดลงเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ NAA รากมีลักษณะอวบหนาและสั้น

เมื่อพิจารณาการชักนำรากจากยอดที่มีหัวย่อย สามารถชักนำได้ดีกว่าชิ้นส่วนอื่น เพราะในหัวย่อยมีจุดกำเนิดราก (เสริมลาภ, 2525) และมีการตอบสนองต่อปริมาณของ NAA ที่มีในอาหาร ส่วนยอดอ่อน และยอดแบ่งกอ เป็นชิ้นส่วนที่อาจจะมีจุดกำเนิดรากจำกัด ทำให้การเติม NAA ไม่ส่งผลต่อการชักนำราก เนื่องจาก NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ซึ่งพืชสามารถสร้างเองได้ โดยมีมากที่บริเวณปลายยอด ซึ่งความสามารถของออกซินในการกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเจริญพัฒนาเป็นรากได้มากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับชนิดพืชและชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยง (บุญยืน, 2540)

เมื่อพิจารณาลักษณะราก พบว่าการชักนำรากจากยอดที่มีหัวย่อย รากที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์ที่สุด ต่างจากการชักนำรากจากยอดอ่อน รากมีลักษณะอวบหนา และสั้น เนื่องจากยอดการได้รับออกซินความเข้มข้นสูงจากภายนอกเป็นเวลานานจะมีผลยับยั้งการเกิดจุดกำเนิดรากและการเจริญเติบโตของรากได้ (รสา, 2548)

เนื่องจากในการทดลองนี้ สามารถชักนำยอดจากยอดอ่อนบนอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ โดยไม่เททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และได้ยอดจำนวนมาก ในระยะเวลาสั้น ดังนั้นจึงควรมีการทดลองใช้ออกซินชนิดอื่น หรือการใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนิน ในการชักนำรากจากยอดแบ่งกอนี้เพื่อให้ได้ต้นสมบูรณ์สามารถนำออกปลูกได้ต่อไป

5.1.2.3 การชักนำแคลลัส

เมื่อนำใบอ่อนที่ปลอดเชื้อมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 4 ไมโครโมลาร์ หรือ TDZ 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ ใบอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ปรากฏมีการสร้างกลุ่มเซลล์สีเขียวสลับน้ำตาล เมื่อนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบกลุ่มเซลล์ขนาดใหญ่จำนวนมาก ลักษณะคล้ายแคลลัส ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่ยังไม่พัฒนา (undifferentiation) ประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma) เพียงอย่างเดียว (ปิยะดา และ อารีย์, 2551) การที่เซลล์พัฒนาเกิดเป็นแคลลัสได้ เนื่องจากไซโตไคนินช่วยเร่งการขยายตัวของเซลล์ โดยไซโตไคนินสามารถขยายขนาดของแวคิวโอลในเซลล์ ทำให้เซลล์ขยายใหญ่ การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินร่วมกับสารกลุ่มออกซินที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เซลล์เกิดการยืดตัว (ศิรินธร, 2551) ซึ่งการสร้างแคลลัสพบเพียงตัวอย่างเดียวจากการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นของ TDZ และ NAA ในระดับสูงกว่าการทดลองอื่น อาจเนื่องมาจากลักษณะของเนื้อเยื่อใบอ่อนที่นำมาใช้ไม่สามารถพัฒนาและ

ตอบสนองต่อการชักนำของ TDZ และ NAA ได้เหมือนกับในการเกิดแคลลัสจากการชักนำก้านใบ ตายอดจากคัพภะ และตาจากไหล ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก ในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ภายใต้แสงสีขาว 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญ เซลล์มีการตื่นตัว (active cell) และแบ่งเซลล์สูง จึงสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบ มีลักษณะของแคลลัสดีที่สุด แคลลัสเกิดขึ้นที่บริเวณพื้นผิวรอยตัด มีสีเขียวเข้ม ลักษณะเกาะกันแน่นแยกกันได้ยาก แคลลัสมีขนาดใหญ่กว่าแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนอื่น และมีคะแนนการเจริญเติบโตสูงสุด และพบว่าชิ้นส่วนก้านใบและตายอดจากคัพภะ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ การที่ชิ้นส่วนจะสร้างแคลลัสขึ้นที่บริเวณรอยตัด เนื่องจากบริเวณรอยตัดมีการตอบสนองต่อสารต่างๆ ได้ก่อนบริเวณอื่น และมีการแลกเปลี่ยนก๊าซได้ดีกว่าเซลล์ข้างใน (ภัควดี, 2548)

5.1.2.4 การชักนำดอกในขวดเพาะ

การชักนำดอกบัวฉลองขวัญในขวดเพาะ ไม่สามารถชักนำได้ จากการใช้อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ IAA หรือ zeatin ร่วมกับ NAA และ kinetin อาจเนื่องมาจากการชักนำดอกในขวดเพาะได้ ส่วนใหญ่มาจากการกระตุ้นของไซโตไคนิน ที่อยู่ในพืช (Singh *et al*., 2000) และจะเห็นได้ว่าการชักนำดอกในขวดเพาะไม่ได้ขึ้นอยู่กับการกระตุ้นจากการเติมสารไซโตไคนินเข้าไปแต่เพียงอย่างเดียว (Ferreira *et al*., 2006) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ โดยมีรายงานที่กล่าวถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของยอด และการออกดอกของกุหลาบสายพันธุ์มายวาเลนไทน์ พบว่าระดับซูโครสและความเข้มแสงมีผลในการสร้างยอด โดยซูโครสความเข้มข้น 3.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำยอดได้ดี (ศิรินธร, 2551) เนื่องจากซูโครสเป็นคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นแหล่งของคาร์บอน โดยมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชส่วนใหญ่นิยมใช้น้ำตาลซูโครส น้ำตาลชนิดนี้พบมากในพืชชั้นสูง ทั้งนี้เพราะในธรรมชาติพืชเก็บสะสมพลังงานในรูปของน้ำตาลซูโครสเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งน้ำตาลซูโครสมีความเหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั่วไป เพราะให้ค่าออสโมติกโพเทนเชียลต่ำกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ และมีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเมื่อเปรียบเทียบในระดับความเข้มข้นเดียวกัน นอกจากนี้ยังสามารถรักษาระดับความเป็นกรดด่างได้ใกล้เคียงกับค่าความเป็นกรดด่างก่อนและหลังนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร เมื่อเปรียบกับน้ำตาลชนิดอื่นๆ แต่การใช้ซูโครสให้ได้ผลดีนั้น ต้องพิจารณาถึงแสง ชนิดของแสง อุณหภูมิ และสภาวะมืดหรือสว่างต่อการออกดอกของพืช มีรายงานการศึกษาของ Jun *et al*. (2005) ถึงปัจจัยการออกดอกของ Saffron เมื่อนำตาดอกที่มี

การให้แสงสีน้ำเงินส่วนตาดอกก่อนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีผลให้อัตราการออกดอกของชิ้นส่วนเพิ่มขึ้น 37.5-40.0 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 4 เดือน

5.1.3 วัสดุปลูกบัวฉลองขวัญที่เหมาะสมในสภาพธรรมชาติ

เมื่อนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีต้นและรากสมบูรณ์ ย้ายออกปลูกโดยการอนุบาลต้นอ่อนในกระถางเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนมีการรอดชีวิตเท่ากับ 86.9 เปอร์เซ็นต์และพบการสร้างหัวย่อยใหม่จำนวน 1.3 หัวต่อต้น การสร้างหัวย่อยใหม่นั้นเกิดจากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมอย่างกะทันหัน ซึ่งเป็นธรรมชาติของบัว หากต้นตายก็จะทิ้งเชื้อชาติไว้ในการดำรงเผ่าพันธุ์ (เสริมลาภ, 2549) เมื่อนำต้นบัวที่แข็งแรงสมบูรณ์ออกปลูกในอ่างบัวขนาด 10 นิ้ว เป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ การย้ายปลูกบัวฉลองขวัญ เป็นขั้นตอนสำคัญขั้นตอนหนึ่งของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ต้นอ่อนจะอยู่ในสภาพความชื้นสูง อากาศค่อนข้างเย็นสม่ำเสมอ ทำให้ต้นอ่อนต้องปรับตัวเมื่อออกมาอยู่ภายนอกห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเมื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถือว่าปรับตัวค่อนข้างน้อย เนื่องจากสภาพการเพาะเลี้ยงเป็นการเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งและเททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งจะคล้ายกับสภาพที่ปลูกในธรรมชาติ บัวจึงไม่ต้องปรับตัวมาก เพียงแต่ต้องปรับตัวกับสภาพของอากาศเท่านั้น การย้ายปลูกบัวฉลองขวัญที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงนับว่าปัญหาน้อยมากเมื่อเทียบกับพืชอื่น สอดคล้องกับรายงานของ Herath *et al.* (2008) ศึกษาการขยายพันธุ์ของ *Cryptocoryne* 2 สายพันธุ์คือ *C. becketti* และ *C. bogneri* พบว่าต้นอ่อนที่ได้จากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เมื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ต้นอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 81 และ 86 ตามลำดับ ส่วนต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS ต้นอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 90 และ 100 ตามลำดับ

ต้นบัวฉลองขวัญที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เริ่มมีดอกหลังย้ายปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และมีการให้ดอก 100 เปอร์เซ็นต์ หลังการย้ายปลูกได้ 3 เดือน (12 สัปดาห์) จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าจำนวนดอกมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของปุ๋ยคอกจากมูลวัวให้จำนวนดอก 7.7 ดอก จำนวนใบ 19.6 ใบ ความกว้างใบ 10.8 เซนติเมตร ความยาวใบ 13.7 เซนติเมตร และเส้นผ่าศูนย์กลางของดอก 7.6 เซนติเมตร เมื่อพิจารณาพบว่าการเติมมูลวัวลงในวัสดุปลูกช่วยให้มีธาตุอาหารเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของบัว เนื่องจากมูลวัวเป็นแหล่งธาตุอาหารพืช เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และเหล็ก เป็นต้น

โดยเฉพาะจะมีไนโตรเจนประกอบเป็นปริมาณมากที่สุด ซึ่งไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีบทบาทในการช่วยเร่งการเจริญเติบโตทางลำต้นของพืช สอดคล้องกับรายงานภัณฑิลา (2551) ศึกษาการเพาะเลี้ยงบัวจงกลนี พบว่าการย้ายปลูกโดยใช้วัสดุปลูกเป็นดินเหนียว 7 ส่วน ผสมปุ๋ยคอกจากมูลวัว 1 ส่วน ต้นบัวจงกลนีมีการเจริญเติบโตมีค่ามากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้วัสดุปลูกเป็นดินเหนียว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

5.2 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญ การชักนำการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ และการปลูกในสภาพธรรมชาติ ทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญ โดยสรุปได้ดังนี้

1. การฟอกฆ่าเชื้อหัวย่อย ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยเมอคิวริกคลอไรท์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ทำให้หัวย่อยมีการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 68.3 เปอร์เซ็นต์ และเกิดยอดภายในเวลา 2 สัปดาห์

2. การใช้อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 10 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอดจากหัวย่อยได้สูงสุดเฉลี่ย 9 ยอดต่อหัว เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ส่วนการใช้อาหารสูตร MS ที่เติม BAP 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA 5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอดจากยอดอ่อน เกิดยอดและใบเป็นจำนวนมาก และได้ยอดใหม่จำนวน 27 ต้นต่อยอด จากการตัดแบ่งยอด 4 ครั้ง ภายในเวลา 6 สัปดาห์

3. การใช้อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มี NAA 10 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำรากจากยอดที่มีหัวย่อยได้สูงสุดเฉลี่ย 15.2 รากต่อยอด เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์

4. การใช้ BAP ร่วมกับ IAA หรือ zeatin ร่วมกับ NAA และ kinetin ทุกสูตรอาหารไม่สามารถชักนำการออกดอกในขวดเพาะได้

5. วัสดุปลูกบัวฉลองขวัญที่เหมาะสมในสภาพธรรมชาติ คือดินเหนียวผสมมูลวัว อัตราส่วน 7 : 1 ทำให้มีจำนวนใบและจำนวนดอกมากกว่าการใช้ดินเหนียวอย่างเดียว

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญ ควรใช้หัวย่อยอายุประมาณ 2 เดือน ที่มีความสมบูรณ์และมีความพร้อมในการเจริญเป็นต้น ทำให้มีการรอดชีวิตสูงกว่าการใช้ชิ้นส่วนอื่น

2. สูตรอาหารที่เติม zeatin 0.5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอด และรากในช่วงเวลาเดียวกัน ทำให้ลดขั้นตอนและระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงน่าจะเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวฉลองขวัญ เพื่อให้ได้ต้นสมบูรณ์ในระยะเวลาสั้น

3. การชักนำรากเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ใบที่มีก้านยาวและจมอยู่ในน้ำ ทำให้ใบเหลืองและเน่าในที่สุด และเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย ดังนั้นจึงควรลดระยะเวลาในการชักนำรากให้อยู่ในช่วง 4 - 6 สัปดาห์

บรรณานุกรม

กมลพร ปานง่อม วรรณา มังกิตะ และ สุคนทิพย์ บุญวงศ์. 2552. การขยายพันธุ์ฮ่อม (*Strobilanthes cusia* (Nees) Kuntze) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับงานการขยายพันธุ์พืช. โรงพิมพ์ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 180 น.

กุลวรา จารุพันธ์ และ จันทิมา วรสัมปุรณะ. 2543. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

กรุงเทพธุรกิจ. 2554. คอลัมน์ creative “โทนสี” เทรนด์บนกลีบบัว. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา http://www.news.rmutt.ac.th/archives/9689 (14 สิงหาคม 2555)

จิตเกษม เที่ยงจิตต์ ภัควดี ภักดีงาม และสุเม อรัญนารถ. 2545. การชักนำให้เกิดแคลลัสในบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก. ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ณรงค์ โฉมเฉลา และ ณ.นพชัย ชาญศิลป์. 2550. การกลายพันธุ์เกสรดอกบัวเป็นกลีบดอก. การประชุมสัมมนาวิชาการ เรื่อง “การพัฒนาบัวให้เป็นพืชเศรษฐกิจครั้งที่ 6” ณ ห้องประชุมพวงพะยอม อาคารวิทยบริการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ชลบุรี. 10-14.

นภาวรรณ ผลมณี สุเม อรัญนารถ วีรา คล้ายพุก และ กัญจนา แซ่เตียว. 2550. การขยายพันธุ์อุบลชาติ (*Nymphaea* spp.) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 1-6.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2540. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา. ขอนแก่น. 163 น.

บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ. 2554. การขยายพันธุ์บัวประดับโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวประดับ. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก. ชลบุรี. 1-23.

ประภาพร พงษ์ไทย จิราภรณ์ อนันต์ชัยพัทธนา และ อัษฎาวุธ อารีสิริสุข. 2553. การชักนำให้กุหลาบหนูออกดอกในสภาพหลอดทดลอง. สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. โอ. เอส.พริ้นติ้งเฮาส์. กรุงเทพฯ. 140 น.

ปิยะดา ตันตสวัสดิ์ และ อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2551. บทปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. บริษัท เอเจนเทค จำกัด. กรุงเทพฯ. 109 น.

พิมล เที่ยงธรรม. 2538. การเพาะเลี้ยงกฤษณาในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ภัควดี ภักดีงาม. 2548. การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและแสงต่อการเกิดโซมาติคเอมบริโอจีนีซีสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก (*Nelumbo nucifera* Gartn.).วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ภัณฑิลา อุดร. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวจงกลนี (*Nymphaea sp*.) วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.

ภูรินทร์ อัครกุลธร. 2550. เทคนิคการขยายพันธุ์บัวจงกลนีเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช. คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

ภูรินทร์ อัครกุลธร และ สมพร คันยงค์. 2550. อิทธิพลของขนาดภาชนะปลูก ความลึกของดินปลูก และอัตราปุ๋ยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอุบลชาติ และปทุมชาติบางพันธุ์. คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

ภูริพันธุ์ สุวรรณเมฆ. 2555. ข้อมูลการส่งออกไม้ดอกไม้ประดับปี 2553. กลุ่มส่งเสริมงานไม้ดอกไม้ประดับ สำนักงานส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.

รวีวรฐ บัวทอง สุเม อรัญนารถ และกัญจนา แซ่เตียว. 2552. การศึกษาผลของชิ้นส่วนเริ่มต้นและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดเอมบริโอจีนิคแคลลัสของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 40(3): 327-330.

รสา หงส์รัตน์. 2548. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นใบพาย (*Cryptocoryne cordata* Griff.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.: หลักการและเทคนิค สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 202 น.

รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์ การญจนรี พงษ์ฉวี และ วรรณดา พิพิฒน์เจริญชัย. 2553. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบยาว *Microsorium pteropus* (Blume) Ching,. 1993. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ. กรุงเทพฯ.

ลักขณา เพ็ชรประดับ. 2550. การบังคับการออกดอกของเอื้องแซะหอม. ภาควิชาทรัพยากรพืช สาขาเกษตรสาสตร์และชีววิทยา มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

วรนุช ละอองศรี และ ชูศรี ไตรสนธิ. 2551. การศึกษาอนุกรมวิธานพืชวงศ์บัว (Nymphaeaceae) ในประเทศไทย. การประชุมสัมมนาวิชาการ เรื่อง “การพัฒนาบัวให้เป็นพืชเศรษฐกิจครั้งที่ 6” ณ ห้องประชุมพวงพะยอม อาคารวิทยบริการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ชลบุรี. 98-104.

วิชัย ภูริปัญยาวานิช. 2543. การเพาะเลี้ยงคัพภะบัวหลวง 2 ชนิด.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วีรา คล้ายพุก. 2551. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณอุบลชาติพันธุ์โจอี้ โทโมคิค โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ศิรินธร คงประพฤติ. 2551. ปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำแคลลัส การเจริญของยอด และการออกดอกของกุหลาบพันธุ์มายวาเลนไทน์ในหลอดทดลอง.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ไศลเพชร ศรีสุวรรณ. 2555. น้ำหอมจากบัวฉลองขวัญ. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา http://www.het.rmutt.ac.th/archives/3392 (1 มีนาคม 2556)

สารคดีเกษตร. 2555. นาบัวตัดดอก จ.ปทุมธานี.(ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา http://news.ch7.com/detail/471/สารคดีเกษตร_นาบัวตัดดอก_จ.ปทุมธานี.html (18 สิงหาคม 2555)

สุชาดา ศรีเพ็ญ วีรญา บุญเตี้ย และ วิสาขา เพียรสุภาพ. 2551. การจำแนกพันธุ์บัว. การประชุม สัมมนาวิชาการ เรื่อง “การพัฒนาบัวให้เป็นพืชเศรษฐกิจครั้งที่ 6” ณ ห้องประชุมพวงพะยอม อาคารวิทยบริการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ชลบุรี. 15-20.

สุเม อรัญนารถ กัญจนา แซ่เตียว และ วีรา คล้ายพุก. 2551. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณอุบลชาติพันธุ์โจอี้โทโมคิคโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยาศาสตร์การเกษตร, 39(3) : 207-210.

เสนีย์ รักษ์ติวัน. 2543. ปลูกบัว. บ้านและสวน. กรุงเทพ. 119 น.

เสริมลาภ วสุวัต. 2525. การปลูกอุบลชาติเป็นไม้ดอกไม้ประดับ.อัมรินทร์การพิมพ์. กรุงเทพฯ. 208 น.

เสริมลาภ วสุวัต. 2549. บัวประดับในประเทศไทย 2. เนชั่นบุ๊ค. กรุงเทพฯ. 168 น.

เสริมลาภ วสุวัต และ ปริมลาภ (วสุวัติ) ชูเกียรติมั่น. 2551. ต้นเหตุของการแปรและปนของอุบลชาติพันธุ์ปลูก.การประชุมสัมมนาวิชาการเรื่อง “การพัฒนาบัวให้เป็นพืชเศรษฐกิจของชาติ” ครั้งที่ 6 . ณ ห้องประชุมพวงพะยอม อาคารวิทยบริการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ชลบุรี. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก. ชลบุรี. 1-9.

อภิชาติ ชิดบุรี. 2010. หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการขยายพันธุ์. สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา. ลำปาง.

อารดา มรีรัตน์. 2548. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียสใบกว้าง (*Anubias barteri* var. barteri Engler).วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Arunyanart, S. and Chaitrayagun, M. 2005. Introduction of Somatic embryogenesis in Lotus (*Nelumbo nucifera* Gertn.) Scientia Horticulturae. 105: 411-420.

Bodhipadma, K., Noichinda, S., Wachirabongkoth, P., Pukpoomin, E., Punnakanta, L. and Nathalang, K. 2011. In vitro Propagation of *Nymphaea nouchali* var. *versicolor* ‘Bua Phuean’. The Journal of Application Science, King mongkut’s University of Technology. 10(2): 7-11.

Chansilpa, N. N. 2010. A New Potential Cut - Flower waterlily. *In* Proceedings of the 1st International Conference on Lotus and Waterlily 2010 and The 8th Conference on Research and Development of Lotus and Waterlily as Economic. Kasetsart University Chalermphrakiat SkonNakhon Province Campus. Thailand. 52-54.

Collin, H. A. and Edwards, S. 1998. Plant Cell Culture. BIOS Scientific Publishers , England. 158 p.

Herath, HMI., Krishnarajah and SA. and Wijesundara, DSA. 2008. Micropropagation of two endemic threatened *Cryptocoryne* species of Sri Lanka. Tropical Agricultural Research and Extension. 11: 19-24.

Ip, M., Lui, S. L., Poon, V. K. M., Lung, I. and Burd, A. 2006. Antimicrobial activities of silver dressings: an *in vitro* comparison. Journal of Medical Microbiology. 55: 59-63.

Jayaram, K., Prasad, M. N. V. 2007. Rapid in vitro multiplication of *Drosera indica* L.: a vulnerable, medicinally important insectivorous plant. Plant Biotechnology and springer. 1: 79-84.

Jenks, M. A., Kane, M. E. and McConnell, D.B. 2000. Shoot organogenesis from petiole explants in the aquatic plant *Nymphoides indica*. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 63: 1-8.

Jun, Z., Xiaobin, C. and Fang, C. 2005. Factors Influencing *In Vitro* Flowering from Styles of Saffron. Shanghai Normal University. China.

Kambaska, K. B. and Santilata, S. 2009. Effect of plant regulator on micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rose.) cv- Suprava and Surachi. Journal of Agricultural Technology. 5(2): 271-280.

Kane, M. E., Philman, N. L. and Clayton, D. 1991. A Technique for Enhanced Propagation of Viviparous Tropical water lilies. Proc. Fla. State Hort. Soc. 104: 319-322.

Kongbankerd, A. Wawrosch, C. and Kopp, B. 2012. *In vitro* bulblet induction from nodules of *Charybdis numidica*. NU Science Journal. 9(1): 12-17.

Lakshmanan, P. 1994. In vitro establishment and multiplication of *Nymphaea* hybrid 'James Brydon'. Plan Cell, Tissue and organ Culture. 36: 145-148.

Liau, S. Y., Read, D. C., Pugh, W. J., Furr, J. R. and Russell, A. D. 1997. Interaction of silver nitrate with readily identifiable group : relationship to the antibacterial action of silver ions. The Society for Applied Bacteriology, Letters in Microbiology. 25: 279-283.

Mahmad, N. and Taha, R. M. 2010. In vitro Plant Regeneration from Juvenile Shoots of *Nelumbo nucifera* Gaertn.ssp *nucifera* (China/Asiam Lotus), A Waterplant species as an Alternative food supply. Institute of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Malaya, Kuala Lumper, Malysia.

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

Nash, H. and Stroupe, S. 1998. Aquatic Plants and Their Cultivation Gardeners. Starling Publishing Company. New York. 224 p.

Pandian, S. R. K., Deepak, V., Kalishwaralal, K., Viswananthan , P. and Gurunathan, S. 2010. Mechnism of bacteeial activity of silver nitrate-a concentration dependent bifunctional molecule.Brazilian Journal of Microbiology. 41: 805-809.

Piyachoatskulchai, N. 1996. Effect plant growth rgulatore on in vitro culture of *Nelumbo nucifera* Gaertn. Kasetsart University. Bangkok.

Singh, M.,Jaiswal, U. and Jaiswal, V.S. 2000. Thidiazuron-induced *in vitro* flowering in *Dendrocalamus strictus* Nees. Current science. 79: 1529-1530.

Songpanich, P. and Hongtrakul, V. 2010. Intersubgeneric in *Nymphaea* ssp. L. to develop a blue hardy waterlily.Scientia Horticulture. 124: 475-481.

Shou, S.-Y., Miao, L.-X., Zai, W.-S., Huang, X.-Z. and Guo, D.- P. 2008. Factors influencing shoot multiplication of lotus (*Nelumbo nucifera*) Biologia Plantarum. 52 (3): 529-532.

Spacciapoli ,P., Buxton, D., Rothstein, D. and Friden, P. 2001. Antimicrobial activity of silver nitrate against periodontal pathogens. Journal of Periodont Research. 36: 108-113.

Sunian, E. 2004. Development of Sterilisation Procedures and in vitro studies of *Nymphaea* lotus. Master thesis, Faculty of Agriculture University Putra, Malaysia.

Thomas,T. D. 2007. Pretreament in thidiazuron improves in the vitro shoot induction from leaves *Curculigo ochioides* Gaertn., an endangered medicinal plant. Acta Physiol. Plant. 29: 455-461.

Ubonprasirt, B., Chansilpa, N. N. and Donjanthong, R. 2010. Micropropagation of Tropical Night blooming Waterlily (*Nympaea pubescens*). *In* Proceedings of the 1st International Conference on Lotus and Waterlily 2010 and The 8th Confrence on Research and Development of Lotus and Waterlily as Economic. Kasetsart University Chalermphrakiat Skon Nakhon Province Campus.Thailand. 101.

Vadawale, A. V., Barve, D.M. and Dave, A. M. 2006. *In vitro* Flowering and rapid propagation of *Vitex negundo* .-A medicinenal plant. Indian Journal of Biotechnology. 5: 112-116.

Wang, G.Y., Yuan, M.F. and Hong, Y. 2002. *In Vitro* Flower Induction in Rose. In Vitro Cell. Dev. Biology plant. 38: 513-518.

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ภาคผนวก ก

ตารางผนวกที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962)

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (มิลลิกรัม/ลิตร)
Macronutrients	
NH_4NO_3	1,650.00
KNO_3	1,900.00
$CaCl_2$ $2H_2O$	440.00
$MgSO_4.7H_2O$	370.00
KH_2PO_4	170.00
Micronutrients	
KI	0.83
H_3BO_3	6.20
$MnSO_4H_2O$	22.30
$ZnSO_4.7H_2O$	8.60
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Fe-EDTA Solution	
$FeSO_4.7H_2O$	27.80
Na_2-EDTA	37.20
Organic compounds	
Glycine	2.00
Nicotinic acid	0.50
Pyridoxine-HCl	0.50
Thiamine-HCl	0.10
Myo-inositol	100.00
Others	
Sugar	30,000
Agar	8,000
pH	5.7-5.8

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและการรอดชีวิตชิ้นส่วนหัวย่อยและหัวย่อยแบ่ง 4 ส่วนของบัวฉลองขวัญ ด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี บนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์

SOV	df	Mean Square			
		หัวย่อย		หัวย่อยแบ่ง 4 ส่วน	
		การปลอดเชื้อ	การรอดชีวิต	การปลอดเชื้อ	การรอดชีวิต
Treatment	3.00	97.22 ns	919.44*	1155.56*	141.67 ns
Error	8.00	141.67	133.33	175.00	83.33
Total	11.00				

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ 3 การทดสอบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและการรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอดอ่อนของบัวฉลองขวัญ ด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 2 วิธีการ บนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์

	การปลอดเชื้อ		การรอดชีวิต	
	วิธีการที่1	วิธีการที่ 2	วิธีการที่1	วิธีการที่ 2
Mean	53.33	40	53.33	40
Variance	133.33	400	133.33	400
Observations	3	3	3	3
df	4		4	
t Stat	1.0	ns	1.0	ns
P(T<=t) one-tail	0.19		0.19	
t Critical one-tail	2.13		2.13	

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของชิ้นส่วนใบอ่อนของบัวฉลองขวัญ ด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี บนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์

SOV	df	Mean Square
Treatment	3.00	900.00**
Error	8.00	100.00
Total	11.00	

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดและใบของบัวฉลองขวัญจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหัวย่อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

SOV	df	Mean Square	
		จำนวนยอด	จำนวนใบ
Treatment	8.00	10.58*	129.67**
Error	18.00	3.74	4.85
Total	26.00		

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดและใบของบัวฉลองขวัญ จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดและยอดแบ่งกอ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0 และ 5 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

SOV	df	Mean Square			
		ยอดอ่อน		ยอดแบ่งกอ	
		จำนวนยอด	จำนวนใบ	จำนวนยอด	จำนวนใบ
Treatment	5.00	3.89 ns	20.09 ns	8.09 ns	15.12**
Error	12.00	1.80	10.35	6.61	1.44
Total	17.00				

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนและความยาวรากของบัวฉลองขวัญ จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดที่มีหัวย่อย และชิ้นส่วนยอด บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

SOV	df	Mean Square			
		ยอดที่มีหัวย่อย		ชิ้นส่วนยอด	
		จำนวนราก	ความยาวราก	จำนวนราก	ความยาวราก
Treatment	2.00	27.72 ns	1.37 ns	1.72 ns	0.06 ns
Error	6.00	12.64	10.11	1.84	0.15
Total	8.00				

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด ใบและราก จากการชักนำดอกของบัวฉลองขวัญ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

SOV	df	Mean Square		
		จำนวนยอด	จำนวนใบ	จำนวนราก
Treatment	4.00	3.10 ns	8.10**	9.73*
Error	10.00	1.20	1.33	2.47
Total	14.00			

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด ใบ และราก จากการชักนำดอกของบัวฉลองขวัญบนอาหารสูตร MS ที่เติม zeatin ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.25 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

SOV	df	Mean Square		
		จำนวนยอด	จำนวนใบ	จำนวนราก
Treatment	6.00	17.41**	181.38**	17.27**
Error	14.00	0.81	12.76	2.95
Total	20.00			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอด ใบ และราก จากการชักนำดอกบัวฉลองขวัญบนอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

SOV	df	Mean Square		
		จำนวนยอด	จำนวนใบ	จำนวนราก
Treatment	3.00	2.22*	17.89*	17.64*
Error	8.00	0.50	2.67	2.75
Total	11.00			

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ตารางผนวกที่ 11 การทดสอบค่าเฉลี่ยจำนวนดอกและใบของต้นบัวฉลองขวัญที่ปลูกในสภาพธรรมชาติเมื่อใช้วัสดุปลูก 2 ชนิด เป็นเวลา 8 สัปดาห์

	จำนวนดอก		จำนวนใบ	
	วัสดุปลูก 1	วัสดุปลูก 2	วัสดุปลูก 1	วัสดุปลูก 2
Mean	7.67	5.44	19.58	19.05
Variance	2.77	2.8	2.02	0.07
Observations	3	3	3	3
df	4		4	
t Stat	1.71	*	0.56	ns
P(T<=t) one-tail	0.08		0.30	
t Critical one-tail	2.13		2.13	

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ 12 การทดสอบค่าเฉลี่ยขนาดดอก ความกว้างและความยาวใบของต้นบัวฉลองขวัญที่ปลูกในสภาพธรรมชาติเมื่อใช้วัสดุปลูก 2 ชนิด เป็นเวลา 8 สัปดาห์

	ขนาดดอก		ความกว้างใบ		ความยาวใบ	
	วัสดุปลูก 1	วัสดุปลูก 2	วัสดุปลูก 1	วัสดุปลูก 2	วัสดุปลูก 1	วัสดุปลูก 2
Mean	7.62	7.37	10.81	10.43	13.70	11.49
Variance	0.15	0.01	1.01	1.23	2.15	0.78
Observations	3	3	3	3	3	3
df	4		4		4	
t Stat	1.08	ns	0.43	ns	2.24	ns
P(T<=t) one-tail	0.17		0.34		0.04	
t Critical one-tail	2.13		2.13		2.13	

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ภาคผนวก ข

ผลงานที่ตีพิมพ์เผยแพร่

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ผลของ BA และ IAA ต่อการเกิดยอดของบัวฉลองขวัญในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of BA and IAA on *in vitro* Shoot Induction of *Nymphaea* sp. ‘King of Siam’

เยาวมาลย์ น้อยใหม่[1] **และ ปิยะวดี เจริญวัฒนะ**[1]
Noimai, Y.[1] and Charoenwattana, P.[1]

Abstract

The effects of plant growth regulators, N6-Benzylaminopurine (BA) and 3-indole acetic acid (IAA) on *in vitro* shoot induction of *Nymphaea* sp ‘King of Siam’ were studied. The bulbils were cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium supplemented with 0, 5 and 10 µM BA in combination with 0, 5 and 10 µM IAA and topped with sterile distilled water for 6 weeks. The result showed that the bulbils which were cultured on MS medium with 10 µM BA gave the maximum shoots of 8 shoots per bulbil and MS medium with 5 µM BA and 10 µM IAA gave the highest leaf number of 25.7 leaves per bulbil. Root induction was conducted by culturing shoots on MS medium supplemented with 0, 5 and 10 µM Naphthalene acetic acid (NAA) and topped with sterile distilled water for 8 weeks. It was found that the shoots which were cultured on MS medium with 10 µM NAA gave the highest root number of 15.2 roots per shoots. Then the plantlets were transplanted into pots for 4 weeks. The result indicated that the survival percentage of the plantlets was 86.9 and gave the average number of bulbil formation with 1.3 bulbils per shoot. The healthy plantlets were transplanted into lotus tub with lotus growing mud or lotus growing mud and cow manure (7:1) for 8 weeks in a natural environment. The results showed that the plantlets which were transplanted with the lotus growing mud and cow manure (7:1) gave a higher number of leave and flowers than with lotus growing mud.

Keywords: *Nymphaea* sp., in vitro, shoot induction, plant growth regulators

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช 2 ชนิด คือ N6-Benzylaminopurine (BA) และ 3-indole acetic acid (IAA) ต่อการเกิดยอดของบัวฉลองขวัญในสภาพปลอดเชื้อ โดยการเพาะเลี้ยงหัวย่อยบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ และเททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ การเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่มี BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุดเท่ากับ 8 ยอดต่อหัว และอาหารสูตรที่มี BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้มีจำนวนใบสูงสุดเท่ากับ 25.7 ใบต่อหัว การชักนำชิ้นส่วนยอดให้เกิดราก โดยเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม Naphthalene acetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ และเททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนรากมากที่สุดเฉลี่ย 15.2 รากต่อยอด แล้วจึงย้ายต้นอ่อนออกปลูกในกระถางเพื่ออนุบาลต้นอ่อนเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 86.9 และพบการสร้างหัวย่อยใหม่จำนวนเฉลี่ย 1.3 หัวต่อต้น จากนั้นนำต้นที่แข็งแรงสมบูรณ์ออกปลูกในอ่างบัว โดยใช้วัสดุปลูกดินเหนียว 7 ส่วน ผสมปุ๋ยคอกจากมูลวัว 1 ส่วน เปรียบเทียบกับดินเหนียวเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของปุ๋ยคอกให้จำนวนใบและดอกมากกว่าวัสดุปลูกที่ใช้เฉพาะดินเหนียวอย่างเดียว

คำสำคัญ: อุบลชาติ การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ การเกิดยอด สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช

---

[1] **สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12130**

[1] Department of Crop Production Technology,Faculty of Agricultural Technology,Rajamangala University of Technology Thanyaburi ,Pathumthani 12130

คำนำ

อุบลชาติเป็นพันธุ์ไม้น้ำที่มีดอกสวยงามได้รับการยกย่องให้เป็น “ราชินีแห่งพันธุ์ไม้น้ำ” (สุเม และคณะ, 2550) จัดอยู่ในสกุล *Nymphaea* เนื่องจากสีสันและรูปทรงที่หลากหลายจึงนิยมปลูกเป็นไม้ประดับตามอาคารบ้านเรือน หรือนำมาจัดเป็นสวนมุมพักผ่อนที่ได้รับความนิยมทั้งภายในและต่างประเทศ นอกจากนี้ยังใช้เป็นไม้ตัดดอกเพื่อการค้าอีกด้วย นับว่าเป็นพืชน้ำที่มีมูลค่ามาก (Chansilpa, 2010) การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติใช้เวลานานและทำได้ในปริมาณน้อย เนื่องจากเมื่อแยกจากต้นแม่แล้วต้องใช้เวลาประมาณ 2 ปี ให้ต้นโตก่อนจึงจะนำไปขายได้ ทำให้ไม่สามารถผลิตได้ทันตามความต้องการของตลาด ส่งผลให้ราคาต่อหน่วยเพิ่มสูงขึ้น (วีรา, 2551) เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการหนึ่งสามารถนำมาใช้ในการขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถขยายพันธุ์ได้ปริมาณมากในระยะเวลาสั้น ผลผลิตที่ได้มีความสม่ำเสมอ ได้ต้นกล้าปลอดโรค คุณภาพดีและคงเอกลักษณ์ของสายพันธุ์เดิมไว้ (สุเม และคณะ, 2551) การศึกษาผลของ BA และ IAA ต่อการเกิดยอดของบัวฉลองขวัญ (*Nymphaea* sp ‘King of Siam’) ในสภาพปลอดเชื้อ จึงเป็นการพัฒนาและแก้ปัญหาด้านปริมาณการผลิตต้นพันธุ์ หากสามารถผลิตบัวได้ตลอดทั้งปี สามารถส่งเสริมการพัฒนาบัวให้เป็นพืชเศรษฐกิจของชาติ เพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันและเพิ่มส่วนแบ่งทางการตลาดของบัวได้ (สุเม และคณะ, 2551) เป็นการสร้างมูลค่าผลผลิต และพัฒนาบัวฉลองขวัญให้เป็นพืชเศรษฐกิจของชาติต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

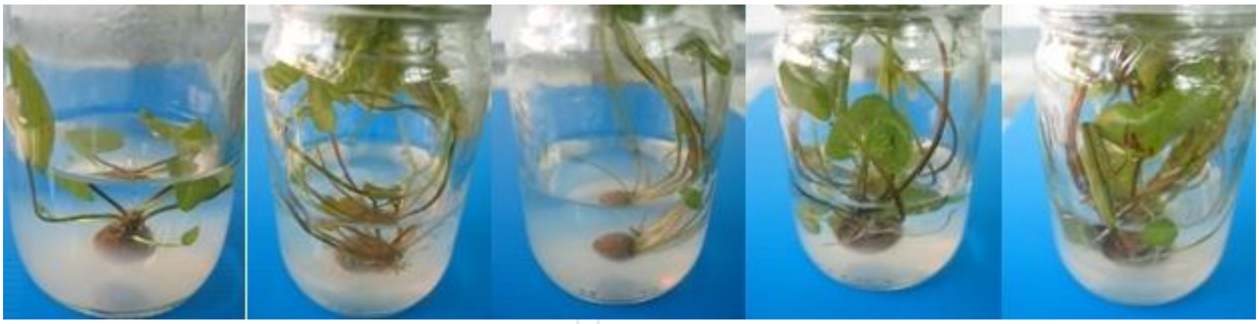
นำหัวย่อยบัวฉลองขวัญที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige และ Skoog (MS) ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับกับ IAA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ เททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกผลจำนวนยอดและจำนวนใบ จากนั้นคัดเลือกนำชิ้นส่วนยอดที่ได้จากการชักนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ เททับด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ บันทึกจำนวนและความยาวราก เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เปรียบเทียบผลจากค่าเฉลี่ย และศึกษาวิธีการย้ายปลูกบัวฉลองขวัญที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยย้ายต้นอ่อนออกปลูกในกระถางเพื่ออนุบาลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ต้นอ่อนที่สมบูรณ์และแข็งแรงปลูกลงในอ่างเลี้ยงบัวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร ปลูกจำนวนอ่างละ 1 ต้นโดยใช้วัสดุปลูก คือ ดินเหนียว 7 ส่วน ผสมปุ๋ยคอกจากมูลวัว 1 ส่วน เปรียบเทียบกับดินเหนียว บันทึกจำนวนใบขนาดความกว้างและความยาวใบ จำนวนดอกและขนาดดอก หลังการย้ายปลูก 8 สัปดาห์ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี T-test

ผลการทดลอง

ผลจากการเพาะเลี้ยงหัวย่อยบัวฉลองขวัญเป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยได้ดีที่สุดเท่ากับ 8 ยอดต่อหัว (Table 1) และอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 25.7 ใบต่อหัว (Figure 1)

Table 1 Effects of BA and IAA on number of shoot and leave after 6 weeks in culture

Plant growth Regulators (µM)		Number of shoot	Number of leave
BA	IAA		
0	0	3.7	7.0
	5	3.0	6.0
	10	2.3	4.7
5	0	7.3	12.0
	5	4.0	17.7
	10	4.3	25.7
10	0	8.0	15.3
	5	3.0	13.0
	10	4.3	10.7



Control BA 5 µM BA 5 µM + IAA 5 µM BA 5 µM + IAA 10 µM BA 10 µM

Figure 1 Effects of BA and IAA in MS medium on shoot Induction of *Nymphaea* sp. ‘King of Siam’

จากการศึกษาความเข้มข้นของ NAA ที่เหมาะสมในการชักนำรากบัวฉลองขวัญ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนรากมากที่สุดเฉลี่ย 15.2 รากต่อยอด รองลงมาเป็นสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ และสูตรที่ไม่เติม NAA ให้จำนวนรากเฉลี่ย 10.3 และ 9.7 รากต่อยอด ตามลำดับ และอาหารที่ไม่เติม NAA ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 8.7 เซนติเมตร รองลงมาเป็นสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ให้ความยาวรากเฉลี่ย 8.3 และ 7.7 เซนติเมตร ตามลำดับ

หลังจากการอนุบาลในกระถางเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 86.9 และพบการสร้างหัวย่อยใหม่จำนวนเฉลี่ย 1.3 หัวต่อต้น เมื่อนำออกปลูกในอ่างบัวเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บัวมีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และจากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าจำนวนดอกมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของปุ๋ยคอกให้จำนวนดอก 7.7 ดอก (Table 2) มีจำนวนใบ 19.6 ใบ ความกว้างใบ 10.8 เซนติเมตร ความยาวใบ 13.7 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางของดอก 7.6 เซนติเมตร

Table 2 Effects of planting materials on growth of *Nymphaea* sp ‘King of Siam’

Planting materials	Number of leaves	Leaf width (cm.)	Leaf length (cm.)	Number of flowers	Flower diameter (cm.)
1. mud:cow manure	19.6	10.8	13.7	7.7a	7.6
2. mud	19.1	10.4	11.5	5.4b	7.4
T-test	ns	ns	ns	*	ns
CV%	22.45	12.54	11.27	35.35	6.05

ns = non-significant at (P <0.05) * = significant at (P <0.05)

วิจารณ์ผล

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช BA และ IAA ต่อการเกิดยอดของบัวฉลองขวัญในสภาพปลอด เมื่อเพาะเลี้ยงหัวย่อยบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำหัวย่อยให้เกิดยอดได้สูงสุดเฉลี่ย 8 ยอดต่อหัว แสดงให้เห็นว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต กลุ่มไซโทไคนิน (BA) เพียงอย่างเดียวให้ผลดีกว่าการใช้ร่วมกับออกซิน (IAA) ซึ่งไซโทไคนินเป็นสารที่ช่วยชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะ BA สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้ดีกว่าไซโทไคนินชนิดอื่น (Shou และคณะ, 2008) สอดคล้องกับ กาญจนรี (2547) ที่ทำการเพาะเลี้ยงส่วนยอดอนูเบียส พบว่าการเติม BA เพียงอย่างเดียวความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด 6.8 ยอด ภายในระยะเวลา 6 สัปดาห์ การเติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 25.7 ใบต่อหัว จากการทดลองพบว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ IAA ในปริมาณที่สูงขึ้นมีผลให้บัวฉลองขวัญมีก้านใบที่ยาวและใบใหญ่กว่าที่ไม่เติม IAA เนื่องจาก IAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและมีผลต่อการขยายตัวของเซลล์ อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของ IAA ที่สูงขึ้นมีผลทำให้จำนวนใบลดลง สอดคล้องกับผลการศึกษาของ

วรางคณา และ นงนุช (2552) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไส้ปลาไหล (*Barclaya longifolia*) พบว่าการใช้ Kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบใหม่สูงสุดเฉลี่ย 33.5 ใบ แตกต่างจากการทดลองของ ภัณฑิลา (2551) พบว่าการใช้ BA ร่วมกับ IAA 5 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้จำนวนใบต่อหัวย่อยของบัวจงกลนีลดลง ในการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ต่อการเกิดราก พบว่ารากมีจำนวนเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ NAA (วีรา, 2551; Jenks และคณะ, 2000) และวัสดุปลูกที่เหมาะสมสำหรับการออกปลูกบัวฉลองขวัญควรเป็นวัสดุที่มีส่วนผสมของปุ๋ยคอกเนื่องจากบัวมีการเจริญเติบโตที่แข็งแรงและสมบูรณ์มากกว่าการใช้เฉพาะดินเหนียวอย่างเดียว

สรุปผล

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณยอดของบัวฉลองขวัญคือ อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอดมากที่สุดเท่ากับ 8 ยอดต่อหัว ส่วนอาหารสูตรที่เติม BA 5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนใบสูงสุดเท่ากับ 25.7 ใบต่อหัว ภายในเวลา 4 สัปดาห์ และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำราก คือ อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 10 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนรากมากที่สุดเฉลี่ย 15.2 รากต่อยอด ภายในเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อย้ายต้นอ่อนออกปลูกในกระถางเพื่ออนุบาลต้นอ่อนเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 86.9 และพบการสร้างหัวย่อยใหม่จำนวนเฉลี่ย 1.3 หัวต่อต้น โดยบัวฉลองขวัญที่ปลูกในวัสดุที่มีส่วนผสมของปุ๋ยคอกมีใบและดอกจำนวนมากกว่าการใช้เฉพาะดินเหนียวอย่างเดียวเป็นวัสดุปลูก

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภูรินทร์ อัครกุลธร พิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี สำหรับการสนับสนุนต้นพันธุ์และสถานที่ปลูกทดสอบบัวฉลองขวัญในงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนรี พงษ์ฉวี, 2547, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียส, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42, กรุงเทพฯ, หน้า 45-52.

ภัณฑิลา อุดร, 2551, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวจงกลนี, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

วรางคณา กาซัม และนงนุช เลาหะวิสุทธิ์, 2552, ผลของ kinetin และ IAA ที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไส้ปลาไหล (*Barclaya longifolia*), การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47, กรุงเทพฯ, หน้า 396-404.

วีรา คล้ายพุก, 2551, ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณอุบลชาติพันธุ์โจอี้โทโมคิคโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ

สุเม อรัญนารถ กัญจนา แซ่เตียว และ วีรา คล้ายพุก, 2551, ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณอุบลชาติพันธุ์โจอี้โทโมคิคโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, วารสารลาดกระบัง, 3(พิเศษ): 207-210.

Chansilpa, N.N., 2010, A New Potential Cut - Flower waterlily. The Proceedings of the 1st International Conference on Lotus and Waterlily, The 8th Conference on Research and Development of Lotus and Waterlily as Economic, Kasetsart University Chalermphrakiat Skon Nakhon Province Campus, Thailand, p. 52-54.

Jenks, M.A., Kane, M.E. and McConnell, D.B., 2000, Shoot Organogenesis from Petiole explants in the Aquatic Plant *Nymphoides indica*, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 63: 1-8.

Shou, S.Y., Miao, L.X., Zai, W.S., Huang, X.Z. and Guo, D.P., 2008, Factors Influencing Shoot Multiplication of Lotus (*Nelumbo nucifera*), Biologia Plantarum, 52(3): 529-532.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางเยาวมาลย์ น้อยใหม่

วัน เดือน ปีเกิด 19 มิถุนายน 2513

ที่อยู่ 9/1 หมู่ที่ 6 ตำบลคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

การศึกษา สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต วิชาเอกเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ปี พ.ศ. 2544

ประสบการณ์ทำงาน พ.ศ. 2532-2540 บริษัทคาวาซูมิ แลบอราทอรีประเทศไทยจำกัด ฝ่ายควบคุมคุณภาพ ห้องปฏิบัติการ ตำแหน่งโฟร์แมน

พ.ศ. 2542-2549 สถาบันวิจัยเคมี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ตำแหน่งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และนักวิทยาศาสตร์

พ.ศ. 2549-ปัจจุบัน ศูนย์เครื่องมือ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ตำแหน่งเจ้าพนักงานวิทยาศาสตร์

ผลงานทางวิชาการ วิจัยร่วม เรื่อง การศึกษาสภาวะการสกัดแบบไม่ใช้ตัวทำละลายสำหรับตรวจหาสารปนเปื้อนบางชนิดในเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ ในการประชุมสัมมนาระดับนานาชาติ ณ โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว จ.เชียงใหม่ 6-9 เมษายน 2548

นำเสนอผลงานทางวิชาการ ในหัวข้อ ผลของ BA และ IAA ต่อการเกิดยอดของบัวฉลองขวัญในสภาพปลอดเชื้อ ในการประชุมวิชาการ และเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 6 มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าพระนครเหนือ 26-27 กรกฎาคม 2555