



การชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลองของบอนพระยาเสวต  
(*Caladium humboldtii* Schott. cv. Phraya Savet )

# มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

โดย

นายรุ่งนรินทร์ สุขอร่าม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลองของบอนพระยาเสวต  
(*Caladium humboldtii* Schott. cv. Phraya Savet )

โดย  
นายรุ่งนรินทร์ สุขอร่าม

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาชีววิทยา  
ภาควิชาชีววิทยา  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร  
ปีการศึกษา 2550  
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

***IN VITRO* TUBER INDUCTION OF PHRAYA SAVET CALADIUM  
(*CALADIUM HUMBOLDTII* SCHOTT. CV. PHRAYA SAVET )**

**By**

**Rungniran Sugaram**

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree**

**MASTER OF SCIENCE**

**Department of Biology**

**Graduate School**

**SILPAKORN UNIVERSITY**

**2007**

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การชักนำให้เกิดหัวใน  
หลอดทดลองของบอนพระยาเสวต (*Caladium humboldtii* Schott. cv. Phraya Savet ) ” เสนอ โดย นาย  
รุ่งนรินทร์ สุขอร่าม เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาชีววิทยา

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตั้งกูร)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธิ์
2. รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ทองภักดี

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์  
คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิไลกรณ์ บุญญกิจจินดา)  
...../...../.....

..... กรรมการ  
(ดร.ชบา จำปาทอง )  
...../...../.....

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธิ์)  
...../...../.....

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ทองภักดี)  
...../...../.....



48303203 : MAJOR : BIOLOGY

KEY WORD : *CALADIUM HUMBOLDTII* SCHOTT./ PHRAYA SAVET/ *IN VITRO*/ TUBER  
INDUCTION

RUNGNIRAN SUGARAM : *IN VITRO* TUBER INDUCTION OF PHRAYA SAVET  
CALADIUM (*CALADIUM HUMBOLDTII* SCHOTT.CV. PHRAYA SAVET). THESIS ADVISORS :  
ASST. PROF. CHOCKPISIT THEPSITHAR, Ph.D., AND ASSOC. PROF. AREE THONGPUKDEE,  
Ph.D. 89 pp.

*In vitro* tuber induction of Phraya Savet caladium (*Caladium humboldtii* Schott. cv. Phraya Savet) was established. An individual single shoot from multiple shoot culture obtained from leaf and petiole, was cultured for 6 weeks on modified solid Murashige and Skoog, 1962 medium (MS) supplemented with 20-100 g/L sucrose or 10-35  $\mu$ M of N<sup>6</sup>-benzyladenine (BA), with or without 5 g/L activated charcoal. It was found that the appropriate culture medium for tuber induction was MS medium supplemented with 80 g/L in the presence of 5 g/L activated charcoal, providing 198.7 mg/tuber fresh weight and 5.95 mm/tuber in diameter. There were no significant differences in tuber formation among different concentrations of sucrose without activated charcoal in culture medium. For media containing BA in the absence of activated charcoal provided larger tuber diameter (3.76-4.68 mm/tuber) and higher fresh weight (57.4-78.0 mg/tuber) than those obtained from media containing BA with activated charcoal (2.84-3.24 mm/tuber and 30.1-35.3 mg/tuber). However, the highest diameter and fresh weight of tuber were obtained from medium containing 10-20  $\mu$ M BA. For media containing sucrose, BA and activated charcoal, the great tuber was induced in MS medium contained with 60 g/L sucrose and 10  $\mu$ M BA in the absence of activated charcoal, providing 12.4 mm/tuber in diameter and 1.041 g/L fresh weight. The best condition medium for tuber production was agitated liquid medium providing 19.01 mm/tuber in diameter and 2.61 g/tuber fresh weight. The obtained tubers with all sizes were established to pumice with 100% survival. However, no survival was found from tubers taken out from culture medium and stored at 25 °C for 2 and 4 weeks, prior to transferring to pumice.

---

Department of Biology Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2007  
Student's signature .....  
Thesis Advisors' signature 1. .... 2. ....

## กิตติกรรมประกาศ

การทำงานวิจัยครั้งนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธิ และรองศาสตราจารย์ ดร. อารีย์ ทองภักดี ที่ได้ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในด้านต่างๆ ตลอดจนแก้ไขปรับปรุงข้อผิดพลาดในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิไลภรณ์ บุญกิจจินดา และ ดร. ชบา จำปาทอง ที่ได้กรุณาแนะนำ ตรวจสอบแก้ไข และให้ข้อเสนอแนะ เพื่อให้งานวิจัยครั้งนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคณาจารย์ คุณสุลักษณ์ อยู่คง คุณณรงค์ สามงามน้อม คุณศิริพร เทวฤทธิ์เรืองศรี และเจ้าหน้าที่ภาคชีววิทยาทุกคนที่อำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือ แนะนำ และเป็นกำลังใจตลอดมา

สุดท้ายการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้จะเริ่มต้น และสำเร็จลงด้วยดี ไปมิได้เลยถ้าขาด คุณพ่อคุณแม่ และครอบครัว ที่เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนด้านการศึกษาตลอดมา ขอกราบขอบพระคุณมากครับ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฎ
สารบัญรูป.....	ฏ
คำอธิบายคำย่อ.....	ฐ
<b>บทที่</b>	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
ความมุ่งหมาย และวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
ขอบเขตของการศึกษา.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
2 เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....	4
คำศัพท์ที่ใช้เรียกส่วนต่างๆ ของบอนสี.....	8
การขยายพันธุ์บอนสี.....	9
การขยายพันธุ์บอนสีในหลอดทดลอง.....	13
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลอง.....	14
3 อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง.....	18
อุปกรณ์ และสารเคมี.....	18
วิธีการทดลอง.....	21
การทดลองที่ 1 การศึกษาความผันแปรของต้นบอนพระยาเสวตที่ได้ จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	21
การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครส และผงถ่าน กัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต ...	22
การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของปริมาณ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการ ชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต.....	23

บทที่	หน้า
การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ BA และผงถ่าน กัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต ..	24
การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของสภาพของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำ ให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต .....	25
การทดลองที่ 6 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหัวที่ได้จากการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กับระยะเวลาการเก็บรักษา ต่อการ เจริญของหัวเมื่อนำออกปลูก .....	26
การทดลองที่ 7 ศึกษากายวิภาคของหัวที่ได้จากสภาพการเพาะเลี้ยงที่ แตกต่างกัน .....	27
<b>4 ผลการทดลอง .....</b>	<b>28</b>
การทดลองที่ 1 การศึกษาความผันแปรของต้นบอนพระยาเสวตที่ได้จากการ ขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ .....	28
การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ต่อ การชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต .....	34
การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของปริมาณ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้ เกิดหัวของบอนพระยาเสวต .....	39
การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ BA และผงถ่านกัมมันต์ ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต .....	43
การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของสภาพของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิด หัวของบอนพระยาเสวต .....	47
การทดลองที่ 6 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหัวที่ได้จากการเพาะ เลี้ยงเนื้อเยื่อ กับระยะเวลาการเก็บรักษา ต่อการเจริญของหัว เมื่อนำออกปลูก .....	51
การทดลองที่ 7 ศึกษากายวิภาคของหัวที่ได้จากสภาพการเพาะเลี้ยงที่แตกต่าง กัน .....	57
<b>5 อภิปรายผลการทดลอง .....</b>	<b>60</b>
การทดลองที่ 1 การศึกษาความผันแปรของต้นบอนพระยาเสวตที่ได้จากการ ขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ .....	60

การทดลองที่ 2	ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต.....	61
การทดลองที่ 3	ศึกษาผลของปริมาณ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต.....	62
การทดลองที่ 4	ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต.....	63
การทดลองที่ 5	ศึกษาผลของสภาพของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต.....	65
การทดลองที่ 6	ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กับระยะเวลาการเก็บรักษา ต่อการเจริญของหัวเมื่อนำออกปลูก.....	66
การทดลองที่ 7	ศึกษากายวิภาคของหัวที่ได้จากสภาพการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน.....	67
6	สรุปผลการทดลอง.....	68
การทดลองที่ 1	การศึกษาความผันแปรของต้นบอนพระยาเสวตที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	68
การทดลองที่ 2	ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต.....	68
การทดลองที่ 3	ศึกษาผลของปริมาณ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต.....	69
การทดลองที่ 4	ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต.....	69
การทดลองที่ 5	ศึกษาผลของสภาพของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต.....	69
การทดลองที่ 6	ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กับระยะเวลาการเก็บรักษา ต่อการเจริญของหัวเมื่อนำออกปลูก.....	70
การทดลองที่ 7	ศึกษากายวิภาคของหัวที่ได้จากสภาพการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน.....	71

	หน้า
บรรณานุกรม.....	72
ภาคผนวก.....	79
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารและสารเร่งการเจริญเติบโต.....	80
ภาคผนวก ข การเตรียมเนื้อเยื่อ และการย้อมสี เพื่อส่องใต้กล้องจุลทรรศน์	
แบบใช้แสง .....	84
ภาคผนวก ค วิธีการคํานวณอัตราส่วนของไบบอนพระยาเสวต .....	87
ประวัติผู้วิจัย.....	89

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความผันแปรของบอนพระยาเสวตที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังย้ายไปปลูกในกระถางเป็นเวลา 8 เดือน แบ่งกลุ่มตามลักษณะของใบ .....	30
2	ความผันแปรของบอนพระยาเสวตที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังย้ายไปปลูกในกระถางเป็นเวลา 8 เดือน แบ่งกลุ่มจากอัตราส่วนของใบและ สีของใบ.....	31
3	ผลของน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ในอาหาร MS ต่อการเกิดหัวของบอน พระยาเสวต จากยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	36
4	ผลของ BA และ ผงถ่านกัมมันต์ในอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ต่อการเกิดหัวของบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเป็นเวลา 6 สัปดาห์ .....	40
5	ผลของน้ำตาลซูโครส BA และผงถ่านกัมมันต์ที่มีต่อการเจริญพัฒนาของหัวบอน พระยาเสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	44
6	ผลของสภาพอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ที่มีการเจริญพัฒนาของหัวบอนพระยา เสวตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ในอาหาร MS สูตรที่มี น้ำตาลซูโครส 60 กรัม/ลิตร และ BA 10 ไมโครโมลาร์ .....	48
7	ผลการเจริญเติบโตของบอนพระยาเสวตเมื่อนำหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ออกปลูกทันที โดยปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ .....	52

## สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ภาพแสดงลักษณะใบบอนสี .....	6
2	แสดงต้นบอนพระยาเสวต .....	7
3	แผนภาพแสดงองค์ประกอบของต้นบอนสี .....	9
4	แสดงใบของบอนพระยาเสวต .....	18
5	แสดงผลความผันแปรของบอนพระยาเสวตที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะ เลี้ยงเนื้อเยื่อ และนำไปปลูกลงกระถางเป็นระยะเวลา 8 เดือน แบ่งกลุ่มตาม ลักษณะของใบ .....	33
6	แสดงผลของน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ที่มีต่อการเจริญพัฒนาของหัวบอน พระยาเสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอด .....	38
7	แสดงผลของ BA และผงถ่านกัมมันต์ที่มีต่อการเจริญพัฒนาของหัวบอนพระยา เสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอด .....	42
8	แสดงผลของน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ BA และผงถ่านกัมมันต์ ที่มีต่อการเกิดหัวของ บอนพระยาเสวต .....	46
9	แสดงผลของสภาพของอาหารเพาะเลี้ยง ต่อการเกิดหัวของบอนพระยาเสวต เมื่อ เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ .....	50
10	แสดงหัวบอนพระยาเสวตเมื่อนำหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเก็บรักษาไว้ที่ อุณหภูมิ 25 °C เป็นระยะเวลา 0, 2 และ 4 สัปดาห์ .....	54
11	แสดงต้นบอนพระยาเสวตอายุ 8 สัปดาห์ ที่ได้จากการนำหัวบอนที่ได้จากการเพาะ เลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลว ปลูกลงกระถางในทันที .....	56
12	ภาพตัดตามขวางของแคลลัส และหัวบอนพระยาเสวต ที่เลี้ยงในอาหารสภาพ ต่างๆ .....	59

### คำอธิบายคำย่อ

MS	=	Murashige and Skoog 1962
BA	=	N <sup>6</sup> -Benzylaminopurine
IAA	=	Indole-3-acetic acid
NAA	=	α-Naphthaleneacetic acid
IBA	=	Indole-3-butyric acid
2,4-D	=	2,4-dichlorophenoxyacetic acid
2,4,5-T	=	2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid
I <sub>2</sub>	=	Iodine
KI	=	Potassium Iodide
<i>H. paivae</i>	=	<i>Hyacinthoides paivae</i>
<i>C. bicolor</i>	=	<i>Caladium bicolor</i>
°C	=	Degree Celsius
g/L	=	Grams per liter
μM	=	Micromolar
mm.	=	Millimeter
cm.	=	Centimeter
มก.	=	มิลลิกรัม
มม.	=	มิลลิเมตร
น.	=	นาฬิกา

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

บอนสี (caladium) เป็นไม้ประดับที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบอเมริกาใต้ เริ่มแพร่หลายเข้าสู่ทางยุโรป อินเดีย ตลอดจนประเทศอินโดนีเซีย และเข้าสู่ประเทศไทยในสมัยสุโขทัย เริ่มแรกปลูกเลี้ยงเฉพาะในกลุ่มเจ้านายในวัง หรือข้าราชการชั้นผู้ใหญ่ จนกระทั่งปี พ.ศ. 2472 เริ่มขยายความนิยมกว้างออกไปสู่ประชาชน (เศรษฐมนต์ 2550) สมัยนั้นได้มีการนำเข้าบอนสีพันธุ์ใหม่ๆ ซึ่งบอนสีบางสายพันธุ์ราคาสูงถึง 10 ชั่ง (เทียบราคาในปัจจุบันมากกว่า 100,000 บาท) หลังจากนั้นความนิยมบอนสีลดลง แต่ความพยายามฟื้นฟูด้วยการประกวด เพื่อเพิ่มความนิยมตลอดมา จนกระทั่งปัจจุบันสำหรับสถานการณ์การผลิตบอนสีมีการผลิตเป็นไม้กระถางในประเทศ และไม้หัวส่งออกต่างประเทศ ซึ่งตลาดต่างประเทศมีมูลค่าการส่งออกประมาณ 3 ล้านบาท นับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545-2547 โดยระยะแรกตลาดใหญ่ที่สุดอยู่ในประเทศญี่ปุ่น (อรวรรณ 2548) ภายหลังจากส่งออกไปยังอินโดนีเซีย และมาเลเซียมากขึ้น จนกลายเป็นประเทศเป้าหมายในการส่งออกบอนสีมากที่สุดของประเทศไทย (สกวรัตน์ 2550)

บอนพระยาเสวต (*Caladium humboldtii* Schott.) เป็นบอนที่มีมาตั้งแต่สมัยอดีต และได้รับความนิยมอย่างมากในปัจจุบัน หลังจากการประกวดบอนสีในงานพฤกษานนท์ 49 บอนพระยาเสวตได้รางวัลที่ 1 ประเภทบอนกอ (เศรษฐมนต์ 2550) บอนพระยาเสวต เป็นบอนขนาดเล็ก เป็นพุ่ม ใบยาว 10-14 เซนติเมตร กว้าง 4-7 เซนติเมตร พื้นใบ และเส้นใบสีเขียว มีลายเป็นสีขาว แหล่งกำเนิดอยู่ที่อเมริกาใต้ แถบบริเวณบราซิล และเวเนซุเอล่า (Tropiflora Cargo Report 2005; www.brentandbecksbulbs.com 2008; Asiatica 2008) ไม่มีรายงานว่าบอนพระยาเสวตมีการนำเข้ามาในประเทศไทยเมื่อใด แต่พบว่ามีความนิยมมาตั้งแต่สมัยรัชกาลที่ 5 ปัจจุบันนิยมปลูกเป็นไม้กระถาง และปลูกลงแปลงดินเพื่อจัดสวน เหมาะสำหรับปลูกในพื้นที่จำกัด (สมาคมบอนสีแห่งประเทศไทย 2540; อุไร 2540) ในตลาดต่างประเทศมีการขายบอนพระยาเสวตทั้งในรูปไม้กระถาง และขายเป็นหัว (Tropiflora Cargo Report 2005; www.brentandbecksbulbs.com 2008; Asiatica 2008) โดยหัวของบอนพระยาเสวตจะมีราคาประมาณ 332 ดอลลาร์สหรัฐต่อ 100 หัว (www.brentandbecksbulbs.com 2008) ในขณะที่บอนชนิดอื่นๆ จะมีราคาอยู่ที่ประมาณ 200-332 ดอลลาร์ต่อ 100 หัว ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (Asiatica 2008; www.brentandbecksbulbs.com 2008) และ

จากราคาที่สูงของบอนพระยาเสวตในตลาดต่างประเทศ ทำให้บอนพระยาเสวตเป็นบอนที่น่าสนใจในการส่งออกบอนสี แต่ปัญหาที่สำคัญของการส่งออกไม้ดอกไม้ประดับคือ คือการเกิดความเสียหายของใบ การเกิดบาดแผล การเหี่ยว และโรคแมลงที่ติดไปกับต้นไม้ หรือหัว (ฉัตรศิริ และ ภาวนา 2548) ซึ่งโรค และแมลงที่สำคัญของบอนสีคือ โรคโคนเน่า โรคใบไหม้ใบจุด (เศรษฐมนตร์ 2550) ไล่เดือนฝอย เพลี้ยอ่อน ไรแดง (เจริญ 2525) โดยโรค และแมลงเหล่านี้เป็นปัญหาสำคัญทำให้ไม้ไม่สามารถส่งออกได้ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พืชที่สามารถส่งออกได้ต้องได้รับการตรวจ และมีใบรับรองว่าปลอดโรคแล้ว (อุคร และสุขุม 2549) ดังนั้นการส่งออกบอนพระยาเสวต และบอนสายพันธุ์อื่นๆ ในปัจจุบันจึงต้องระมัดระวังด้านโรค และแมลง ที่อาจติดไปกับหัว เนื่องจากการวิธีการปลูกบอนในปัจจุบันมีโอกาสเสี่ยงกับโรค และแมลง ต้องมีการใช้สารเคมีป้องกันแมลงชนิดต่างๆ จึงมีปัญหาเรื่องสารเคมีตกค้างต่อไป แนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาหัวบอนส่งออกคือ การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนให้เกิดการสร้างหัวในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งจะทำได้หัวบอนที่ปราศจากโรค และแมลง สะดวกต่อการผลิตเป็นสินค้าเพื่อการส่งออก หรือแม้จะใช้ประโยชน์ด้านอื่น เช่น การขยายพันธุ์เพื่อให้ได้ปริมาณมากๆ การเก็บรักษาพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์ เป็นต้น (รังสฤษฎ์ 2541)

## มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

### ความมุ่งหมาย และวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาความผันแปรของลักษณะบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนที่ยังมีวนตัวอยู่
2. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำบอนพระยาเสวต ให้เกิดหัวในหลอดทดลอง
3. เพื่อศึกษาสภาพการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของหัวบอนพระยาเสวต ให้เกิดหัวในหลอดทดลอง
4. เพื่อศึกษาขนาดหัวของบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลอง ที่มีขนาดเหมาะสมต่อการนำไปปลูกลงกระถาง
5. เพื่อศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของหัวบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

### ขอบเขตของการศึกษา

1. ศึกษาความผันแปรของลักษณะบอนพระยาเสวตจำนวน 100 ต้น ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนที่ยังมีวนตัวอยู่

2. ศึกษาสูตรอาหาร Murashige และ Skoog, 1962 (MS) ที่ปรับระดับของ น้ำตาลซูโครส สารเร่งการเติบโต (plant growth regulator) N<sup>6</sup>-Benzylaminopurine (BA) และผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) ต่อการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลองของบอนพระยาเสวต
3. ศึกษาผลของสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 4 สภาพ ต่อการเจริญของหัวบอนพระยาเสวต
4. ศึกษาขนาดที่เหมาะสมต่อการนำไปปลูกของหัวของบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการชักนำในหลอดทดลอง
5. ศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของหัวบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปรียบเทียบกับหัวที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัว

#### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงลักษณะความผันแปรที่เกิดขึ้น และเปอร์เซ็นต์การเกิดความผันแปรลักษณะต่างๆ ของบอนพระยาเสวต
2. ทราบถึงระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของ น้ำตาลซูโครส สารเร่งเจริญเติบโต BA และผงถ่านกัมมันต์ในอาหารสูตรต่างๆ ในการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลองของบอนพระยาเสวต
3. ทราบถึงสภาพในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมต่อการเจริญของหัวบอนพระยาเสวต
4. ทราบถึงขนาดที่เหมาะสมต่อการนำไปปลูกของหัวของบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการชักนำในหลอดทดลอง
5. ทราบลักษณะทางกายวิภาคของหัวบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปรียบเทียบกับหัวที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัว

## บทที่ 2

### เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การปลูกเลี้ยงบอนสีได้มีต่อเนื่องกันตลอดมาตั้งแต่สมัยอยุธยาจนถึงประมาณปี พ.ศ. 2470-2475 เป็นช่วงที่บอนสีได้รับความนิยมมากที่สุด มีการผสมพันธุ์บอนสีขึ้นใหม่มากมาย มีสีสันสวยงามแปลกตาต่างไปจากบอนสีดั้งเดิม มีการแลกเปลี่ยนซื้อขายกันอย่างแพร่หลาย มีการตั้งชื่อแยกหมวดหมู่ตามลักษณะ และสีสันของใบออกเป็นกลุ่มๆ เรียกว่า "ดับ" นอกจากนี้ยังมีการจัดประกวดบอนสีที่ "สนามบาร์ไก่อ่าว" อยู่บริเวณถนนดินสอติดกับถนนราชดำเนิน หลังจากปี พ.ศ. 2475 บอนสีก็ค่อยๆ เสื่อมความนิยมลง จนกระทั่งราวปี พ.ศ. 2508 มีผู้ส่งบอนใบยาวจากสหรัฐเข้ามาในประเทศไทย ทำให้มีการผสมพันธุ์บอนสีพันธุ์ใหม่ๆ เพิ่มขึ้นอีก บอนสีกลับมาได้รับความนิยมอีกครั้งราวปี พ.ศ. 2522-2525 มีการจัดตั้ง สมาคมบอนสีแห่งประเทศไทย เพื่อส่งเสริม อนุรักษ์ และพัฒนาการปลูกเลี้ยงบอนสีรวมถึงการรับจดทะเบียนชื่อบอนสีที่ได้รับการผสมขึ้นใหม่ และด้วยความสามารถของคนไทย ปัจจุบันการปลูกเลี้ยงบอนสีได้มีการพัฒนาวิธีการปลูกเลี้ยงและสายพันธุ์ให้มีสีสันสวยงามแปลกตาไปจากเดิมมาก จนอาจกล่าวได้ว่าบอนสี คือบอนของคนไทย (ร้อยแปดพรรณไม้ไทย 2549; พิธาน 2549)

### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

บอนเป็นพืชในวงศ์ Araceae ซึ่งเป็นวงศ์ใหญ่ ประกอบด้วยสกุลต่างๆ ถึง 105 สกุล มากกว่า 3,300 ชนิด (Zipcodezoo.com 2008) กระจายอยู่ทั่วไปในเขตร้อนมีทั้งพวกที่ขึ้นได้บนดิน บางพวกอยู่ในน้ำ และบางพวกก็เลื้อยเกาะต้นไม้ เป็นไม้พุ่ม เป็นพืชที่มีลำต้นใต้ดินมีลักษณะเป็นเหง้า (rhizomatous) หรือหัว (tuber) มีทั้งกลุ่มที่เป็นใบเดี่ยว (simple leaf) และใบประกอบ (compound leaf) เส้นใบเป็นแบบร่างแห (net-veined) ดอกมีลักษณะเป็นแบบช่อเชิงลดมีกาบ (spadix) มีรังไข่เหนือวงกลีบ (hypogynous) มีเพศเดียว (unisexual flower) หรือดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) (Lawrence 1960; Porter 1967) พวกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้แก่ เผือก (*Colocasia esculenta* Schott.) บุก (*Amorphophallus campanulatus* Bl.) ตานีเออร์ (*Xanthosoma sagittifolium* Schott.) นอกจากนี้ยังมีพวกใบประดับ ได้แก่ สกุล *Alocasia*, *Dieffenbachia*,

*Typhonium* และบอน โดยบอนอยู่ในสกุล *Caladium* (Zipcodezoo.com 2008) มีลักษณะดังนี้ (ร้อยแปดพรรณไม้ไทย 2549; บุญนาค 2544)

**1 ต้น** มีลักษณะเป็นพืชหัวคล้ายหัวมันฝรั่งหรือหัวเผือก มีรากฝอยขนาดเล็กแตกออกรอบๆ หัว และที่ใกล้ๆ กับรากหรือระหว่างรากจะมีหน่อเล็กๆ หรือที่เรียกกันว่า เจี้ยว ซึ่งสามารถงอกออกเป็นบอนต้นใหม่ได้

**2 ใบ** ใบบอนเมื่อยังอ่อนอยู่ จะมีลักษณะม้วนตัวซึ่งจะเรียกว่าปติ (unexpanded leaf) เมื่อใบของบอนสีเจริญขึ้นจะมีขนาด และรูปแบบของใบแตกต่างกันออกไปตามชนิดบอน ซึ่งสามารถแบ่งรูปแบบของใบได้ 4 ลักษณะ คือ (รูปที่ 1)

2.1 บอนใบไทย เป็นบอนสีที่มีมาแต่โบราณ มีรูปร่างคล้ายหัวใจ (heart-shaped) หูใบขาว (โคนใบ = leaf base) แต่ไม่ถึงถึงสะดือ ก้านใบอยู่กึ่งกลางใบ (peltate) ปลายใบแหลม (acute) หรือมน (obtuse) ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ บอนใบไทยมักมีใบขนาดใหญ่ สีต้นสวยงาม และใบดกไม่ทิ้งใบ

2.2 บอนใบกลม เป็นบอนที่นับได้ว่าเกิดขึ้นโดยฝีมือคนไทย เกิดขึ้นโดยการผ่าหัวขยายพันธุ์ของบอนใบไทยเมื่อนำมาปลูกเลี้ยงแล้วเกิดผิดแผกไปจากต้นเดิม คือมีลักษณะใบกลม (orbicular) ขึ้นกลายเป็นบอนใบกลม ปลายใบมนสม่ำเสมอ และมีก้านใบอยู่บริเวณกึ่งกลางใบ

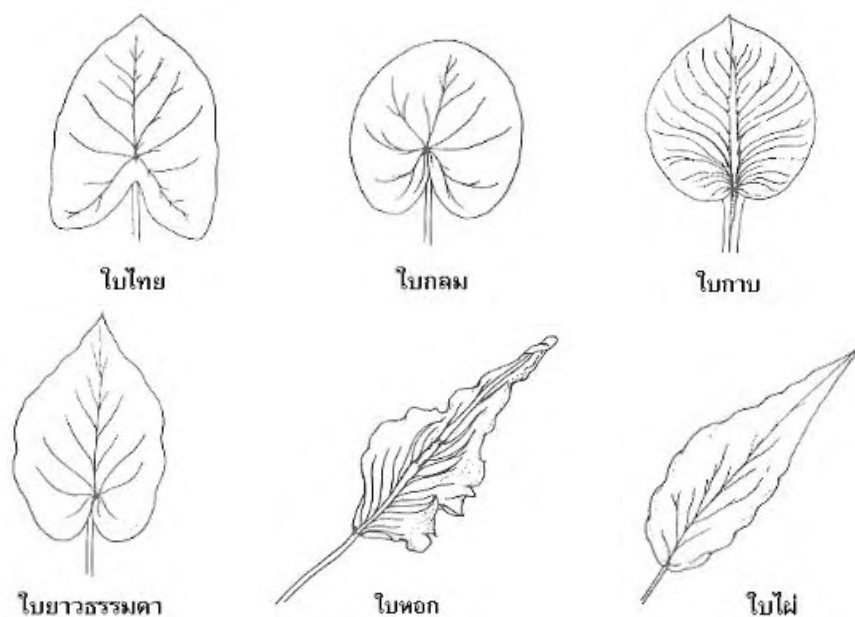
2.3 บอนใบกาบ เป็นบอนที่มีก้านใบแผ่แบนตั้งแต่โคนใบจนถึงคอใบ (sheathing petiole) ลักษณะคล้ายใบผักกาด

2.4 บอนใบยาว ซึ่งแต่เดิมเรียกว่าบอนใบจีน มีรูปใบเรียวยาวหรือป้อม หูใบสั้นกลมถึงถึงสะดือ ก้านใบอยู่ตรงรอยหยักบริเวณโคนใบพอดี บอนใบยาวแบ่งได้ 3 ลักษณะ คือ

2.4.1 ใบยาวธรรมดา เป็นบอนที่มีใบยาว ปลายเรียวแหลม หูใบยาวกลม (cordate) คล้ายใบโพธิ์ บางพันธุ์มีสะโพกกว้าง

2.4.2 ใบยาวรูปหอก เป็นบอนที่มีใบเรียวยาว (lanceolate) ปลายใบเรียวแหลม หูใบสั้นหรือบางพันธุ์ไม่มีหูใบเลย

2.4.3 ใบยาวรูปใบไผ่ เป็นบอนที่มีใบแคบเรียวยาวเป็นเส้น (linear) ปลายใบเรียวแหลม ไม่มีหูใบ มีลักษณะคล้ายใบของต้นไผ่



รูปที่ 1 ภาพแสดงลักษณะใบบอนสี

ที่มา : ภาพแสดงลักษณะใบบอนสี, อ้างถึงใน ร้อยแปดพรรณไม้ไทย. บอนสี [Online].

Accessed 28 กันยายน 2549. Available from <http://www.panmai.com/Caladium/Caladium.htm>.

นอกจากนั้นแล้วสีของใบบอนมีตั้งแต่สีแดง แดงดำ ขาว ชมพู เขียว น้ำตาล ม่วง และเหลือง (เศรษฐมนตร์ 2550)

**3 ดอก** ลักษณะดอกจะคล้ายกับดอกหน้าวัว ช่อดอกจะตั้งตรง ดอกมีลักษณะเป็นแบบช่อเชิงลดมีกาบ แต่มีแกนกลางอวบหนา มีดอกย่อยขนาดเล็กๆ เรียงอัดกันแน่น มักมีใบประดับขนาดใหญ่ หรือกาบ (spathe) ประกบหุ้มอยู่ ดอกเพศผู้ (male flower) อยู่ข้างบน มีเกสรเพศผู้ (stamen) 2 เกสร เชื่อมกัน ส่วนดอกเพศเมีย (female flower) รังไข่มีคาร์เพล (carpel) เดียวคือ ลักษณะรังไข่ที่เปลี่ยนแปลงมาจากคาร์เพลเดี่ยว และมีช่องภายในที่สร้างอวุลเพียงช่องเดียว (unicarpellate ovary) (อารีย์ 2546; Dahlgren และคณะ 1985)

ซึ่งบอนที่นิยมปลูกในประเทศไทย มี 2 ชนิด คือ บอนสี (*Caladium bicolor* Vent.) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีสีแตกต่างกันมากมาย และอีกชนิดหนึ่งคือ บอนพระยาเสวต (*Caladium humboldtii* Schott.) โดยสามารถจัดลำดับอนุกรมวิธานของบอนพระยาเสวตได้ดังนี้ (USDA 2007)

Kingdom Plantae (อาณาจักรพืช)

Subkingdom Viridaplantae (Cavalier-Smith 1981) (พืชสีเขียว) หรือ Tracheobionta (พืชมีระบบท่อลำเลียง)

Superdivision Spermatophyta (พืชมีเมล็ด)

Division	Pteridophyta (พืชมีท่อลำเลียง)
Subdivision	Angiospermae (พืชมีดอก)
Class	Monocotyledoneae (พืชใบเลี้ยงเดี่ยว)
Superorder	Ariflorae
Order	Spathiflorae (Lawrence 1960) หรือ Arales (Porter 1967; Dahlgren และคณะ 1985) (ไม้ล้มลุก หรือ ไม้เลื้อย ดอกกลดรูป)
Family	Araceae (Arum Family)
Subfamily	Colocasioideae (Dahlgren และคณะ 1985) หรือ Aroideae (ARS Systematic Botanists 2006)
Genus	<i>Caladium</i>
Species	<i>Caladium humboldtii</i> (Raf.) Schott.

บองพระยาเสวต เป็นบอนใบไทย ต้นขนาดเล็ก แตกกอง่าย กอแน่นทึบ ใบขนาดเล็กสีเขียว ก้านใบสีน้ำตาลอ่อน กระจุก เส้น เม็ด และพรมมีสีขาว กระจายอยู่ทั่วไป หูใบเว้าไม่ถึงสะดือใบ การออกดอกยังไม่มีรายงาน (รูปที่ 2) (สมาคมบอนสีแห่งประเทศไทย 2540; อุไร 2538; Lawrence 1960; เศรษฐมนตร์ 2550)



รูปที่ 2 แสดงต้นบองพระยาเสวต

คำศัพท์ที่ใช้เรียกส่วนต่างๆ ของบอนสี (เศรษฐมนต์ 2550; ร้อยแปดพรรณไม้ 2549; บุญนาค 2544)

1 กาบ และก้านใบ คือส่วนที่ต่อจากหัวบอน กาบเป็นส่วนโคนของก้านใบ แต่ไม่กลมเหมือนก้านใบ คือมีลักษณะเป็นกาบคล้ายกาบของใบผักกาดเป็นที่พักของใบอ่อน ส่วนก้านใบคือส่วนที่ต่อจากกาบใบขึ้นไปยังใบบอน ที่กาบและก้านใบนี้จะมีลักษณะของสีที่แตกต่างไปจากสีของกาบและใบอย่างเห็นได้ชัด ลักษณะของสีนี้เรียกแตกต่างกันไป ดังนี้

1.1 สะพาน มีลักษณะเป็นเส้นขีดเล็กๆ ยาวจากกาบไปตลอดแนวก้านใบขึ้นไปจรดกอใบ ถ้าอยู่ด้านหน้าเรียกสะพานหน้า ถ้าอยู่ด้านหลังเรียกสะพานหลัง

1.2 เส้น มีลักษณะเป็นจุด เป็นขีด หรือเส้นเล็กๆ สั้นยาวไม่เท่ากันและมีสีต่างกับก้าน กระจายอยู่รอบๆ ก้านใบ

1.3 สาแทรก มีลักษณะเป็นเส้นเล็กๆ บริเวณโคนก้านใบหรือกาบใบ วิ่งจากบริเวณโคนของกาบใบไปตามก้านใบเป็นเส้นสั้นๆ ไม่ยาวเหมือนสะพาน อาจเป็นเส้นเดี่ยว เส้นคู่ หรือหลายเส้นก็ได้

2 แข็ง คือส่วนที่ยื่นออกจากก้านใบ คล้ายใบเล็กๆ อยู่กึ่งกลางก้านหรือต่ำกว่าใบจริง อาจมี 1 หรือ 2 ใบขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และมักพบในบอนสีประเภทใบกาบ

3 กอใบ คือ ช่วงปลายของก้านใบ ไปถึงสะคือใบ

4 สะคือ คือ ส่วนปลายสุดของก้านใบจรดกับกระดูก

5 กระดูก คือ เส้นกลางใบที่ลากจากสะคือไปจนสุดปลายใบ

6 เส้น คือ เส้นใบย่อยที่แยกจากกระดูกหรือเส้นกลางใบ

7 หูใบ คือ ส่วนล่างสุดของใบมีลักษณะคล้ายกลีบเท้าสัตว์ บอนบางต้นหูมันขึ้นบางต้นหูปิด หัวรัด

8 หว่างหู คือ ส่วนของโคนใบที่เว้าเข้ามาหาสะคือใบ

9 เม็ด คือจุดที่เป็นสีแตกต่างจากสีของพื้นใบ อาจมีสีขาวเรียกว่าเม็ดขาว เม็ดที่เกิดบนใบบอนสีมีหลายประเภท เช่น

9.1 เม็ดลอย คือ จุดหรือแต้มสีบนใบ ที่มีสีแตกต่างจากสีพื้นใบอย่างชัดเจน

9.2 เม็ดจม คือ จุดหรือแต้มสีบนใบ ที่มีสีกลมกลืนกับสีพื้นใบ

9.3 เม็ดใหญ่ คือ จุดหรือแต้มสีที่มีขนาดใหญ่กระจายอยู่ทั่วใบ

9.4 เม็ดเล็ก คือ จุดหรือแต้มสีที่มีขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วใบ

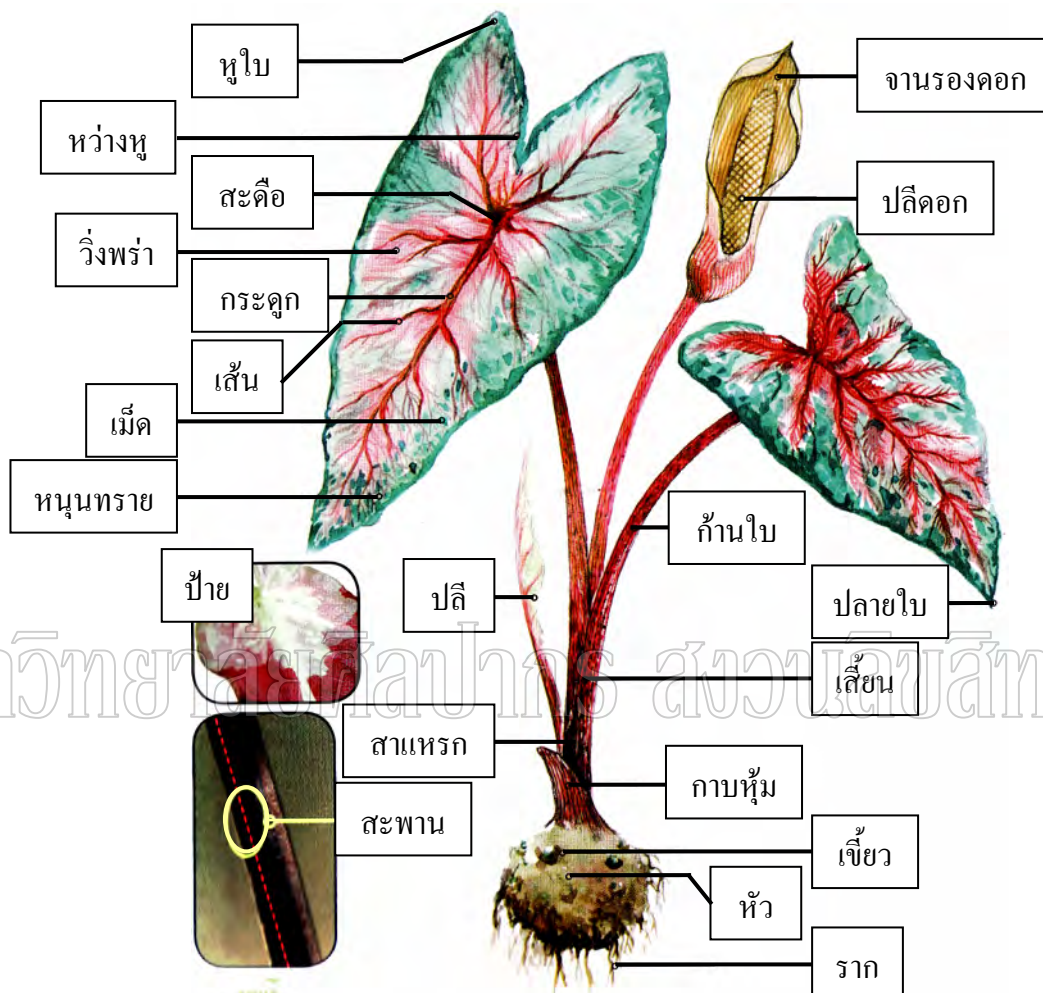
9.5 เม็ดถี่ คือ จุดหรือแต้มสีที่กระจายถี่ๆ อยู่ทั่วใบ

9.6 เม็ดห่าง คือ หรือแต้มสีที่กระจายห่างๆ อยู่ทั่วใบ

10 ป้าย คือ แผ่นสีที่แตกต่างจากสีพื้นที่คาดทับบนใบบอน

11 วังพร้าว คือ สีที่มองเห็นแตกต่างไปจากสีพื้นของใบบริเวณกระดูก

12 หนูนทราย คือ จุดเล็กๆ คล้ายเม็ดทรายมองเห็นได้กลางๆ สีต่างจากพื้นใบ



รูปที่ 3 แผนภาพแสดงองค์ประกอบของต้นบอนสี

ที่มา : แผนภาพแสดงองค์ประกอบของต้นบอนสี, อ้างถึงใน เศรษฐมนตร์ กาญจนกุล. ร้อยพรรณพฤกษา บอนสี. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์เศรษฐศิลป์, 2550. หน้า 14.

**การขยายพันธุ์บอนสี (ร้อยแปดพรรณไม้ไทย 2549; พิضان 2549)**

ในปัจจุบันความต้องการบอนสีมีมากขึ้น ประกอบกับวิทยาการใหม่ๆ ได้ถูกนำมาใช้ในการขยายพันธุ์บอนสี เพื่อให้ทันต่อความต้องการของตลาด และเพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ๆ มากขึ้น การขยายพันธุ์บอนสีสามารถทำได้หลายวิธีคือ

1 การแยกหน่อ เป็นวิธีการขยายพันธุ์บอนสีที่ไม่ยุ่งยากและบอนต้นใหม่ที่ได้อาจจะเหมือนต้นเดิมทุกประการคือไม่มีการกลายพันธุ์ไปจากเดิม แต่ขยายพันธุ์ได้น้อย เนื่องจากหน่อหนึ่งหน่อ

สามารถแยกออกได้ 1 ดัน ถ้าภายในปีนั้นบอนแตกหน่อออกมาเพียงหนึ่งหน่อก็จะได้บอนเพียง 1 ดัน โดยทั่วไปบอนจะเริ่มแตกหน่อเมื่ออายุตั้งแต่ 4 เดือนขึ้นไป การแยกหน่อควรทำในฤดูฝนเพราะเป็นช่วงที่พื้นระยะพัก บอนต้นใหม่ที่แยกจะเติบโตและแข็งแรงได้เร็ว การแยกหน่อมีวิธีปฏิบัติดังนี้

1. เลือกต้นบอนที่สมบูรณ์และมีหน่อแตกใหม่ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วบอนที่มีอายุตั้งแต่ 4 เดือนขึ้นไปจะเริ่มแตกหน่อและผลิใบใหม่ สามารถแยกหน่อไปปลูกใหม่ได้
2. นำต้นบอนมาล้างหัวให้สะอาด อย่าให้ผิวลอกหรือชำเพราะจะทำให้หัวเน่าได้ง่าย
3. ใช้มีดที่คมและสะอาดเฉือนหน่อใหม่ที่ต้องการแยกออกจากหัวเดิม ทาปูนแดงครวยฆ่าเชื้อให้แห้ง
4. นำหน่อที่แยกออกมาปลูกลงในกระถางขนาดเล็ก รดน้ำให้ชุ่ม วางไว้ในที่มีแสงรำไร ประมาณ 2-3 สัปดาห์ ใบใหม่จึงจะเริ่มผลิออกมา

**2 การผ่าหัวบอน** คือการนำหัวบอนมาผ่าแบ่งเป็นชิ้นๆ แล้วนำมาชำในวัสดุชำให้เกิดเป็นต้นใหม่ การผ่าบอนเป็นวิธีที่นิยมทำกันมากเพราะสามารถขยายพันธุ์ได้ต้นบอนจำนวนมากในเวลาอันสั้น แต่การผ่าบอนมักทำให้เกิดการกลายพันธุ์ไปจากต้นเดิม เรียกว่า "บอนผสม" การผ่าบอนควรทำในฤดูฝนเพราะเป็นช่วงที่พื้นระยะพักตัวของบอน ไปแล้วและอากาศมีความชื้นสูง ทำให้ต้นใหม่ที่ได้ผลิใบได้เร็วกว่าฤดูอื่น การผ่าบอนมีวิธีปฏิบัติดังนี้

1. เลือกบอนที่มีอายุไม่แก่หรืออ่อนเกินไป ควรมีอายุประมาณ 6-12 เดือน เพราะถ้าหัวบอนแก่เกินไปชิ้นบอนจะเน่าง่าย ถ้าอ่อนเกินไปต้นใหม่ที่ได้จะไม่แข็งแรง
2. งดให้น้ำประมาณ 2 สัปดาห์ เพื่อให้บอนสร้างหัวและเขี้ยว
3. นำหัวบอนมาล้างให้สะอาด พร้อมทั้งตัดรากออกให้หมด ใช้แปรงเล็กๆ ขัดดินออกให้หมด ระวังอย่าให้เขี้ยวหัก แล้วผึ่งลมให้แห้ง ทำการผ่าหัวบอน การผ่าหัวบอนทำได้สองวิธีคือ

**แบบไม่ล้มต้น** คือการนำหัวบอนมาตัดเฉพาะบริเวณที่มีเขี้ยวติดอยู่และเหลือหัวเดิมไว้ปลูกต่อได้ วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมมากเพราะสามารถเก็บต้นพันธุ์ไว้ได้ การผ่าให้ใช้มีดที่คมและสะอาดกรีดหัวบริเวณที่มีเขี้ยวติดอยู่กว้างยาวประมาณ 1 เซนติเมตร หนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำชิ้นบอนมาล้างให้สะอาดเพื่อนำไปชำต่อไป สำหรับหัวบอนที่เหลืออยู่ติดกับต้นให้ทาบริเวณรอยผ่าด้วยปูนแดง ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำไปปลูกลงกระถางต่อไป

**แบบลิ่มต้น** คือการนำหัวบอนมาตัดลำต้น และใบออกให้หมดแล้วนำหัวบอนมาผ่า วิธีนี้จะไม่เหลือต้นพันธุ์ไว้แต่จะได้ขึ้นบอนสำหรับชำมากกว่า การผ่าให้ใช้มีดที่คมและสะอาดตัดใบออกโดยไม่ให้แกนกลางของหัวที่เรียกว่า "จอม" หัก ผ่าหัวส่วนบนในแนวนอน ให้มีเนื้อหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วแบ่งเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร โดยให้แต่ละชิ้นมีเนื้อแกนกลางของหัวติดอยู่ในลักษณะเดียวกับการตัดแบ่งขนมเล็ก สำหรับหัวบอนส่วนล่างที่เหลือให้นำมาผ่าแบ่งบริเวณที่มีเชื้อติดอยู่เช่นเดียวกับการผ่าแบบไม่ลิ่มต้น นำขึ้นบอนมาล้างให้สะอาดเพื่อนำไปชำต่อไป

4. นำขึ้นบอนที่ได้จากการผ่ามาล้างในน้ำสะอาด หรือน้ำที่ผสมยาป้องกันเชื้อราประมาณ 5 นาที เพื่อล้างยางออกให้หมด ผึ่งให้แห้งพอหมาด
5. นำขึ้นบอนที่ล้างสะอาดแล้วไปชำในภาชนะที่มีวัสดุชำซึ่งอาจใช้ ทราย อิฐมอญทุบละเอียด หรือขี้เถ้ากลบ ใดๆอย่างหนึ่งมาเป็นวัสดุชำ วางขึ้นบอนลงบนวัสดุชำให้ห่างกันพอสมควร จะวางคว่ำหรือหงายก็ได้ กดขึ้นบอนให้จมวัสดุชำเล็กน้อย รดน้ำหรือน้ำผสมยาป้องกันเชื้อราให้ชุ่ม
6. ปิดภาชนะด้วยพลาสติกใสหรือกระดาษดำ นำไปไว้ในที่ร่มแสงส่องไม่ถึง ประมาณ 1-2 สัปดาห์ ขึ้นบอนจะเริ่มแตกหน่อและราก และอีกประมาณ 2 เดือน ขึ้นบอนจะผลิใบ 1-2 ใบ จึงย้ายลงปลูกในกระถางต่อไป

**3 การเพาะเมล็ด** คือการนำเมล็ดที่ได้จากการผสมเกสรมาเพาะให้เกิดต้นใหม่ โดยวิธีผสมเกสรนี้สามารถทำได้โดย

1. ดอกของบอนเป็นดอกสมบูรณ์เพศมีเกสรเพศผู้ และเพศเมียอยู่ในดอกเดียวกัน หลังจากออกดอกแล้วดอกจะเริ่มบานเมื่ออายุ 1 เดือน โดยเกสรเพศเมียจะบานก่อนช่วงหัวค่ำเวลาประมาณ 19.00-20.00 น. ส่วนเกสรเพศผู้จะบานในคืนถัดมาเวลาประมาณ 19.00-21.00 น. สังเกตเห็นผงสีเหลืองอยู่ที่ตอนบนของปลีดอก ใช้พู่กันเขี่ยเกสรเพศผู้เก็บไว้ในตลับทึบแสง และนำเก็บไว้ที่มีด สามารถเก็บได้ 2 สัปดาห์ รอเกสรเพศเมียของต้นแม่พันธุ์บาน
2. เมื่อดอกเกสรเพศเมียบานดอกบอนจะเริ่มมีกลิ่นหอม ให้ใช้มีดคมๆ กรีดที่กาบหุ้มเกสรช่วงล่างให้กว้างพอที่จะสอดเกสรเพศผู้เข้าไป ใช้พู่กันแตะเกสรเพศผู้ในตลับ แล้วสอดผ่านช่องที่กรีดไว้ ไปป้ายกับเกสรเพศเมีย จากนั้นห่อด้วยถุงพลาสติกกันฝน และแมลง ภายใน 1 สัปดาห์ ถ้าดอกเหี่ยวแสดงว่าผสมไม่

ติด แต่ถ้าผสมติดดอกจะเบ่งบานใหญ่ขึ้น จะมีผลบอนสีค้ำเกาะอยู่คล้ายฟัก  
ข้าวโพด แต่ละผลจะมีเมล็ด 1-5 เมล็ด

3. ผลบอนที่ได้จากการผสมเกสร เมื่อบี้นำเมล็ดออกมาแล้วจะต้องนำเมล็ดมาผึ่ง  
ให้แห้งประมาณ 2-3 ชั่วโมง ก่อนนำไปเพาะ ซึ่งเมล็ดบอนที่ได้นี้สามารถเก็บ  
ได้ 7 วัน โดยการเก็บใส่ขวดนำไปแช่เย็น

วิธีนี้นิยมปฏิบัติเมื่อต้องการบอนลูกผสมที่มีลักษณะแตกต่างจากต้นพ่อและต้นแม่ ซึ่งอาจ  
ดีกว่า หรือด้อยกว่าต้นพ่อต้นแม่ก็ได้ วิธีการเพาะเมล็ดมีดังนี้

1. เมื่อเมล็ดแห้งแล้วอาจนำไปเพาะทันทีหรือภายใน 7 วัน โดยการใส่ขวดเก็บไว้ใน  
ในตู้เย็นนำเมล็ดมาโรยบนวัสดุที่ใช้ในการเพาะ ซึ่งอาจใช้ทรายผสมขี้เถ้า  
กลบหรือดินร่วนผสมใบไม้ผุในอัตราส่วนที่เท่าๆ กัน
2. รดน้ำที่ผสมด้วยยาป้องกันเชื้อราแล้วนำไปตั้งไว้ในที่ร่ม รักษาระดับความชื้น  
ไว้อย่าให้แห้ง หรือจะเดินไป ประมาณ 15 วัน เมล็ดจะเริ่มงอกใบเลี้ยง
3. เมื่อดันกล้ามีอายุประมาณ 2 เดือน จึงย้ายลงปลูกในกระถางเพื่อคัดเลือกพันธุ์  
ต่อไป

4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือการนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญของบอนสีมาเลี้ยงบนอาหาร  
สังเคราะห์ ในสภาพที่ปลอดเชื้อ ในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น แสงสว่าง จน  
พัฒนาเป็นกลุ่มของเนื้อเยื่อ และเจริญเป็นต้นบอนสีต้นใหม่ แต่การขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้มักมี  
เปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์สูง (เศรษฐมนตร์ 2550)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วไป นิยมใช้สารเร่งการเติบโต 2 กลุ่มคือ กลุ่ม ออกซิน  
ได้แก่ Indole-3-acetic acid (IAA),  $\alpha$ -Naphthaleneacetic acid (NAA), Indole-3-butyric acid (IBA)  
และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) เป็นต้น มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยึด  
ตัวของเซลล์ และกระตุ้นการเกิดราก การเจริญเติบโตในส่วนต่างๆ ของพืช และสารกลุ่มไซโตไค  
นิน ได้แก่ kinetin และ BA เป็นต้น สารกลุ่มนี้มีผลต่อการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นการเจริญเติบโต  
ทางด้านข้าง ใช้กันมากในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระตุ้นให้ callus สร้างยอด Skoog และ Miller  
(1957) พบว่าการพัฒนาของเนื้อเยื่อไปเป็นยอด หรือรากขึ้นกับความสมดุลของสารเร่งการเติบโต  
สองกลุ่ม คือ ออกซิน และไซโตไคนิน โดยพบว่า ถ้าความเข้มข้นของออกซินสูงเนื้อเยื่อจะพัฒนา  
ไปเป็นแคลลัส และราก แต่ถ้าความเข้มข้นของไซโตไคนิน สูง เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นยอด ถ้าสาร  
ทั้งสองชนิดนี้มีความสมดุลจะพัฒนาไปเป็นยอดและราก

### การขยายพันธุ์บอนสีในหลอดทดลอง

ชุตินา (2526) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสี (*Caladium bicolor* Ait.) โดยใช้ชิ้นส่วนของใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ เลี้ยงบนอาหาร MS พบว่าอาหาร MS สูตรที่เติม 2,4-D กับ kinetin ความเข้มข้นอย่างละ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ที่เติม NAA กับ BA ความเข้มข้นอย่างละ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นให้ใบอ่อนเจริญพัฒนาไปเป็นแคลลัส และพัฒนาต่อไปเป็นต้นได้

นงลักษณ์ (2527) ศึกษาสัณฐานวิทยา และเซลล์วิทยาของบอนสี (*Caladium bicolor* Ait.) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่า บอนสีขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะมีรูปร่างลักษณะแตกต่างจากพันธุ์เดิม เมื่อนำไปศึกษาด้านจำนวนโครโมโซมพบว่ามีความผันแปรทางพันธุกรรมจากเซลล์ที่มีโครโมโซม 2 ชุด (Diploid cells) กลายเป็นเซลล์ที่มีโครโมโซม 4 ชุด (Tetraploid cells)

Mujib และคณะ (2000) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสี *Caladium bicolor* cv. Bleeding Heart โดยใช้ชิ้นส่วนหัวใต้ดิน เลี้ยงในอาหาร MS ที่ใส่สารเร่งการเติบโตชนิดต่างๆ (2,4-D, NAA และ BA) พบว่าสารเร่งการเติบโตความเข้มข้นต่ำๆ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี โดยหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6-7 สัปดาห์จะเริ่มมียอดเกิดขึ้น

Ahmed และคณะ (2002) ได้นำชิ้นส่วนต่างๆ ของบอนสี (*Caladium bicolor* Ait.) พันธุ์ Pink Cloud ได้แก่ ปลายยอดอ่อน ใบอ่อน (ใบที่ 3 และ 4) ใบที่แผ่ไม่เต็มที (ใบที่ 5 และ 6) ใบที่แผ่เต็มที่แล้ว และก้านใบ เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ใช้วิตามินของ Ringe และ Nitsch (1968) ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงทางรูปร่าง และสีของใบบอนสีต้นใหม่ โดยเปอร์เซ็นต์ความแปรผันมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของเนื้อเยื่อ คือ ปลายยอด ใบอ่อน ใบที่ยังแผ่ไม่เต็มที ใบที่แผ่เต็มที่แล้ว และก้านใบ เกิดเปอร์เซ็นต์ความแปรผัน 14, 24, 41, 53 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อนำใบอ่อนของตาข้าง หรือปลายราก บอนสีต้นใหม่ที่ได้มีเปอร์เซ็นต์ความแปรผันน้อย (12-14 เปอร์เซ็นต์) ด้วยเหตุนี้ ชิ้นส่วนพืชที่มาจากเนื้อเยื่อที่ยังเจริญไม่เต็มที่ ที่มีเนื้อเยื่อเจริญ จะทำให้เกิดความแปรผันน้อยกว่าเนื้อเยื่อที่เจริญเต็มที่แล้ว และความแปรผันทางด้านสี และความแตกต่างของรูปร่างของใบ ขึ้นอยู่กับชิ้นส่วนพืช

Ahmed และคณะ (2004) นำชิ้นส่วนใบของบอนสี (*Caladium bicolor* Ait.) พันธุ์ Pink Cloud เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ใช้วิตามินของ Ringe และ Nitsch ที่มีส่วนประกอบของสารเร่งการเติบโตออกซินหลายชนิด ได้แก่ NAA, IBA, IAA, 2,4-D, 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) ร่วมกับสารเร่งการเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน พบว่า NAA ให้ประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากที่สุด และมีความแปรผันของสีใบเพียง 15 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่เติม

NAA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ความแปรผันของสีใบพบได้ในทุกต้นของบอนสีที่เจริญมาจากอาหารที่เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-4.5 ไมโครโมลาร์ และในอาหารที่ปราศจากสารเร่งการเติบโตเกิดความแปรผันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (0.6 เปอร์เซ็นต์) แต่อัตราการเจริญต่ำ ระดับ NAA ระดับความเข้มข้น 0.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4.5 ไมโครโมลาร์ ให้ผลดีที่สุดในการขยายพันธุ์บอนพันธุ์ Pink Cloud โดยเกิดความแปรผันของสีใบเพียงเล็กน้อย

พรเทพ (2547) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสี (*Caladium bicolor* Ait.) พันธุ์ เจ้าหญิง และเทพประทานพร โดยใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่ใช้วิตามินของ Ringe และ Nitsch ที่มี NAA ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งหมด 10 สูตร พบว่าสามารถชักนำบอนสีพันธุ์เจ้าหญิงให้เกิดแคลลัสได้ทุกสูตร และเมื่อนำแคลลัสที่ได้มาย้ายลงในอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าแคลลัสที่มาจากสูตรอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้จำนวนยอดมากกว่า 10 ยอด ใน 1 ชันไบเริ่มต้น ในขณะที่บอนสีพันธุ์เทพประทานพรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหาร MS สูตรที่มีความเข้มข้นของ NAA : BA เป็น 2.0 : 2.0, 0.5 : 4.0, 1.0 : 4.0 และ 4.0 : 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อย้ายแคลลัสลงในอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าแคลลัสที่มาจากสูตรอาหาร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้จำนวนยอดมากที่สุด

Li และคณะ (2005) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสี *Caladium bicolor* cv. Jackie Suthers เพื่อใช้ในการตัดต่ออิน โดยใช้ชิ้นส่วนใบ และก้าน เลี้ยงบนอาหาร MS ซึ่งสูตรที่ดีที่สุดที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ และก้านคือสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และใช้อาหาร MS สูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดยอด โดยสามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้ 68.6 เปอร์เซ็นต์ และย้ายยอดที่ได้ลงอาหาร MS ที่ไม่มีสารเร่งการเติบโตเพื่อชักนำให้เกิดรากก่อนนำไปปลูกลงกระถาง

#### การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลอง

พืชที่ได้รับการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลอง พบว่าพืชนั้นจะมีการเจริญพัฒนาอย่างรวดเร็วเมื่อนำไปปลูก ทั้งนี้การเจริญพัฒนาจะขึ้นอยู่กับขนาดของหัวเป็นสำคัญ โดยหัวที่มีขนาดใหญ่สามารถเจริญพัฒนาอย่างรวดเร็วกว่าหัวที่มีขนาดเล็ก (Gerrits และคณะ 1997) และการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลอง ไม่ว่าจะเป็นหัวแบบ corms (หัวแบบเผือก) bulbs (หัวแบบหอม) หรือ

tubers (หัวแบบมันฝรั่ง) ล้วนแต่มีประโยชน์ต่อการเก็บรักษา การแพร่กระจาย และขนส่ง พืชนั้นๆ โดยพืชที่ได้รับการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลองเมื่อนำลงปลูกจะมีการเจริญพัฒนาลักษณะคล้ายกับการเจริญของเมล็ด (Wang และ Hu 1982; Estrada และคณะ 1986; Ng 1988) ในการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ลิลลี่โดยการผลิตหัวย่อยในหลอดทดลองพบว่า หลังจากทำ cold treatment (เก็บไว้ อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน) แล้วนำหัวไปเพาะทำให้หัวมีการเจริญได้อย่างรวดเร็ว (Han และคณะ 2005) ปัจจัยที่สำคัญในการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลองคือ สารเร่งการเติบโตของพืช ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส อุณหภูมิ แสง และชั้นเนื้อเยื่อนำมาทำการเพาะเลี้ยง (Slabbert และ Niederwieser 1999; Omokolo และคณะ 2003)

Hosoki และ Asahira (1980) ได้ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส และสารเร่งการเติบโตที่มีต่อการเกิดหัว และรากของ *Narcissus* พันธุ์ *Geranium* หลังจากเลี้ยงนาน 2 เดือน พบว่าการเลี้ยงบนอาหารที่มีระดับของความเข้มข้นน้ำตาลเป็น 20, 40 และ 80 กรัมต่อลิตร โดยไม่เติมสารเร่งการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดหัวย่อยได้ในทุกระดับความเข้มข้นของน้ำตาล แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ส่วนที่ระดับน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดหัวย่อยและรากได้ ที่ระดับน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำให้เกิดหัวย่อย และใบได้

Kim และคณะ (1981) ทำการผลิตหัวย่อยได้จำนวนมาก จากตาออกของไฮยาซินท์ (*Hyacinthus orientalis*) พันธุ์ Anna Marie และ Deft Blue เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำหัวย่อยมาเลี้ยงในอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้ โดยหัวย่อยมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เจริญเติบโตได้ดีเมื่อย้ายลงแปลงปลูก

Yamamoto และ Matsumoto (1992) ทำการผลิตหัวเผือก (*Colocasia esculenta* Schott.) พันธุ์ Ishikawa ในหลอดทดลองพบว่าเมื่อเลี้ยงต้นเผือกขนาดเล็กในอาหารเหลว MS สูตรที่มีน้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 30 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที 16 ชั่วโมงต่อวัน จะได้หัวเผือกขนาด 1 กรัมใน 40 วัน

Hauser และ Horn (1992) ศึกษาการเพาะเลี้ยงหัว (corm) ของ *Sparaxis* ในหลอดทดลอง พบว่าอุณหภูมิ และน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่อการสร้างหัวของ *Sparaxis* โดยน้ำตาลซูโครส 100 กรัมต่อลิตร และเลี้ยงที่อุณหภูมิ 12-16 องศาเซลเซียส ทำให้ *Sparaxis* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดหัวสูงที่สุด

วิลัดักษณ์ และฐิติมา (2538) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนลำต้น ก้านช่อดอกอ่อน และดอกอ่อน ของว่านแสงอาทิตย์ ในอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงโดยใช้วิตามินของ Ringe และ Nitsch ที่มีสารเร่งการเติบโต BA, IBA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันพบว่า ชิ้นส่วนลำต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเจริญพัฒนาให้ยอดแขนงใหม่มากที่สุดถึง 15.5 ยอดต่อชิ้น หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 98 วัน ส่วนก้านช่อดอกอ่อน หลังการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 120 วัน จะสามารถพัฒนายอดแขนงได้สูงสุดคือ 14.3 ยอดต่อชิ้น เนื้อเยื่อช่อดอกอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารทุกสูตรไม่มีการพัฒนาไปเป็นยอดแขนง

Iglesias และคณะ (1999) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิ แสง และสารเร่งการเติบโตของพืชในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Hyacinthoides paivae* พบว่าเมื่อเลี้ยง *H. paivae* บนอาหารสูตรที่มี BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ให้เปอร์เซ็นต์ต่อการสร้างหัวมากที่สุด

Kim และคณะ (2003) ทำการทดลองผลิตหัวกระเทียม (*Allium sativum* L.) ในหลอดทดลอง โดยเริ่มจากการเพิ่มจำนวนยอด และแยกเป็นยอดเดี่ยวๆ ย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรที่เพิ่ม *jusmonic acid*, *giberellic acid* และปรับระดับของน้ำตาลซูโครส พบว่าอาหารสูตรที่มี *jusmonic acid* ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เนื้อเยื่อพัฒนาเป็นหัวสูงที่สุด (77.6 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อเพิ่มน้ำตาลซูโครสเป็น 120 กรัมต่อลิตร ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดหัวเพิ่มขึ้นเป็น 96 เปอร์เซ็นต์

Lian และคณะ (2003) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญของลิลลี่ *Lilium Oriental Hybrid* 'Casablanca' ในอาหาร MS ในระบบ bioreactor ที่ปรับความระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส เป็น 30, 60 และ 90 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อปริมาณน้ำตาลซูโครสสูงขึ้นจะทำให้เกิดหัวย่อยที่มีขนาดใหญ่มากกว่าที่ระดับน้ำตาลซูโครสต่างๆ และเมื่อทำการผสม *manitol* กับน้ำตาลซูโครสลงในอาหาร พบว่า มีหัวย่อยขนาดเล็กเกิดขึ้นมากกว่าในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเพียงอย่างเดียว

Omokolo และคณะ (2003) ชักนำ *cocoyam* (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) cv. White ให้เกิดหัวในหลอดทดลอง โดยใช้อาหารสูตร MS ที่มี BA น้ำตาลซูโครส และ ช่วงแสงต่างๆ พบว่า สามารถชักนำ *cocoyam* ให้เกิดหัวมากที่สุด (83%) ในอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ และน้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร ที่ได้รับแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 10 วัน และ เก็บในที่มืด 50 วัน โดยน้ำหนักสดที่ได้เฉลี่ยประมาณ 0.9 กรัม

Han และคณะ (2004) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลิลลี่ *Lilium longiflorum* 'Georgia' ในอาหาร *Phytogel-solidified MS medium* และทำการเติมอาหารเหลวแทนการเปลี่ยนอาหารใหม่ ซึ่ง

พบว่า การเติมผงถ่านกัมมันต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงมีทำให้มีจำนวนห้วย่อยมากกว่าที่ไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์อย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อได้ทำการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 30, 100, 150, 200, 250 และ 300 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารเหลวพบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ส่งผลให้จำนวนห้วย่อยที่เกิดขึ้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อแตกต่างกันในทางสถิติ แต่พบว่า น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 250 กรัมต่อลิตร ให้ผลต่อการเพิ่มขนาดของห้วย่อยมากที่สุด

Han และคณะ (2005) นำยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกลีบหัวของ ลิลลี่พันธุ์ Casablanca เลี้ยงบนอาหาร MS สูตรที่ปรับระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส (3, 6, 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์) และ ผงถ่านกัมมันต์ (1.0, 2.0, 3.0, 5.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร) พบว่า อาหาร MS สูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส 6 เปอร์เซ็นต์ และผงถ่านกัมมันต์ 2.0 กรัมต่อลิตร มีผลต่อการเจริญของหัวลิลลี่มากที่สุด

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

### บทที่ 3

## อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

### อุปกรณ์ และสารเคมี

#### 1. พืชทดลอง

ต้นบอนพระยาเสวต (*Caladium humboldtii* Schott. cv. Phraya Savet) โดยใช้ชิ้นส่วนใบอ่อนที่ยังมีวนตัว (รูปที่ 4B)



รูปที่ 4 แสดงใบของบอนพระยาเสวต A) ใบบอนพระยาเสวตที่กลีงเต็มที่แล้ว B) ใบบอนพระยาเสวตที่ยังมีวนตัว

#### 2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

##### 2.1 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของอาหารสูตรสังเคราะห์

- MS (Murashige and Skoog 1962)
- Ringe and Nitsch (Ringe and Nitsch 1968)
- Agar Powder (CRITERION Dehydrated Culture Media Agar, Hardy Diagnostics, USA)
- น้ำตาลซูโครส (sucrose)

## 2.2 สารเร่งการเติบโต

- N<sup>6</sup>-benzyladenine (BA)
- $\alpha$ - naphthalene acetic acid (NAA)

## 3 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ

- แอลกอฮอล์ (70% ethyl alcohol)
- คลอโรกซ์ [Clorox (5.25% NaOCl)]
- ทวิน 20 (Tween 20)

## 4 อุปกรณ์ และวัสดุ

### 4.1 อุปกรณ์ และวัสดุสำหรับการเตรียมอาหาร

- หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
- เครื่องชั่งแบบละเอียด และแบบหยาบ (balance)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- เตาไฟฟ้า (hot plate)
- ตู้อบไมโครเวฟ (microwave)
- ช้อนตักสารเคมี (spoon)
- บีกเกอร์ขนาดต่างๆ (beaker)
- ขวดแก้วรูปชมพู่ขนาดต่างๆ (flask)
- ขวดใส่อาหารขนาด 4 ออนซ์ และ 8 ออนซ์
- แท่งแก้ว (stiring rod)
- กระจกตวง (graduated cylinder)
- ไมโครปิเปตต์ (micropipettes)

### 4.2 อุปกรณ์ และวัสดุสำหรับตัดถ่ายเนื้อเยื่อ

- ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อพีช (lamina air flow)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- จานแก้ว (plate)
- เครื่องมือผ่าตัด : คีมมีด (เบอร์ 3 และเบอร์ 4) ไม้มีด (เบอร์ 11 และเบอร์ 24) และ ปากคีบ (forceps)
- ขวดแช่เครื่องมือ
- ขวดรูปชมพู่ขนาดต่างๆ

#### 4.3 อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยง

- เครื่องเขย่า (shaker)
- ชั้นไฟ

#### 4.4 วัสดุ และอุปกรณ์สำหรับปลูกบอน

- กระจกพลาสติกขนาด 3 และ 4 นิ้ว
- หินภูเขาไฟ (pumice)

#### 4.5 วัสดุ และอุปกรณ์เก็บผลการทดลอง

- กล้องถ่ายรูป
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light Binocular Microscope)
- เวอร์เนีย (vernier caliper)
- เครื่องชั่งละเอียด
- จานแก้ว
- ไม้บรรทัด

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

## วิธีการทดลอง

**การทดลองที่ 1 ศึกษาความผันแปรของต้นบอนพระยาเสวตที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

นำส่วนใบอ่อนที่ยังมีน้ำตาล และก้านใบของบอนพระยาเสวตมาล้างให้สะอาด แช่วใน แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 30 วินาที จากนั้นแช่ในน้ำสะอาด 20 นาที นำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ 3 เปอร์เซ็นต์ ที่ประกอบด้วย ทวิน-20 (Tween-20) 1-2 หยด เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำชิ้นส่วนใบที่ฆ่าเชื้อแล้วตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5x0.5 ตารางเซนติเมตร หรือชิ้นส่วนก้านใบให้มีความยาว 0.5 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีธาตุอาหารรอง และวิตามินของอาหารสูตร Ringe and Nitsch (1968) โดยใส่สารเร่งการเติบโต 2 ชนิด คือ NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมลาร์ และ BA ความเข้มข้น 17.76 ไมโครโมลาร์ น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ู้น (Agar Powder (CRITERION Dehydrated Culture Media Agar, Hardy Diagnostics, USA)) 5.8 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเป็น 5.7 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 12 สัปดาห์ เมื่อมีแคลลัสเกิดขึ้น ให้เปลี่ยนอาหารทุก 6 สัปดาห์ จนได้ยอดจำนวนมาก

แยกยอดจำนวน 10 ยอด (clone) มาชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากบนสูตรอาหารดัดแปลงของ MS ที่มีสารเร่งการเติบโต BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และ Agar 5.8 กรัมต่อลิตร ที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.7 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ย้ายยอดที่ได้ลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารเร่งการเติบโตเพื่อชักนำให้เกิดราก เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นแยกปลูก clone ละ 10 ต้น ลงในกระถางพลาสติกโดยใช้หินภูเขาไฟ (pumice) เป็นวัสดุปลูก ดูแลรักษาโดยการรดน้ำเช้า และเย็น ใส่ปุ๋ยออสโมโค้ท (Osmocote) สูตร 16-16-16 ทุก 3 เดือน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 เดือนในเรือนกระจกที่มีอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส

บันทึกลักษณะเปรียบเทียบกับต้นแม่ โดยบันทึก รูปร่างของใบ รูปร่างปลายใบ ขนาดของใบ รูปร่างฐานใบ การติดของก้านใบ สีของใบ สีของเส้นใบ การเชื่อมกันของเส้นใบ สีของก้านใบ พร่าบนใบ

## การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิด

### หัวของบอนพระยาเสวต

นำส่วนใบอ่อนที่ยังมีน้ำตาล และก้านของบอนพันธุ์พระยาเสวตมาล้างให้สะอาด แช่ใน แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 30 วินาที จากนั้นแช่ในน้ำสะอาด 20 นาที นำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ 3 เปอร์เซ็นต์ ที่ประกอบด้วย ทวิน-20 (Tween-20) 1-2 หยด เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำชิ้นส่วนใบที่ฆ่าเชื้อแล้วตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5x0.5 ตารางเซนติเมตร หรือชิ้นส่วนก้านใบให้มีความยาว 0.5 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีธาตุอาหารรอง และวิตามินของอาหารสูตร Ringe and Nitsch (1968) โดยใส่สารเร่งการเติบโต 2 ชนิด คือ NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมลาร์ และ BA ความเข้มข้น 17.76 ไมโครโมลาร์ น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ฟู้น (Agar Powder (CRITERION Dehydrated Culture Media Agar, Hardy Diagnostics, USA)) 5.8 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเป็น 5.7 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 12 สัปดาห์ เมื่อมีแคลลัสเกิดขึ้น ให้เปลี่ยนอาหารทุก 6 สัปดาห์ จนได้ยอดจำนวนมาก นำยอดที่มีใบ 2-3 ใบ ความยาวของยอดประมาณ 2 เซนติเมตร มาใช้เป็นส่วนเริ่มต้นในการทดลอง

นำยอดเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 20, 40, 60, 80, และ 100 กรัมต่อลิตร โดยทำการทดลองแบ่งเป็นสองกลุ่มโดยกลุ่มหนึ่งใส่ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร อีกกลุ่มไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ เติม Agar 5.8 กรัมต่อลิตร และปรับระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเป็น 5.7 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ

เก็บผลการทดลองโดยการนับจำนวนยอด จำนวนราก จำนวนใบทั้งหมด จำนวนใบที่มีสีเขียว น้ำหนักสดของหัว และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัว วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p = 0.05$ )

### การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของปริมาณ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของ

#### บอนพระยาเสวต

นำยอดที่มีใบ 2-3 ใบ ความยาวของยอดประมาณ 2 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ใส่สารเร่งการเติบโต BA ความเข้มข้น 10, 20, 25, 30 และ 35 ไมโครโมลาร์ แบ่งเป็นสองกลุ่ม โดยการทดลองกลุ่มที่หนึ่งใส่ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร อีกกลุ่มไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ เดิม Agar 5.8 กรัมต่อลิตร และปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเป็น 5.7 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ

เก็บผลการทดลองโดยการนับจำนวนยอด จำนวนราก จำนวนใบทั้งหมด จำนวนใบที่มีสีเขียว น้ำหนักสดของหัว และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัว วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p = 0.05$ )

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

#### การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต

นำยอดที่มีใบ 2-3 ใบ ความยาวของยอดประมาณ 2 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 2 ระดับโดยเลือกจากการทดลองที่ 2.2 ที่ให้ผลที่ดีที่สุดต่อการเจริญของหัว คือน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 60 และ 80 กรัมต่อลิตร เติบสารเร่งการเติบโต BA เป็น 3 ระดับ โดยเลือกจากการทดลองที่ 2.3 ที่ให้ผลที่ดีที่สุดต่อการเจริญของหัว คือ BA ความเข้มข้น 10, 20 และ 25 ไมโครโมลาร์ แบ่งการทดลองเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่หนึ่งใส่ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร อีกกลุ่มไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ เติบ Agar 5.8 กรัมต่อลิตร และปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเป็น 5.7 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ

เก็บผลการทดลองโดยการนับจำนวนยอด จำนวนราก จำนวนใบทั้งหมด จำนวนใบที่มีสีเขียว น้ำหนักสดของหัว และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัว วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p = 0.05$ )

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

### การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของสภาพของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอน

#### พระยาเสวต

นำยอดที่มีใบ 2-3 ใบ ความยาวของยอดประมาณ 2 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาล และสารเร่งการเติบโต BA ที่ให้ผลที่ดีที่สุดต่อการเจริญของหัว จากการทดลองที่ 4.2 คือน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ เตรียมในอาหาร MS 4 ลักษณะคือ อาหารแข็ง (เติม Agar 5.8 กรัมต่อลิตร) อาหารกึ่งแข็ง (เติม Agar 2.9 กรัมต่อลิตร) และอาหารเหลว (ไม่เติม Agar) สภาพนิ่ง และอาหารเหลวสภาพเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเป็น 5.7 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ

เก็บผลการทดลองโดยการนับจำนวนยอด จำนวนราก จำนวนใบทั้งหมด จำนวนใบที่มีสีเขียว น้ำหนักสดของหัว และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัว วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p = 0.05$ )

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

**การทดลองที่ 6 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กับ ระยะเวลาการเก็บรักษา ต่อการเจริญของหัวเมื่อนำออกปลูก**

เพิ่มจำนวนหัวบอนพระยาเสวตในสูตรอาหาร และสภาพของอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดหัวบอน จากการทดลองที่ 2.5 คืออาหารเหลวสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร สารเร่งการเติบโต BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ เพาะเลี้ยงในสภาพเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 สัปดาห์ นำหัวออกมาล้างทำความสะอาด คัดขนาดของหัวออกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มแบ่งเป็น 3 ชุด ชุดละ 15 ต้น ชุดที่หนึ่งนำไปปลูกลงกระถางทันที ชุดที่ 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงนำลงปลูกในกระถาง และชุดที่ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จึงนำลงปลูกในกระถาง บอนทุกกระถางเลี้ยงในเรือนกระจก ที่มีอุณหภูมิ  $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

เก็บผลการทดลองโดยหาเปอร์เซ็นต์การงอก จำนวนเฉลี่ยของใบ การเกิดสีของใบ และขนาดของใบเฉลี่ย วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p = 0.05$ )

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

### การทดลองที่ 7 ศึกษากายวิภาคของหัวที่ได้จากสภาพการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

นำเนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสภาวะต่างๆ ดังนี้ แคลลัส หัวบอนที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัว หัวบอนที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง บอนที่เลี้ยงในอาหารแข็งที่ผสมผงถ่านกับมันต์ อาหารกึ่งแข็ง และในอาหารเหลวไม่เข่า ตัดเป็นแผ่นบางๆ แล้วย้อมแคลลัสด้วย ไอโอดีน (I<sub>2</sub>) และ Safranin O ย้อมชิ้นส่วนของหัวบอนด้วยไอโอดีน จากนั้นนำไปศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light Binocular Microscope)

เก็บผลโดย สังเกตลักษณะการเรียงตัวของเนื้อเยื่อชั้นต่าง และถ่ายรูป

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### การทดลองที่ 1 การศึกษาความผันแปรของต้นบอนพระยาเสวตที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ศึกษาความผันแปรของบอนพระยาเสวตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำใบอ่อนที่ยังม้วนคิ้วอยู่มาเลี้ยงบนอาหารสูตรปรับปรุงจากอาหารสูตร MS ที่ใช้ธาตุอาหารรองจากอาหารสูตร Ringe and Nitsch โดยใส่สารเร่งการเติบโต 2 ชนิด คือ NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมลาร์ BA ความเข้มข้น 17.76 ไมโครโมลาร์ และน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เริ่มมีแคลลัสเกิดขึ้น จากนั้นเปลี่ยนอาหารทุก 6 สัปดาห์ ในอาหารสูตรเดิม หลังจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ามียอดเกิดขึ้น เมื่อยอดเจริญจนมีความยาวประมาณ 2-2.5 เซนติเมตร จึงย้ายยอดที่ได้เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ เพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก หลังการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนยอดเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จึงทำการย้ายยอดไปเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรที่ไม่เติมสารเร่งการเติบโตเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดราก

นำยอดที่มีรากแล้วย้ายลงปลูกในกระถาง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 เดือนพบว่า ยอดมีการเจริญแตกออกเป็นพุ่ม สีของใบ และลักษณะของใบปรากฏชัดเจน สามารถแยกออกได้เป็น 6 กลุ่ม ดังตารางที่ 1 คือ

กลุ่มที่ 1 ลักษณะเป็นบอนใบไทย ใบมีสีเขามากกว่าสีเขียว การติดของก้านใบเป็นแบบติดใต้ใบ (petate) โคนใบจักไม่ถึงสะดือใบ ปลายใบมีติ่งแหลม (mucronate) สีของก้านใบ และสีของเส้นใบเป็นสีเขียวอ่อน พื้นใบเป็นสีเขียว พรว้า และจุดบนใบเป็นสีขาว โดยพบบอนที่มีลักษณะเช่นนี้ 25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1; รูปที่ 5B)

กลุ่มที่ 2 ลักษณะใบเป็นบอนใบกลม ใบมีสีเขามากกว่าสีเขียว ส่วนลักษณะอื่นๆ เหมือนกับกลุ่มที่ 1 ซึ่งพบบอนลักษณะนี้ 10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1; รูปที่ 5C)

กลุ่มที่ 3 ลักษณะเหมือนต้นแม่พันธุ์ (รูปที่ 5A) คือมีลักษณะเป็นบอนใบไทย ใบมีสีเขามากกว่าสีเขียว ลักษณะอื่นๆ เหมือนกับกลุ่มที่ 1 พบบอนลักษณะนี้ 48 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1; รูปที่ 5D)

กลุ่มที่ 4 ลักษณะเป็นบอนใบกลม ใบมีสีเขียวเท่ากับสีเขียว ลักษณะอื่นๆ เหมือนกับกลุ่มที่ 1 พบบอนลักษณะนี้ 8 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1; รูปที่ 5E) กลุ่มที่ 5 ลักษณะเป็นบอนใบไทย ใบมีสีเขียวน้อยกว่าสีเขียว ในลักษณะอื่นๆ เหมือนกับกลุ่มที่ 1 พบบอนกลุ่มนี้ 7 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1; รูปที่ 5F)

กลุ่มที่ 6 ลักษณะเป็นบอนใบกลม ใบมีสีเขียวน้อยกว่าสีเขียว ลักษณะอื่นๆ เหมือนกับกลุ่มที่ 1 พบบอนกลุ่มนี้ 2 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1; รูปที่ 5G)

จากการจัดกลุ่มโดยอาศัยลักษณะของใบ และสีใบทำให้ทราบว่ามียอบที่มีลักษณะเหมือนแม่พันธุ์ 48 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการวัดอัตราส่วนของใบแล้วจะพบว่าบอนที่มีลักษณะเหมือน หรือใกล้เคียงแม่พันธุ์มี 10 เปอร์เซ็นต์ (สีขามีปริมาณเท่ากับสีเขียว และมีอัตราส่วนระหว่าง ความกว้าง ความยาว และความยาวของการฉีกของหูใบ เป็น 6 : 3 : 1 ตามลำดับ) บอนที่มีลักษณะไม่เหมือนกับต้นแม่พันธุ์นอกจากสีของใบแล้ว จะมีความยาวของการฉีกของหูใบน้อยกว่าแม่พันธุ์ เมื่อคำนวณเป็นอัตราส่วนเปรียบเทียบกับขนาดทั้งความกว้าง และความยาวของใบแล้วจึงแตกต่างจากแม่พันธุ์ (ตารางที่ 2)

# มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



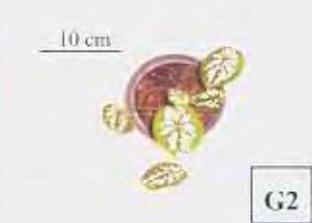
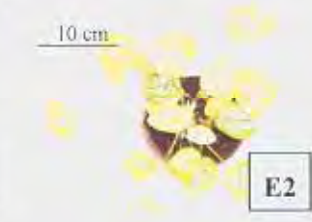
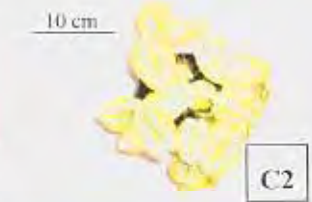
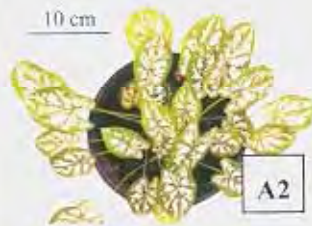
ตารางที่ 2 ความดันแปรของบองพระยาเสวศที่ ได้จากการขยายพันธุ์ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังย้ายไปปลูกในกระถางเป็นเวลา 8 เดือน แบ่งกลุ่มจากอัตราส่วนของใบและสีของใบ

กลุ่มที่	อัตรา สีเขียว:ขาว	อัตราระหว่าง*			การดันแปร (เปอร์เซ็นต์)
		ความกว้าง	ความยาว	ความลึกหูใบ	
ต้นแม่	ขาว=เขียว	3	6	1	-
1	ขาว=เขียว	3-5	6-8	1	10
2	ขาว>เขียว	3-5	6-8	1	3
3	ขาว<เขียว	3-5	6-8	1	1
4	ขาว=เขียว	3-5	9-11	1	5
5	ขาว>เขียว	3-5	9-11	1	2
6	ขาว<เขียว	3-5	9-11	1	1
7	ขาว=เขียว	6-10	9-13	1	26
8	ขาว>เขียว	6-10	9-13	1	16
9	ขาว<เขียว	6-10	9-13	1	2
10	ขาว=เขียว	6-10	14-18	1	4
11	ขาว>เขียว	6-10	14-18	1	4
12	ขาว<เขียว	6-10	14-18	1	3
13	ขาว=เขียว	11-15	14-18	1	3
14	ขาว>เขียว	11-15	14-18	1	4
16	ขาว=เขียว	11-15	19-23	1	3
17	ขาว>เขียว	11-15	19-23	1	1
18	ขาว<เขียว	11-15	19-23	1	1
19	ขาว=เขียว	16-20	19-23	1	1
20	ขาว>เขียว	16-20	19-23	1	3
21	ขาว=เขียว	16-20	24-28	1	3
22	ขาว<เขียว	16-20	24-28	1	1
23	ขาว=เขียว	16-20	29-33	1	1
24	ขาว<เขียว	21-25	24-28	1	1
25	ขาว>เขียว	21-25	29-33	1	1

\* ตัวเลขจาก 100 ต้น ต้นละ 5 ใบ คัดเปรียบเทียบกับความลึกของหูใบ โดยให้ความลึกของหูใบเท่ากับ 1

รูปที่ 5 แสดงผลความผันแปรของบอนพระยาเสวตที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และนำไปปลูกลงกระถางเป็นระยะเวลา 8 เดือน แบ่งกลุ่มตามลักษณะของใบ

- |            |   |
|------------|---|
| A1, A2, A3 | บอนพระยาเสวตต้นแม่พันธุ์ดั้งเดิม  |
| B1, B2, B3 | บอนพระยาเสวตจากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีลักษณะเป็นบอนใบไทย ใบมีสีเขียวมากกว่าสีเขียว   |
| C1, C2, C3 | บอนพระยาเสวตจากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีลักษณะเป็นบอนใบกลม ใบมีสีเขียวมากกว่าสีเขียว   |
| D1, D2, D3 | บอนพระยาเสวตจากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีลักษณะเป็นบอนใบไทย ใบมีสีเขียวเท่ากับสีเขียว   |
| E1, E2, E3 | บอนพระยาเสวตจากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีลักษณะเป็นบอนใบกลม ใบมีสีเขียวเท่ากับสีเขียว   |
| F1, F2, F3 | บอนพระยาเสวตจากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีลักษณะเป็นบอนใบไทย ใบมีสีเขื่อนน้อยกว่าสีเขียว |
| G1, G2, G3 | บอนพระยาเสวตจากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีลักษณะเป็นบอนใบกลม ใบมีสีเขื่อนน้อยกว่าสีเขียว |



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

## การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบองพระยาเสวต

เมื่อนำยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (รูปที่ 6A และ 6G) เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 20-100 กรัมต่อลิตร แบ่งเป็นกลุ่มที่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ และไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่ายอดมีการเติบโตมากขึ้น ส่วนโคนมีการเจริญเป็นหัวบองขนาดเล็ก พบการเจริญในด้านการเพิ่มน้ำหนักอย่างมากสำหรับกลุ่มที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 60-100 กรัมต่อลิตร ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 5.0 กรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดของหัวบอง 108.4-198.7 มิลลิกรัมต่อหัว และเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวบอง 4.60-5.95 มิลลิเมตรต่อหัว (ตารางที่ 3 รูปที่ 6J, 6K, และ 6L) โดยอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร ให้ผลที่ดีที่สุด คือให้น้ำหนักสดเฉลี่ยของหัวบอง 198.7 มิลลิกรัมต่อหัว และเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 5.95 มิลลิเมตรต่อหัว (รูปที่ 6K) ส่วนอาหารสูตรอื่นๆ ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยของหัวอยู่ในช่วง 27.3-45.9 มิลลิกรัมต่อหัว และเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของหัวอยู่ในช่วง 2.75-3.61 มิลลิเมตรต่อหัว

จำนวนยอดที่เกิดขึ้นในอาหารแต่ละสูตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีจำนวนยอดอยู่ระหว่าง 1.6-2.0 ยอดต่อยอดเริ่มต้น การเกิดจำนวนใบทั้งหมดลดลงตามความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เพิ่มขึ้น ทั้งในอาหารที่เติม และไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ แต่ในอาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์มีจำนวนใบสีเขียวเฉลี่ย (2.0-3.3 ใบต่อยอดเริ่มต้น) มากกว่าในอาหารที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ (0.8-2.3 ใบต่อยอดเริ่มต้น) (ตารางที่ 3; รูปที่ 6B, 6C, 6D, 6E, 6F, 6H, 6I, 6J, 6K และ 6L)

การเจริญของรากพบว่า รากเกิดมากในกลุ่มที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครสอยู่ในช่วง 40-80 กรัมต่อลิตร ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 5.0 กรัมต่อลิตร เกิดจำนวนรากเฉลี่ย 11.2-15.4 รากต่อยอดเริ่มต้น โดยเกิดจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 15.4 รากต่อยอดเริ่มต้น (รูปที่ 6K) ในอาหาร MS ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 5.0 กรัมต่อลิตร สำหรับยอดเริ่มต้นที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์พบว่า จำนวนรากเฉลี่ยเกิดมากในกลุ่มที่ได้รับน้ำตาลซูโครส 20-60 กรัมต่อลิตร (7.2-8.5 รากต่อยอดเริ่มต้น) และเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสเป็น 80-100 กรัมต่อลิตร เกิดจำนวนรากเฉลี่ยลดลง ในช่วง 2.7-3.5 รากต่อยอดเริ่มต้น (รูปที่ 6E และ 6F)

จากการทดลองพบว่าที่ระดับน้ำตาลซูโครส 60 และ 80 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการใส่ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด ในการชักนำให้เกิดหิว ดังนั้นจึงเลือกน้ำตาลที่ระดับ 60 และ 80 กรัมต่อลิตร ใช้ในการทดลองต่อไป

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 3 ผลของน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ในอาหาร MS ต่อการเกิดหิ้งของใบนพรระยะสาวต จากยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

อาหาร MS	ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตและการพัฒนาของยอด*							
	ถ่านกัมมันต์ (กรัม/ลิตร)	ซูโครส (กรัม/ลิตร)	จำนวนยอดที่		จำนวนใบ		น้ำหนักสดของหัว (มก./หัว)	เส้นผ่าศูนย์กลางของหัว (มม./หัว)
			เกิดขึ้น	เกิดซ้ำ	ใบทั้งหมด	ใบสีเขียว		
0	20	1.6 ± 0.2 a	7.9 ± 0.8 c	5.6 ± 0.3 a	1.8 ± 0.2 cd	30.7 ± 1.0 c	2.75 ± 0.12 d	
	40	1.6 ± 0.2 a	8.5 ± 0.7 c	4.4 ± 0.5 abc	2.3 ± 0.2 bc	37.3 ± 2.3 c	3.28 ± 0.12 cd	
	60	1.7 ± 0.2 a	7.2 ± 1.3 c	3.7 ± 0.3 bcd	1.8 ± 0.3 cd	35.3 ± 3.8 c	3.18 ± 0.22 cd	
	80	1.8 ± 0.2 a	3.5 ± 0.5 d	3.4 ± 0.5 cd	1.3 ± 0.2 de	29.1 ± 2.6 c	2.85 ± 0.14 d	
	100	1.8 ± 0.2 a	2.7 ± 1.0 d	2.7 ± 0.3 d	0.8 ± 0.2 e	27.3 ± 3.7 c	2.83 ± 0.19 d	
5	20	1.4 ± 0.2 a	7.6 ± 0.6 c	4.9 ± 0.3 ab	2.0 ± 0.1 bcd	45.9 ± 5.1 c	3.16 ± 0.11 cd	
	40	1.5 ± 0.2 a	11.2 ± 0.7 bc	5.2 ± 0.6 a	2.5 ± 0.2 abc	45.7 ± 2.8 c	3.61 ± 0.06 c	
	60	1.9 ± 0.2 a	12.6 ± 1.8 ab	4.3 ± 0.4 abc	2.8 ± 0.4 ab	108.4 ± 22.8 b	4.60 ± 0.40 b	
	80	2.0 ± 0.3 a	15.4 ± 2.4 a	3.7 ± 0.4 bcd	3.3 ± 0.4 a	198.7 ± 26.2 a	5.95 ± 0.35 a	
	100	1.7 ± 0.3 a	7.7 ± 1.7 c	3.5 ± 0.3 cd	2.0 ± 0.4 bcd	117.3 ± 14.0 b	4.85 ± 0.35 b	

\* ค่าเฉลี่ย ± SE ในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test

(n = 10)

รูปที่ 6 แสดงผลของน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ที่มีต่อการเจริญพัฒนาของหัวบอนพระยา  
เสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอด

- A1, G1 บอนพระยาเสวตเริ่มต้นที่ได้จากการเพิ่มจำนวนยอดทิวคูณ
- A2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 20, 40, 60, 80 และ 100  
กรัมต่อลิตร ระยะเริ่มต้น
- G2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 20, 40, 60, 80 และ 100  
กรัมต่อลิตร + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร ระยะเริ่มต้น
- B1, B2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6  
สัปดาห์
- C1, C2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6  
สัปดาห์
- D1, D2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6  
สัปดาห์
- E1, E2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6  
สัปดาห์
- F1, F2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 100 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6  
สัปดาห์
- H1, H2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร + ผง  
ถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- I1, I2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร + ผง  
ถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- J1, J2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร + ผง  
ถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- K1, K2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร + ผง  
ถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- L1, L2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 100 กรัมต่อลิตร + ผง  
ถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์

	activated charcoal 0 g/L		activated charcoal 5 g/L	
เริ่ม ต้น	 A1	 A2	 G1	 G2
sucrose 20 g/L	 B1	 B2	 H1	 H2
sucrose 40 g/L	 C1	 C2	 I1	 I2
sucrose 60 g/L	 D1	 D2	 J1	 J2
sucrose 80 g/L	 E1	 E2	 K1	 K2
sucrose 100 g/L	 F1	 F2	 L1	 L2

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงขลา

### การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของปริมาณ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเทวด

เมื่อนำยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (รูปที่ 7A และ 7G) เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 10, 20, 25, 30 และ 35 ไมโครโมลาร์ น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร แบ่งเป็นกลุ่มที่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ และไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์พบว่า ยอดมีการเจริญเติบโต และเกิดหัวขึ้น โดยมีการเจริญของหัวมากที่สุดจากยอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 10-30 ไมโครโมลาร์ ที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ โดยมีน้ำหนักอยู่ในช่วง 61.4-78.0 มิลลิกรัมต่อหัว และเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง 4.40-4.68 มิลลิเมตรต่อหัว (ตารางที่ 4; รูปที่ 7B, 7C, 7D และ 7E)

อาหารที่เติม BA และไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ ชักนำให้เกิดยอดมากกว่า (จำนวนยอดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.8-4.7 ยอดต่อยอดเริ่มต้น) (รูปที่ 7B, 7C, 7D, 7E และ 7F) อาหารที่เติม BA ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ (จำนวนยอดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.3-2.2 ยอดต่อยอดเริ่มต้น) (รูปที่ 7H, 7I, 7J, 7K และ 7L) สำหรับการเกิดรากพบว่า กลุ่มที่ใส่ BA เพียงอย่างเดียว จะไม่มีรากเกิดขึ้น ในขณะที่กลุ่มที่เลี้ยงในอาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์มีรากเกิดขึ้น มีจำนวนรากอยู่ระหว่าง 6.3-7.9 รากต่อยอดเริ่มต้น

จำนวนใบทั้งหมด และจำนวนใบที่มีสีเขียว ที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย อยู่ในช่วง 4.9-7.1 และ 1.8-6.0 ใบต่อยอดเริ่มต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4) โดยอาหารที่มีให้จำนวนใบทั้งหมด และใบสีเขียวมากที่สุดคือ อาหารที่มี BA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนใบทั้งหมดเฉลี่ย 7.1 ใบต่อยอดเริ่มต้น และใบสีเขียวเฉลี่ย 6.0 ใบต่อยอดเริ่มต้น (รูปที่ 7C)

จากการทดลองพบว่าที่ระดับ BA ความเข้มข้น 10, 20 และ 25 ไมโครโมลาร์ ให้ผลดีที่สุดในการชักนำให้เกิดหัว ดังนั้นจึงเลือก BA ความเข้มข้น 10, 20 และ 25 ไมโครโมลาร์ ใช้ในการทดลองต่อไป (ตารางที่ 4; รูปที่ 7B, 7C และ 7D)

ตารางที่ 4 ผลของ BA และ ผงถ่านกัมมันต์ในอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ต่อการเกิดหัวของบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเป็น เวลา 6 สัปดาห์

อาหาร MS	ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตและการพัฒนาของยอด*						
	จำนวนต้น (กรัม/ลิตร) (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอดที่ เกิดขึ้น	จำนวนรากที่ เกิดขึ้น	จำนวนใบ ใบทั้งหมด	ใบสีเขียว	น้ำหนักสดของหัว (มก./หัว)	เส้นผ่าศูนย์กลางของหัว (มม./หัว)
0	0	1.6 ± 0.2 ef	7.9 ± 0.8 a	5.6 ± 0.3 ab	1.8 ± 0.2 c	30.7 ± 1.0 c	2.75 ± 0.12 c
10	10	4.6 ± 0.6 ab	0.0 ± 0.0 b	5.7 ± 0.8 ab	5.1 ± 0.8 ab	78.0 ± 14.4 a	4.50 ± 0.35 a
20	20	4.7 ± 0.6 a	0.0 ± 0.0 b	7.1 ± 0.7 a	6.0 ± 0.7 a	77.6 ± 6.5 a	4.68 ± 0.15 a
25	25	3.5 ± 0.6 bc	0.0 ± 0.0 b	5.1 ± 0.3 b	4.1 ± 0.3 b	74.9 ± 3.9 a	4.43 ± 0.19 ab
30	30	3.3 ± 0.5 cd	0.0 ± 0.0 b	5.5 ± 0.5 b	4.7 ± 0.4 ab	61.4 ± 7.1 a	4.40 ± 0.23 ab
35	35	2.8 ± 0.4 cde	0.0 ± 0.0 b	5.3 ± 0.2 b	4.6 ± 0.2 ab	57.4 ± 7.1 b	3.76 ± 0.23 b
5	0	1.4 ± 0.2 f	7.6 ± 0.6 a	4.9 ± 0.3 b	2.0 ± 0.1 bed	45.9 ± 5.1 b	3.16 ± 0.11 c
10	10	2.2 ± 0.2 def	6.7 ± 0.6 a	5.7 ± 0.4 ab	5.1 ± 0.4 ab	30.1 ± 3.5 c	3.24 ± 0.12 bc
20	20	2.0 ± 0.3 ef	7.4 ± 0.9 a	5.1 ± 0.4 b	4.3 ± 0.4 b	35.3 ± 3.2 c	3.31 ± 0.12 bc
25	25	1.6 ± 0.2 ef	6.8 ± 0.6 a	5.4 ± 0.4 b	4.7 ± 0.3 ab	33.4 ± 2.5 c	3.10 ± 0.14 c
30	30	1.3 ± 0.2 f	6.8 ± 0.5 a	5.5 ± 0.5 b	4.5 ± 0.5 ab	32.7 ± 3.0 c	2.93 ± 0.11 c
35	35	1.3 ± 0.2 f	6.3 ± 0.7 a	4.9 ± 0.4 b	4.7 ± 0.4 ab	31.3 ± 3.2 c	2.84 ± 0.08 c

\* ค่าเฉลี่ย ± SE ในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test

(n = 10)

รูปที่ 7 แสดงผลของ BA และผงถ่านกัมมันต์ที่มีต่อการเจริญพัฒนาของหัวบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอด

- A1, G1 บอนพระยาเสวตเริ่มต้นที่ได้จากการเพิ่มจำนวนยอดทวีคูณ
- A2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 10, 20, 25, 30 และ 35 ไมโครโมลาร์ ระยะเริ่มต้น
- G2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 10, 20, 25, 30 และ 35 ไมโครโมลาร์ + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร ระยะเริ่มต้น
- B1, B2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 10 ไมโครโมลาร์ เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- C1, C2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 20 ไมโครโมลาร์ เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- D1, D2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 25 ไมโครโมลาร์ เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- E1, E2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 30 ไมโครโมลาร์ เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- F1, F2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 35 ไมโครโมลาร์ เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- H1, H2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 10 ไมโครโมลาร์ + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- I1, I2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 20 ไมโครโมลาร์ + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- J1, J2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 25 ไมโครโมลาร์ + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- K1, K2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 30 ไมโครโมลาร์ + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- L1, L2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 35 ไมโครโมลาร์ + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงขลา

#### การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต

นำยอดที่มีใบ 2-3 ใบ เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 2 ระดับโดยเลือกจากการทดลองที่ 2 ที่ให้ผลที่ดีที่สุด คือ 60 และ 80 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 3) เติมนสารเร่งการเติบโต BA 3 ระดับความเข้มข้น โดยเลือกจากการทดลองที่ 3 ที่ให้ผลที่ดีที่สุด คือ 10, 20 และ 25 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 4) โดยการทดลองแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่หนึ่งใส่ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร อีกกลุ่มไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

พบว่าอาหารที่ใส่น้ำตาลซูโครส และ BA ร่วมกันให้ผลต่อการเกิดหัวดีกว่าการใส่น้ำตาลซูโครส หรือ BA เพียงอย่างเดียว โดยอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการเกิดหัวมากที่สุดคือ อาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร และ BA 10 ไมโครโมลาร์ ให้น้ำหนักสดเฉลี่ย 1.041 กรัมต่อหัว และเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 12.74 มิลลิเมตรต่อหัว และมีจำนวนยอดเกิดขึ้นมากที่สุด เฉลี่ย 12.7 ยอดต่อยอดเริ่มต้น (ตารางที่ 5 รูปที่ 8B) ส่วนในอาหารสูตรอื่นๆ มีจำนวนยอดเกิดขึ้นเฉลี่ยในช่วง 2.8-5.0 ยอดต่อหัว

การออกรากพบว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมผงถ่านกัมมันต์มีรากจำนวนมาก จำนวนรากเฉลี่ยในช่วง 3.2-13.6 รากต่อยอดเริ่มต้น (รูปที่ 8I, 8J, 8K, 8L, 8M และ 8N) ในขณะที่ยอดที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์มีการเกิดรากเพียงเล็กน้อย จำนวนรากเฉลี่ยในช่วง 0-0.7 รากต่อยอดเริ่มต้น (รูปที่ 8B, 8C, 8D, 8E, 8F และ 8G) โดยอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 10-25 ไมโครโมลาร์ และผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร มีรากเกิดมากที่สุด จำนวนรากอยู่ในช่วง 11.7-13.6 รากต่อยอดเริ่มต้น และสูตรอาหารนี้มีผลต่อการเพิ่มจำนวนใบทั้งหมด และใบที่มีสีเขียวมากที่สุดในช่วง 3.9-4.6 ใบต่อยอดเริ่มต้น และ 1.8-2.7 ใบต่อยอดเริ่มต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 5; รูปที่ 8I, 8J และ 8K) ขณะที่อาหารสูตรอื่นๆ มีใบทั้งหมดอยู่ในช่วง 2.7-3.7 ใบต่อยอดเริ่มต้น และใบสีเขียวอยู่ในช่วง 0.2-1.6 ใบต่อยอดเริ่มต้น (ตารางที่ 5)

จากการทดลองพบว่าอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดหัว คือน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร และ BA 10 ไมโครโมลาร์ ซึ่งไม่เติมผงถ่านกัมมันต์

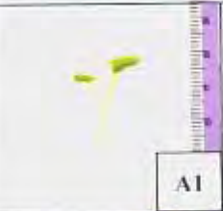



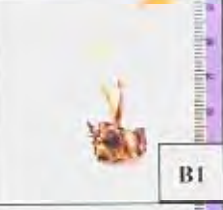
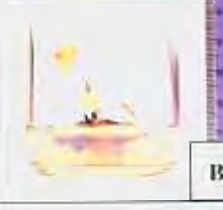








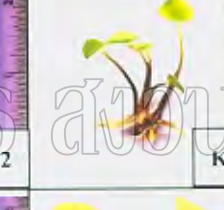













ตารางที่ 5 ผลของน้ำตาสุโครส BA และผงถ่านกัมมันต์ที่มีต่อการเจริญพัฒนาของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเป็นเวลา 6 สัปดาห์

อาหาร MS		ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตและการพัฒนาของยอด*						
ถ่านกัมมันต์ (กรัม/ลิตร)	สุโครส (BA) (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอดที่ เกิดขึ้น	จำนวนรากที่ เกิดขึ้น	จำนวนใบ		น้ำหนักสดของหัว (กรัม/หัว)	เส้นผ่าศูนย์กลางของหัว (มม./หัว)	
				ใบทั้งหมด	ใบสีเขียว			
0	10	12.7 ± 0.9 a	0.7 ± 0.4 d	3.7 ± 0.2 bcd	1.6 ± 0.3 bc	1.041 ± 0.106 a	12.74 ± 0.55 a	
	20	3.8 ± 0.3 bc	0.0 ± 0.0 d	3.1 ± 0.3 cde	0.9 ± 0.2 de	0.123 ± 0.016 cd	5.22 ± 0.31 def	
	25	3.7 ± 0.4 bc	0.0 ± 0.0 d	3.3 ± 0.3 bcde	1.0 ± 0.1 cd	0.129 ± 0.015 cd	5.18 ± 0.28 def	
5	10	5.0 ± 0.5 b	0.7 ± 0.3 d	3.1 ± 0.3 cde	0.2 ± 0.1 e	0.494 ± 0.066 b	8.65 ± 0.53 b	
	20	4.0 ± 0.3 bc	0.6 ± 0.3 d	3.0 ± 0.3 de	0.5 ± 0.2 de	0.246 ± 0.054 c	6.22 ± 0.50 cd	
	25	2.8 ± 0.4 c	0.0 ± 0.0 d	3.1 ± 0.3 cde	0.7 ± 0.2 de	0.080 ± 0.011 d	4.06 ± 0.22 g	
10	10	3.7 ± 0.2 bc	11.7 ± 1.3 ab	4.0 ± 0.3 ab	2.6 ± 0.2 a	0.146 ± 0.009 cd	5.32 ± 0.16 def	
	20	4.8 ± 0.3 b	13.5 ± 3.3 a	4.6 ± 0.2 a	2.7 ± 0.4 a	0.214 ± 0.030 cd	6.45 ± 0.44 c	
	25	4.3 ± 0.3 b	13.6 ± 1.9 a	3.9 ± 0.3 abc	1.8 ± 0.2 b	0.181 ± 0.019 cd	5.76 ± 0.24 cde	
80	10	4.2 ± 0.4 bc	9.0 ± 1.3 bc	3.5 ± 0.3 bed	1.1 ± 0.2 cd	0.117 ± 0.013 cd	4.99 ± 0.26 efg	
	20	4.2 ± 0.4 bc	6.9 ± 1.1 c	2.7 ± 0.3 f	0.6 ± 0.2 de	0.124 ± 0.021 cd	4.97 ± 0.26 efg	
	25	3.6 ± 0.4 bc	3.2 ± 0.7 d	3.0 ± 0.3 de	0.2 ± 0.1 e	0.103 ± 0.012 d	4.55 ± 0.21 fg	

\* ค่าเฉลี่ย ± SE ในแนวตั้งกำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์วิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test (n = 10)

รูปที่ 8 แสดงผลของน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ BA และผงถ่านกัมมันต์ ที่มีต่อการเกิดหัวของบอนพระยาเสวต

- A1, H1 บอนพระยาเสวตเริ่มต้นที่ได้จากการเพิ่มจำนวนยอดทวีคูณ
- A2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA + น้ำตาลซูโครส ระยะเริ่มต้น
- H2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA + น้ำตาลซูโครส + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร ระยะเริ่มต้น
- B1, B2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 10 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- C1, C2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 20 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตรเมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- D1, D2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 25 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- E1, E2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 10 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- F1, F2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 20 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- G1, G2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 25 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- I1, I2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 10 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- J1, J2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 20 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- K1, K2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 25 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- L1, L2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 10 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- M1, M2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 20 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์
- N1, N2 บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + BA 25 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร + ผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์

		activated charcoal 0 g/L		activated charcoal 5 g/L	
154 วัน					
		A1	A2	H1	H2
sucrose 60 g/L	BA 10 μM				
		B1	B2	I1	I2
	BA 20 μM				
	C1	C2	J1	J2	
	BA 25 μM				
	D1	D2	K1	K2	
sucrose 80 g/L	BA 10 μM				
		E1	E2	L1	L2
	BA 20 μM				
	F1	F2	M1	M2	
	BA 25 μM				
	G1	G2	N1	N2	

มหาวิทยาลัยสุโขทัย

### การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของสภาพของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยา

#### เขต

จากการนำยอดที่มีใบ 2-3 ใบ เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (จากการทดลองที่ 4) ในสภาพของอาหาร 4 สภาพ คือ อาหารแข็ง (ใส่วุ้น 5.8 กรัมต่อลิตร), อาหารกึ่งแข็ง (ใส่วุ้น 2.9 กรัมต่อลิตร), อาหารเหลวในสภาพนิ่ง และอาหารเหลวในสภาพเขย่า เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนในหลอดทดลอง

ยอดที่อยู่ในอาหารเหลวสภาพเขย่ามีผลต่อการเกิดหัวบอนมากที่สุด คือหัวบอนมีน้ำหนัก 2.61 กรัมต่อหัว เส้นผ่าศูนย์กลาง 19.01 มิลลิเมตรต่อหัว (รูปที่ 9D) แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงในอาหารเหลวสภาพนิ่ง ซึ่งมีน้ำหนัก 2.45 กรัมต่อหัว และเส้นผ่าศูนย์กลาง 17.32 มิลลิเมตรต่อหัว (รูปที่ 9C)

จำนวนยอดที่เกิดขึ้น พบว่าอาหารเหลวสภาพนิ่งส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของยอดมากที่สุด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 22.4 ยอดต่อยอดเริ่มต้น ในขณะที่อาหารเหลวสภาพเขย่าส่งเสริมการเกิดใบและราก โดยมีจำนวนใบทั้งหมดเฉลี่ย 8.9 ใบต่อยอดเริ่มต้น จำนวนใบสีเขียวเฉลี่ย 5.8 ใบต่อยอดเริ่มต้น และจำนวนรากเฉลี่ย 16.1 รากต่อยอดเริ่มต้น (ตารางที่ 6; รูปที่ 9A, 9B, 9C และ 9D)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ตารางที่ 6 ผลของสภาพอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ที่มีการเจริญพัฒนาของหัวของระยะยาเสพติดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ในอาหาร MS สูตรที่มี น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร และ BA 10 ไมโครโมลาร์

สภาพของอาหาร	ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตและการพัฒนาของยอด *					
	จำนวนยอดที่ เกิดขึ้น	จำนวนรากที่ เกิดขึ้น	ใบทั้งหมด	ใบสีเขียว	น้ำหนักสด (กรัม/หัว)	หัวบอน เส้นผ่าศูนย์กลาง (มม./หัว)
อาหารแข็ง **	10.5 ± 0.9 b	1.4 ± 0.5 b	4.7 ± 0.4 b	1.0 ± 0.3 c	1.27 ± 0.11 b	12.53 ± 0.62 c
อาหารกึ่งแข็ง ***	12.3 ± 1.8 b	2.5 ± 0.9 b	5.1 ± 0.4 b	3.2 ± 0.5 b	1.68 ± 0.20 b	15.33 ± 0.76 b
อาหารเหลวสภาพหนึ่ง	22.4 ± 1.8 a	2.5 ± 1.2 b	6.4 ± 0.6 b	5.5 ± 0.6 a	2.45 ± 0.26 a	17.32 ± 1.02 ab
อาหารเหลวสภาพเข้า	13.9 ± 1.8 b	16.1 ± 2.4 a	8.9 ± 1.3 a	5.8 ± 1.0 a	2.61 ± 0.12 a	19.01 ± 0.40 a

\* ค่าเฉลี่ย ± SE ในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test (n = 10)

\*\* อาหารแข็ง ใช้หัว 5.8 กรัม/ลิตร

\*\*\* อาหารกึ่งแข็ง ใช้หัว 2.9 กรัม/ลิตร

รูปที่ 9 แสดงผลของสภาพของอาหารเพาะเลี้ยง ต่อการเกิดหัวของบอนพระยาเสวต เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

- |        |   |
|--------|---|
| A1, A2 | บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร + BA 10 ไมโครโมลาร์ + ผงวุ้น 5.8 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์                                      |
| B1, B2 | บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร + BA 10 ไมโครโมลาร์ + ผงวุ้น 2.9 กรัมต่อลิตร เมื่ออายุ 6 สัปดาห์                                      |
| C1, C2 | บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร + BA 10 ไมโครโมลาร์ ไม่ใช้ ผงวุ้น เลี้ยงในสภาพนิ่ง เมื่ออายุ 6 สัปดาห์                                |
| D1, D2 | บอนพระยาเสวตที่เลี้ยงในอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร + BA 10 ไมโครโมลาร์ ไม่ใช้ ผงวุ้น เลี้ยงในสภาพเขย่าด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ |



มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ สงขลา

**การทดลองที่ 6 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กับ  
ระยะเวลาการเก็บรักษา ต่อการเจริญของหัวเมื่อนำออกปลูก**

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนยอดบอนพระยาเสวตในอาหารเหลว MS ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ โดยเติมหรือไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ และเลี้ยงในสภาพเขย่าด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที

หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโคร โมลาร์ น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร โดยไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ เมื่อนำมาแบ่งเป็นกลุ่มๆ ตามขนาดของหัว สามารถแบ่งขนาดหัวได้เป็นสองกลุ่มคือ หัวที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร (รูปที่ 10A1) และกลุ่มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร (รูปที่ 10B1) ยอดที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโคร โมลาร์ น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร และเติมผงถ่านกัมมันต์ สามารถแบ่งหัวบอนที่เกิดขึ้นได้เป็น กลุ่มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวมากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร (รูปที่ 10D1) และกลุ่มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร (รูปที่ 10C1)

จากนั้นนำหัวที่ได้ไปทำการปลูกทันที และเก็บรักษาเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ ก่อนนำลงปลูก เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหัว และระยะเวลาในการเก็บรักษาที่มีต่อการเจริญของหัวเมื่อนำไปปลูกลงกระถาง พบว่ามีเพียงหัวที่ออกปลูกทันทีเท่านั้นที่สามารถเจริญเติบโตงอกออกมาได้ ส่วนหัวที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ (รูปที่ 10A2, 10A3, 10B2, 10B3, 10C2, 10C3, 10D2 และ 10D3) ไม่สามารถงอก และเจริญเติบโตได้

หลังจากปลูกหัวบอนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าหัวบอนที่นำออกปลูกทันที ในหัวทุกขนาด มีเปอร์เซ็นต์การงอก 100 เปอร์เซ็นต์ หัวที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร จากอาหารที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ ให้จำนวนใบเฉลี่ย 10.47 ใบต่อต้น (รูปที่ 11B) ซึ่งมากกว่าจำนวนใบที่เกิดจากหัวที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร ให้จำนวนใบเฉลี่ย 7.53 ใบต่อต้น (รูปที่ 11A) และหัวที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า หรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร จากอาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ ให้จำนวนใบทั้งหมดเฉลี่ย 12.25 ใบต่อต้น (รูปที่ 11D) ซึ่งมากกว่าต้นที่ปลูกจากหัวที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร จำนวนใบทั้งหมดเฉลี่ย 8.55 ใบต่อต้น (รูปที่ 11C) ด้านการพัฒนาสีของใบ พบว่ามีการพัฒนาของสีมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ในทุกกลุ่มการทดลอง และเมื่อพิจารณาอัตราส่วนขนาดของใบ พบว่ากลุ่มที่เลี้ยงในอาหารที่มีผงถ่านกัมมันต์ (รูปที่ 11C และ 11D) จะมีขนาดเฉลี่ยของใบใหญ่กว่ากลุ่มที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์ (รูปที่ 11A และ 11B) อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ผลการเจริญเติบโตของบอนพระยศเมื่อนำหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกทันที โดยปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์

กลุ่มที่	อาหาร MS				ขนาดหัว (มม.)	การออก ยอด*	จำนวนใบ เฉลี่ย*	ลักษณะใบ			
	BA (ไมโครโมลาร์)	ซูโครส (กรัม/ลิตร)	อานกัมมันต์ (กรัม/ลิตร)	อานกัมมันต์ (กรัม/ลิตร)				ค่าเฉลี่ยขนาดของใบ (มม.)*			
								การพัฒนา สีเขียว	ความกว้าง	ความยาว	ความลึกของหูใบ
1	10	60	0	0	<10	100%	7.53±0.53 b	16.07±1.15 b	23.73±1.82 b	1.60±0.19 a	
2	10	60	0	0	≥10	100%	10.47±1.52 ab	16.35±1.01 b	21.04±1.47 b	1.64±0.18 a	
3	10	60	5	5	<5	100%	8.55±0.64 b	21.09±0.81 a	29.26±1.59 a	1.53±0.11 a	
4	10	60	5	5	≥5	100%	12.25±1.06 a	23.46±1.38 a	32.25±2.64 a	1.79±0.31 a	

\* ค่าเฉลี่ย ± SE ในแนวตั้งเท่ากับตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test

รูปที่ 10 แสดงหัวบนพระยาเสวตเมื่อนำหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นระยะเวลา 0, 2 และ 4 สัปดาห์

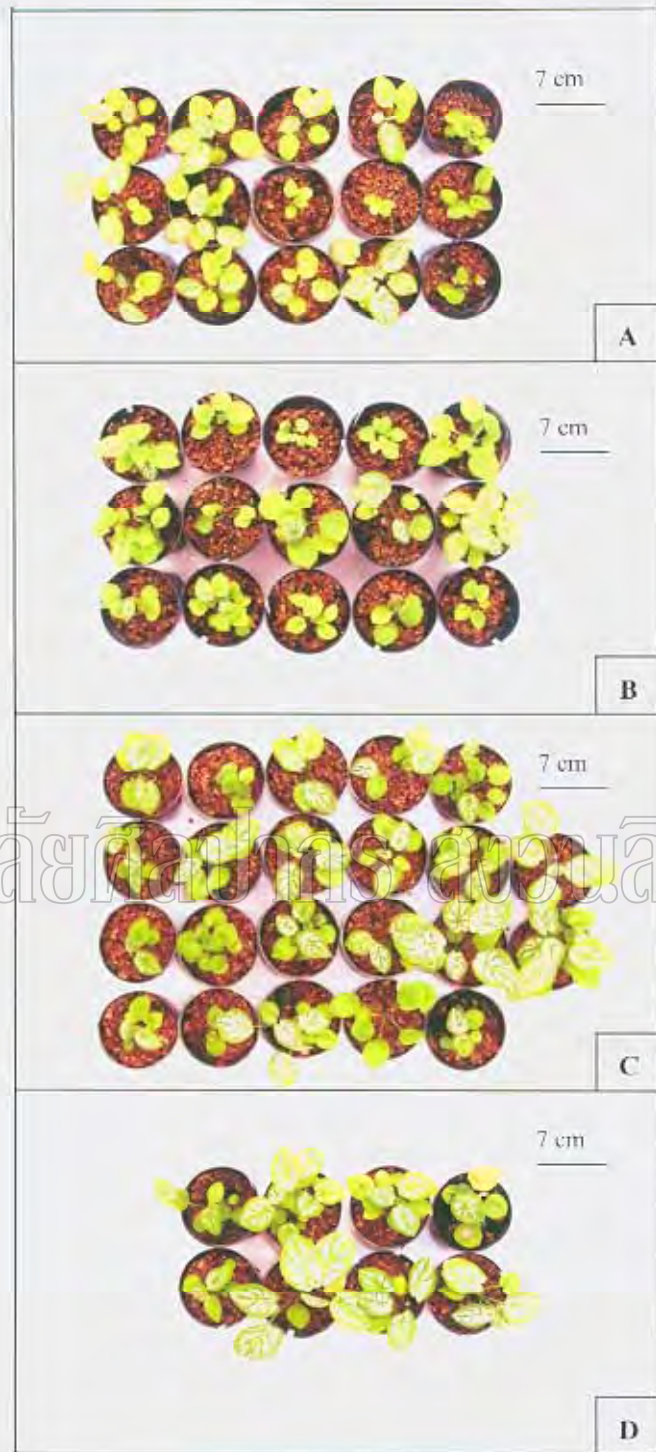
- |               |  |
|---------------|--|
| A1, A2 และ A3 | หัวบนพระยาเสวตขนาดเล็กกว่า 10 มิลลิเมตร ซึ่งได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว MS + BA 10 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร ที่เขย่าด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นระยะเวลา 0, 2 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ   |
| B1, B2 และ B3 | หัวบนพระยาเสวตขนาดใหญ่กว่า หรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ซึ่งได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว MS + BA 10 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร ที่เขย่าด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นระยะเวลา 0, 2 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ                                 |
| C1, C2 และ C3 | หัวบนพระยาเสวตขนาดเล็กกว่า 5 มิลลิเมตร ซึ่งได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว MS + BA 10 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร + ผงถ่านกัมมันต์ 5.0 กรัมต่อลิตร ที่เขย่าด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นระยะเวลา 0, 2 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ             |
| D1, D2 และ D3 | หัวบนพระยาเสวตขนาดใหญ่กว่า หรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร ซึ่งได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว MS + BA 10 ไมโครโมลาร์ + น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร + ผงถ่านกัมมันต์ 5.0 กรัมต่อลิตร ที่เขย่าด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นระยะเวลา 0, 2 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ |



มหาวิทยาลัยศิลปากร ส่วนวนลิขสิทธิ์

รูปที่ 11 แสดงคั่นบอนพระยาเสวตอายุ 8 สัปดาห์ ที่ได้จากการนำหัวบอนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลว ปลูกลงกระถางในทันที

- A บอนพระยาเสวตอายุ 8 สัปดาห์ ที่ได้จากการเพาะหัวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร ที่ได้จากอาหาร MS สูตรปรับปรุง ซึ่งไม่มีผงถ่านกัมมันต์
- B บอนพระยาเสวตอายุ 8 สัปดาห์ ที่ได้จากการเพาะหัวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า หรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ที่ได้จากอาหาร MS สูตรปรับปรุง ซึ่งไม่มีผงถ่านกัมมันต์
- C บอนพระยาเสวตอายุ 8 สัปดาห์ ที่ได้จากการเพาะหัวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร ที่ได้จากอาหาร MS สูตรปรับปรุง ซึ่งมีผงถ่านกัมมันต์
- D บอนพระยาเสวตอายุ 8 สัปดาห์ ที่ได้จากการเพาะหัวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า หรือเท่ากับกว่า 5 มิลลิเมตร ที่ได้จากอาหาร MS สูตรปรับปรุง ซึ่งมีผงถ่านกัมมันต์



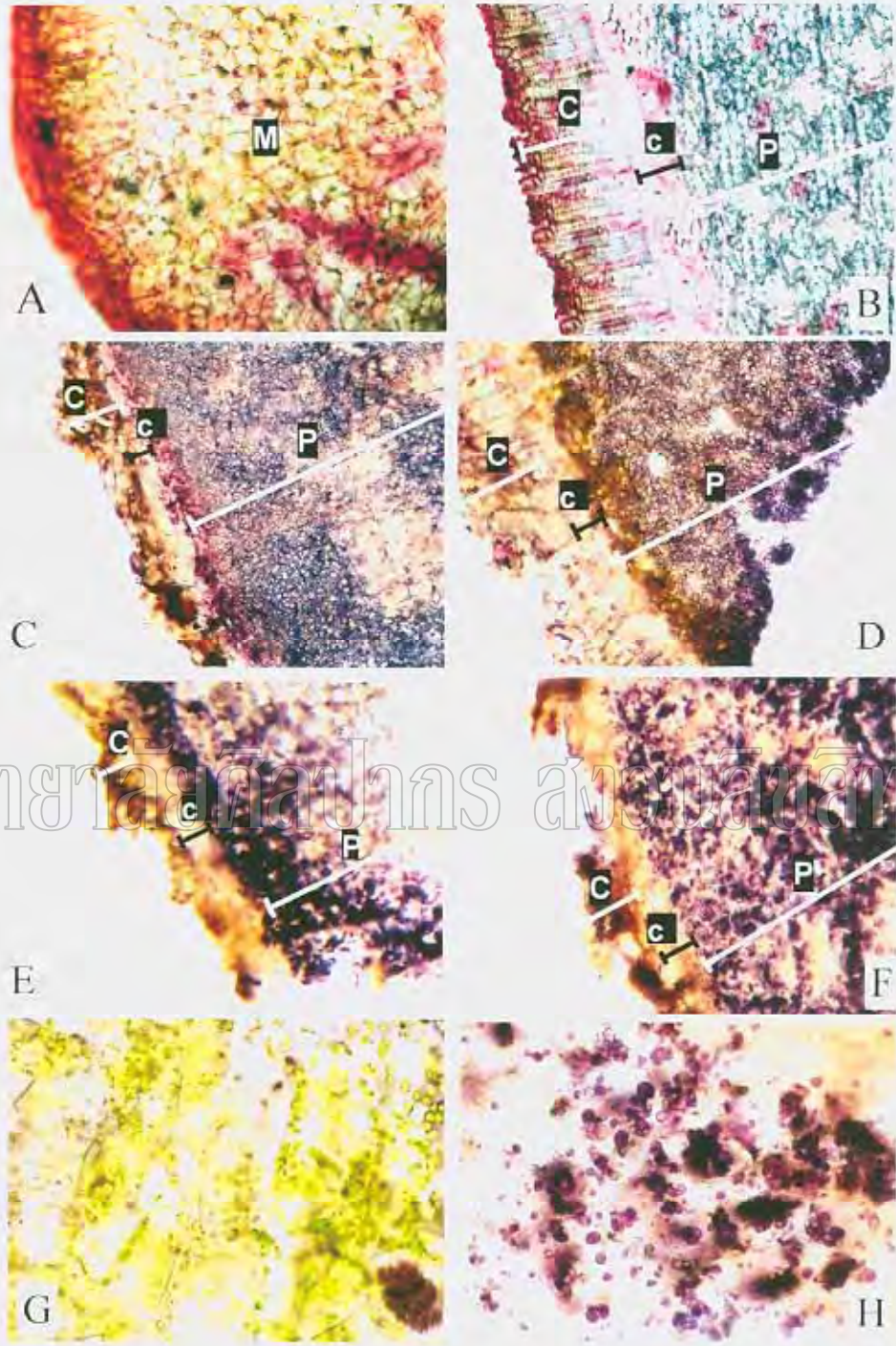
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

### การทดลองที่ 7 ศึกษาอายุวิภาคของหัวที่ได้จากสภาพการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

จากการนำชิ้นส่วนแคลลัส หัวบอนพระยาเสวตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหาร MS สูตรที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ เลี้ยงในสภาพของอาหารที่แตกต่างกัน (อาหารแข็ง อาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลวในสภาพนิ่ง) และหัวบอนพระยาเสวตที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัว นำมาตัดเนื้อเยื่อ ศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่ามีเพียงแคลลัสเท่านั้นที่สามารถพบเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ ซึ่งมีคลอโรพลาสต์ (chloroplast) กระจายอยู่ทั่วไปในเซลล์ (รูปที่ 12G) ในขณะที่หัวบอนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และหัวที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัว จะพบชั้นของคอร์ก (cork) คอร์เทกซ์ (cortex) และพิต (pith) โดยชั้นนอกเป็นส่วนของคอร์กจะประกอบด้วยคอร์กเซลล์ (cork cells) และคอร์กแคมเบียม (cork cambium) ส่วนถัดไปเป็นส่วนของคอร์เทกซ์ที่มีเซลล์พารانشิม (parenchyma) และส่วนในสุดเป็นส่วนของพิต ซึ่งมีเซลล์พารانشิมที่มีเม็ดแป้ง (starch grain) อยู่ เรียกว่า แอมิโลพลาสต์ (amyloplast) โดยแอมิโลพลาสต์นี้สามารถตรวจสอบด้วยการทำปฏิกิริยากับ ไอโอดีน (I<sub>2</sub>) ในโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) ได้สีน้ำเงิน (รูปที่ 12C, 12D, 12E, 12F และ 12H) หัวที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MS สูตรที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์นี้มีชั้นของคอร์กที่บาง มีเนื้อเยื่อผิว (epidermis) เพียง 1 ชั้น (simple epidermis) แต่เซลล์มีขนาดใหญ่ (รูปที่ 12C, 12E, และ 12F) ในขณะที่หัวบอนที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MS สูตรที่มีผงถ่านกัมมันต์มีชั้นของคอร์กที่หนา มีเนื้อเยื่อผิวหลายชั้น (multiple epidermis) และเซลล์มีขนาดเล็ก (รูปที่ 12D) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับหัวบอนที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัว (รูปที่ 12B)

รูปที่ 12 ภาพตัดตามขวางของแคลลัส และหัวบอนพระยาเสวต ที่เลี้ยงในอาหารสภาพต่างๆ

- A ภาพตัดขวางแคลลัส (กำลังขยาย 100 เท่า)
- B ภาพตัดขวางของหัวบอนพระยาเสวตที่ขยายพันธุ์โดยวิธีผ่าหัว (กำลังขยาย 100 เท่า)
- C-F ภาพตัดขวางของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดในอาหาร MS สูตรที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 10 ไมโคร โมลาร์
- C หัวบอนที่ได้จากการเลี้ยงยอดในอาหารแข็งที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์
- D หัวบอนที่ได้จากการเลี้ยงยอดในอาหารแข็งที่มีผงถ่านกัมมันต์
- E หัวบอนที่ได้จากการเลี้ยงยอดในอาหารกึ่งแข็ง
- F หัวบอนที่ได้จากการเลี้ยงยอดในอาหารเหลวสภาพนิ่ง
- G คลอโรพลาสต์ในเซลล์ของแคลลัส (กำลังขยาย 400 เท่า)
- H เม็ดแป้งในพาราเรจิมูเซลล์ บริเวณพืท (กำลังขยาย 400 เท่า)



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

## อภิปรายผลการทดลอง

**การทดลองที่ 1 การศึกษาความผันแปรของต้นบอนพระยาเสวศที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

จากการศึกษาความผันแปรของต้นบอนพระยาเสวศที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งใช้ใบอ่อนที่ยังม้วน พบว่ามีต้นที่มีลักษณะเหมือนต้นแม่ 48 เปอร์เซ็นต์ และมีความผันแปรเกิดขึ้น 52 เปอร์เซ็นต์ ตามลักษณะของสีและรูปร่างของใบ ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Ahmed และคณะ (2002) ที่ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสีพันธุ์ Pink Cloud (*Caladium bicolor* Ait.) โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนต่างๆ เป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้น พบว่าต้นที่ได้จากเนื้อเยื่อส่วนใบที่ยังม้วนตัว (unexpanded leaves) มีความผันแปรเกิดขึ้น 41 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เปอร์เซ็นต์ความผันแปรจะเพิ่มขึ้นตามอายุของชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น

ชนิดของใบบอนพระยาเสวศที่เกิดขึ้นมี 2 ลักษณะคือ ลักษณะใบไทย (ลักษณะเดียวกับต้นแม่พันธุ์) และลักษณะใบกลม ซึ่งลักษณะใบกลมที่เกิดขึ้นนี้สามารถเกิดขึ้นได้จากการขยายพันธุ์บอนโดยการผ่าหัว (พิจาน 2549) จากการทดลองนี้พบว่าเกิดใบกลมในการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยง 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าการทดลองของ Somkanea และคณะ (2007) ที่ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสีอาจารย์ปราโมทย์ (*C. bicolor* cv. Arjam Pramote) ซึ่งพบการเกิดความผันแปรเป็นบอนใบกลมเพียง 3.84 เปอร์เซ็นต์ และมากกว่าการทดลองของ Ahmed และคณะ (2002) ที่พบการเกิดใบกลมในบอนพันธุ์ Pink Cloud 5 เปอร์เซ็นต์

ในส่วนของลักษณะสีที่เกิดขึ้นจากการทดลองนี้พบใน 3 ลักษณะคือ มีสีขาวมากกว่าสีเขียว สีขาวเท่ากับสีเขียว (ลักษณะสีเดียวกับต้นแม่พันธุ์) และสีขำน้อยกว่าสีเขียว เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ความผันแปรได้เท่ากับ 44 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับที่ Ahmed และคณะ (2004) ทดลองในบอนสีพันธุ์ Pink Cloud ที่ใช้สารเร่งการเติบโตของพืช NAA ความเข้มข้น 0.5-5.3 ไมโครโมลาร์ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบความผันแปรของสีใบของบอนสีพันธุ์ Pink Cloud 15-43 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NAA จะทำให้เกิดความผันแปรมากขึ้น แต่ถ้าต้องการลดความผันแปรควรใช้เนื้อเยื่อเริ่มต้นที่มีอายุน้อยได้แก่ ปลายยอด ปลายราก หรือ คาข้าง (Ahmed และคณะ 2002)

ทั้งนี้ความผันแปรที่เกิดขึ้น อาจเกิดจากการกระตุ้นการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความผิดพลาดในขณะแบ่งเซลล์ เช่นในการทดลองเลี้ยงเซลล์หอม (*Allium cepa* L.) และ เซลล์กระเทียม (*A. sativum* L.) ในอาหาร MS สูตรที่ประกอบด้วย 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) ความเข้มข้น 9.05 ไมโครโมลาร์ และ ไคเนติน (kinetin) ความเข้มข้น 0.93 ไมโครโมลาร์ เมื่อนำเซลล์หอม และกระเทียมไปศึกษาโครโมโซมพบว่า ทั้งเซลล์หอมและกระเทียมเกิดการแบ่งเซลล์ผิดปกติ โดยมีโครโมโซมน้อยลง (hypodiploid cells) หรือ มากกว่าปกติ (hyperdiploid cells) ซึ่งปัจจัยสิ่งแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีส่วนอย่างมากในการเกิดความผิดปกติของเซลล์เพาะเลี้ยง (Mukhopadhyay และคณะ 2005; Bennett และ Rees 1969) โดยเฉพาะในช่วงที่เซลล์มีการเพิ่มจำนวนแบบทวีคูณ (exponential growth phase) แต่อาหารเพาะเลี้ยงเป็นปัจจัยจำกัดทำให้การแบ่งเซลล์ไม่สมบูรณ์ และเซลล์ที่ผิดปกติจะมากขึ้นเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น (Bayliss 1974; Wan และคณะ 1992)

ซึ่งสาเหตุของการเกิดความผันแปรในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาจมีได้ 3 สาเหตุคือ ความผันแปรอันเกิดจากชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อนำมาเพาะเลี้ยง ความผันแปรอันเกิดจากอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงที่มีคุณสมบัติเป็นสื่อการกลายพันธุ์ ความผันแปรที่เกิดจากการตอบสนองของจีโนม (genome) ต่อความเครียด (stress) ต่างๆ ที่เกิดขึ้นในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (สิรินุช 2540)

## การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต

จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาในอดีตพบว่าผลของน้ำตาลซูโครสในปริมาณที่สูงมากกว่า 30 กรัมต่อลิตร มีผลต่อการเกิด และการเจริญของหัวพืชหลายชนิด ที่เลี้ยงในหลอดทดลอง เช่นใน ลิลลี่ (*Lilium spp.*) เมื่อได้รับน้ำตาลซูโครสเพิ่มขึ้นเป็น 60-150 กรัมต่อลิตร มีผลต่อการเพิ่มจำนวนและน้ำหนักของหัวมากกว่าการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่มีน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร (Lian และคณะ 2003; Han และคณะ 2004; Han และคณะ 2005; กาญ 2533) คล้ายกับผลจากการทดลองผลิตหัวแทนเนียหรือ cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) ในหลอดทดลอง พบว่าน้ำตาล 80 กรัมต่อลิตร ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดหัว (tuberization) มากขึ้น และหัวมีน้ำหนักมากขึ้น (Omokolo และคณะ 2003) จากการทดลองนี้เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลมากขึ้นในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนพระยาเสวต พบว่าหัวบอนที่เกิดขึ้นมีการเพิ่มขึ้นทั้งขนาด และน้ำหนักสด ซึ่งเมื่อเติมผงถ่านกัมมันต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้หัวบอนมีขนาด และน้ำหนักสดของหัว เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีขนาด และน้ำหนักสดของหัวมากที่สุดที่ระดับน้ำตาล 80 กรัมต่อลิตร ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร ร่วมด้วย ซึ่งการเพิ่มปริมาณน้ำตาลมีผลอย่างมากต่อการเจริญของส่วนที่เป็นหัวสะสมอาหารของพืช

(Mares และคณะ 1985; Dantu และ Bhojwani 1995) และเมื่อร่วมกับการเติมผงถ่านกัมมันต์ที่เป็นอีกปัจจัยหนึ่ง มีรายงานว่าผงถ่านกัมมันต์มีส่วนช่วยในการดูดซับสารยับยั้งการเติบโต (growth inhibitor) และมีผลในการดูดซับฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้น (endogenous hormone) (Han และคณะ 2005; บุญยีน 2544) ซึ่งสารในกลุ่มหลังนี้ที่สำคัญคือ สารกลุ่มออกซินที่ผลิตมากบริเวณปลายยอด และเมื่อปริมาณออกซินลดลง ส่งผลให้การนำพลังงานไปใช้ในการเจริญเติบโตบริเวณปลายยอดลดลง มีผลให้พืชมีการสะสมอาหารมากขึ้น ขนาดของหัวบอนจึงมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งตรงกับบททดลองของ Peck และ Cumming (1986) ที่พบว่าเมื่อเพิ่มผงถ่านกัมมันต์ให้กับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้น Grape Hyacinths (*Muscari armeniacum*) ทำให้มีหัวเกิดขึ้น ซึ่งหัวนี้สามารถนำออกปลูกได้

สำหรับผลการทดลองเกี่ยวกับอิทธิพลที่มีต่อจำนวนยอดของบอนพระยาเสวต พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลองของระดับน้ำตาลซูโครส ทำให้ทราบว่าปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ได้รับนี้ ไม่มีผลที่ทำให้การเกิดยอดแตกต่างกัน ซึ่งขัดแย้งกับผลการทดลองของ Hartin และ Jualang (2007) โดยได้ทำการทดลองให้น้ำตาลซูโครสระดับต่างๆ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นว่านนางคัด (*Labisia pumila* (Blume) Fern.-Vill. & Naves) ซึ่งพบว่าน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ให้ผลที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดของต้นว่านนางคัด และเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสให้สูงขึ้นพบว่ามีจำนวนยอดลดลง การเติมผงถ่านกัมมันต์ลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีระดับน้ำตาลต่างๆ พบว่ามีผลต่อการเกิดยอดไม่แตกต่างกัน แต่มีผลในการเพิ่มจำนวนของราก เนื่องจากผงถ่านกัมมันต์มีผลต่อการชักนำให้เกิดราก (Fridborg และคณะ 1978)

### การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของปริมาณ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต

การเติม BA ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีผลต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนอย่างมาก โดยทำให้หัวบอนที่เกิดขึ้นมีน้ำหนัก และขนาดมากกว่าหัวบอนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดในอาหารที่ปราศจาก BA ซึ่ง BA เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนิน โดยสารในกลุ่มไซโตไคนินมีผลต่อการเจริญในส่วนลำต้น กระตุ้นการเจริญของตาข้าง (พีรเดช 2537) กลุ่มที่ได้รับ BA จะมียอดเกิดจำนวนมาก BA มีผลยับยั้งการเจริญของราก เป็นผลให้กลุ่มที่ได้รับ BA เพียงอย่างเดียว ไม่มีรากเกิดขึ้น อีกปัจจัยคือ อัตราส่วนของออกซิน (ออกซินถูกสร้างขึ้นบริเวณเนื้อเยื่อเจริญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณปลายยอด) ต่อไซโตไคนินน้อย ทำให้เกิดการยับยั้งการเกิดราก ผลของไซโตไคนินจากการทดลองอีกประการหนึ่ง คือพบจำนวนใบที่มีสีเขียวมากกว่าใบที่มีสีเหลือง สาเหตุเนื่องจากไซโตไคนินมีบทบาทช่วยชะลอการเสื่อมสลายตัวของคลอโรฟิลล์ จึงทำให้ใบมีอายุยาวขึ้น (สมบุญ 2544)

ผลของผงถ่านกัมมันต์ในอาหาร MS ที่มี BA พบว่าผงถ่านกัมมันต์ไปลดการทำงานของ BA โดยทำให้การเกิดขอลดลง มีรากเกิดขึ้น และลดการเจริญของหัว ซึ่งแตกต่างจากชุดทดลองที่ไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญ เพราะผงถ่านกัมมันต์มีคุณสมบัติดูดซับสารเร่งการเติบโตของพืช (บุญยืน 2544) ทำให้ในอาหารเพาะเลี้ยงมีความเข้มข้นของ BA ลดลงจนทำให้เกิดผลดังกล่าวข้างต้น ซึ่งเหมือนกับผลการศึกษาวิจัยเพื่อการเพาะเลี้ยงแคลดิโอสในหลอดทดลอง ที่พบว่าเมื่อเติมผงถ่านกัมมันต์ในอาหารเพาะเลี้ยงจะทำให้การเจริญของหัวลดลง 25 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของผงถ่านกัมมันต์ จะมีผลลดเปอร์เซ็นต์การเกิดหัว (Dantu และ Bhojwani 1994) ส่วนผลที่เกิดในส่วนของใบ พบว่าได้รับอิทธิพลจาก BA เนื่องจากปริมาณของ BA มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการแก่ของใบ ซึ่ง BA ความเข้มข้นเพียง 0.1 ไมโครโมลาร์ มีผลต่อการชะลอการแก่ของใบ (Zavaleta-Mancera และคณะ 2007) เมื่อเทียบกับปริมาณ BA ที่รับในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากการทดลองนี้ที่มีปริมาณสูงมาก อยู่ในช่วง 10-35 ไมโครโมลาร์ จึงเป็นไปได้ว่าแม้จะถูกดูดซับโดยผงถ่านกัมมันต์ แต่ก็ยังคงมีปริมาณเหลืออยู่เพียงพอที่จะช่วยในการชะลอการแก่ของใบได้

## บทาวิทย์กัญทิลาปากร ดงอนดิษดิษฐ์ การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต

จากการทดลองพบว่าการทำงานร่วมกันของน้ำตาลซูโครส และ BA ให้ผลดีกว่า ผลของสารตัวใดตัวหนึ่งต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต (ผลของน้ำตาลซูโครสที่ดีที่สุด น้ำหนักสด 108.4-198.7 มิลลิกรัมต่อหัว เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.60-5.95 มิลลิเมตรต่อหัว, ผลของ BA ที่ดีที่สุด น้ำหนักสด 74.9-78.0 มิลลิกรัมต่อหัว เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.43-4.68 มิลลิเมตรต่อหัว, ผลของน้ำตาลซูโครส และ BA ไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ น้ำหนักสด 1,041 มิลลิกรัมต่อหัว เส้นผ่าศูนย์กลาง 12.74 มิลลิเมตรต่อหัว, ผลของน้ำตาลซูโครส และ BA ใส่ผงถ่านกัมมันต์ น้ำหนักสด 214 มิลลิกรัมต่อหัว เส้นผ่าศูนย์กลาง 6.45 มิลลิเมตรต่อหัว) สอดคล้องกับที่เคยมีรายงานว่า BA เป็นสาระสำคัญ มีบทบาทในการกระตุ้นให้เกิดหัวในหลอดทดลองของพืชหลายชนิด (Takayama และ Misawa 1982; Nayak และ Naik 2006; Karam และ Al-Majathoub 2000) และเมื่อร่วมกับปริมาณน้ำตาลที่สูงที่มีผลต่อการเกิด และการเจริญหัวในหลอดทดลองของพืชสะสมอาหารหลายชนิด (Hartinie และ Jualang 2007; Mares และคณะ 1985; Dantu และ Bhojwani 1995; Yu และคณะ 2000; Takayama และ Misawa 1979) ซึ่งสนับสนุนให้มีการเจริญของหัวมากกว่าการใช้เพียงน้ำตาลซูโครสในปริมาณมาก หรือ BA เพียงอย่างเดียว ซึ่งคล้ายกับการทดลองของ Omokolo และคณะ (2003) ที่ทำการทดลองใน

ต้นแทนเนีย (*Xanthosoma sagittifolium* L.) โดยใช้ BA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ น้ำตาล 80 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดหัว และมีน้ำหนักของหัวสูงที่สุด

อาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัมต่อลิตร มีผลไปลดการเจริญของหัวบอน เมื่อเทียบกับการไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของผงถ่านกัมมันต์ ในการดูดซับสารต่างๆ ทั้งสารเร่งการเติบโต และสารยับยั้งการเติบโต แต่ทั้งนี้ต้องขึ้นกับความ สมดุลของสารต่างๆ ที่มีในอาหารเพาะเลี้ยง และชนิดพืช ซึ่งอาจเพิ่ม หรือลดการเจริญเติบโตของ พืชก็ได้เช่น การทดสอบการออกรากของถั่วเขียว (mung bean) โดยการนำไปเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี IBA ความเข้มข้น  $10^{-4}$ - $10^{-3}$  ไมโครโมลาร์ พบว่ามีผลอย่างมากในการกระตุ้นให้เกิดรากใน หลอดทดลอง แต่เมื่อใส่ผงถ่านกัมมันต์จะพบว่าเกิดการออกรากจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Arthur และ คณะ 2006) แต่การเพาะเลี้ยงต้น common rush (*Juncus effusus* L.) ในอาหาร MS สูตรที่ประกอบ ไปด้วย NAA ความเข้มข้น 5.37 ไมโครโมลาร์ เปรียบเทียบกับสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น 5.37 ไมโครโมลาร์ และผงถ่านกัมมันต์ พบว่าต้น common rush ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่มีผงถ่านกัมมันต์ มีความยาวยอด ความยาวราก และน้ำหนักสด มากกว่าต้นที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์ (Sarma และ Rogers 2000) หรือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นคองคิง (*Gloriosa superba* L.) ในอาหาร MS สูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 8 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ แต่เมื่อเติมน้ำมะพร้าว และผงถ่านกัมมันต์ลงใน อาหาร จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นเพิ่มเป็น 15 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (Sayeed Hassan และ Roy 2005) หรือการชักนำให้เกิดหัวของมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) ในหลอดทดลองก็พบว่า การเพิ่มผง ถ่านกัมมันต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงจะทำให้อัตราการเกิดหัว และขนาดของหัวสูงที่สุด (Bizari และ คณะ 1995) ซึ่งให้ผลส่งเสริมการเจริญ แตกต่างจากการทดลองในต้นถั่วเขียว แต่สิ่งที่ชัดเจนอย่าง หนึ่งคือผงถ่านกัมมันต์มีผลต่อการเจริญของรากพืชหลายชนิด (Sarma และ Rogers 2000; Arthur และคณะ 2006; Fridborg และคณะ 1978; Poomima และ Ravishankar 2007) ในการทดลองนี้จะ พบว่ารากจะเกิดขึ้นมากในอาหารสูตรที่มีผงถ่านกัมมันต์ร่วมด้วย และจะมีจำนวนรากลดลงเมื่อเพิ่ม ปริมาณ BA

จำนวนใบ และใบที่มีสีเขียว มีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก โดยมีแนวโน้มที่จะมีใบที่มีสีเขียว ลดลงถ้าเพิ่มปริมาณน้ำตาล ซึ่งเป็นผลมาจากการลดลงของค่าออสโมติกโพเทนเชียล (water potential) ในอาหาร (Karam และ Al-Majathoub 2000) ทำให้เกิดภาวะเครียด (stress) ส่งผลให้ใบเข้าสู่ระยะ ชราภาพ (senescence) เร็วขึ้น (สมบุญ 2544)

## การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของสภาพของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยา

### แนวคิด

จากการนำยอดมาเลี้ยงในอาหาร MS สูตรที่เติมซูโครส 60 กรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต ที่ได้จากการทดลองที่ 2.4 มาเลี้ยงในสภาพอาหารลักษณะต่างๆ พบว่าอาหารสูตรที่เลี้ยงในอาหารเหลวในสภาพเขย่าสามารถชักนำให้เกิดหัวมากที่สุด ทั้งนี้ลักษณะของการเลี้ยงในอาหารเหลวโดยปกติเนื้อเยื่อของพืชสามารถสัมผัสอาหารได้ทั่วถึง เมื่อประกอบกับสภาพเขย่าตลอดเวลาจะทำให้ธาตุอาหารต่างๆ และสารเร่งการเติบโต หมุนเวียนโดยมีความเข้มข้นเท่ากันทั่วขวด เป็นการให้อาหารเพาะเลี้ยงกับพืชอย่างมีประสิทธิภาพ พร้อมทั้งทำให้สารพิษกระจายออกจากเนื้อเยื่อ ทำให้เนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารเหลวเจริญได้ดี (บุญยืน 2544) คล้ายกับระบบการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อที่มีขนาดใหญ่ที่เรียกว่า ระบบไบโอรีแอกเตอร์ (bioreactor systems) ซึ่งมีการนำไปทดลองในการผลิตพืชชนิดต่างๆ ในหลอดทดลอง เช่น การผลิตรากของโสมจีน (Jeong และคณะ 2006) โดยปกติแล้ววิธีการเลี้ยงในอาหารเหลวจะมีการพัฒนาเกิดเป็นอวัยวะต่างๆ (organogenesis) ของพืช หรือเกิดกระบวนการพัฒนาไปเป็นเอ็มบริโอ (embryogenesis) ได้เป็นต้นอ่อน (somatic embryo) ก่อนที่จะเจริญไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของพืช และส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง (รังสฤษฎ์ 2541)

การทดลองนี้นำชิ้นส่วนของพืชได้พัฒนาเป็นอวัยวะส่วนยอดมาเลี้ยง ในอาหารสภาพต่างๆ แม้ว่าอาหารเหลวในสภาพเขย่าตลอดเวลาจะให้ผลในการเกิดหัวมากที่สุด แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้วพบว่าไม่แตกต่างกับการเลี้ยงในอาหารเหลวสภาพนิ่ง โดยปกติข้อเสียของการเลี้ยงในอาหารเหลวสภาพนิ่ง คือเนื้อเยื่อจะขาดออกซิเจนทำให้การเจริญไม่ดี และตายได้ (บุญยืน 2544) แต่การทดลองนี้ปริมาณอาหารที่ใส่มี 30 มิลลิลิตร จึงทำให้ชิ้นส่วนของยอดมีเพียงบางส่วนจมลงในอาหาร ทำให้ลดปัญหานี้ได้ ทำให้ได้ค่าการเจริญของหัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

จำนวนยอดจะเกิดมากที่สุดในอาหารเหลวสภาพนิ่ง ซึ่งตรงกับผลการทดลองของ Ebrahim (2004) ที่ทำการเพาะเลี้ยงคาล่าลิลลี่ (*Zantedeschia aethiopica*) ในอาหารที่มีวุ้นระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ในอาหารที่ปราศจากวุ้นสามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก ซึ่งได้ให้เหตุผลไว้ 3 ข้อ คือข้อหนึ่งเนื้อเยื่อสามารถสัมผัสอาหารได้ดี ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของสารเร่งการเติบโต ข้อสองมีการกระจายของสารอาหารดี และข้อสามอากาศสามารถละลายในอาหารเหลวได้ดีกว่าอาหารแข็ง ถึงแม้ว่าจำนวนยอดจะมากเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสภาพนิ่ง แต่เมื่อเปรียบเทียบกันในเรื่องการพัฒนาของยอด พบว่าในอาหารเหลวสภาพเขย่าตลอดเวลาเจริญเติบโตดีกว่า สิ่งที่แตกต่างกันของการทดลองของ Ebrahim (2004) กับการทดลองนี้ คือคาล่าลิลลี่ไม่มีราก

เกิดขึ้นในอาหารเหลว ในขณะที่การทดลองนี้บ่อนพระยาเสวตมีรากเกิดขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสภาพเขย่า

ในส่วนของใบพบว่า เมื่อลดปริมาณวันลง มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของใบมากขึ้น และมีความเด่นชัดในเรื่องการชราภาพของใบ โดยต้นที่เลี้ยงในอาหารแข็งจะมีใบที่มีสีเขียวน้อยกว่าการเลี้ยงแบบอื่นๆ เนื่องมาจากการกระจายตัวของสารในอาหารแข็งไม่ดี ทำให้การได้รับสารอาหารและสารเร่งการเติบโตต่างๆ ไม่ดี (รังสฤษดิ์ 2541) ทำให้ชราภาพเร็วกว่าการเลี้ยงแบบอื่นๆ

**การทดลองที่ 6 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กับระยะเวลาการเก็บรักษา ต่อการเจริญของหัวเมื่อนำออกปลูก**

จากการเพาะเลี้ยงยอดในอาหาร MS สูตรที่มี BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ และน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร แบ่งเป็นกลุ่มที่มีผงถ่านกัมมันต์ในอาหาร และกลุ่มที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์ พบว่ากลุ่มที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์จะมีขนาดหัวใหญ่กว่าอยู่ในช่วง 5-15 มิลลิเมตร ในขณะที่กลุ่มที่มีผงถ่านกัมมันต์จะมีหัวที่เล็กกว่าอยู่ในช่วง 1-10 มิลลิเมตร ซึ่งให้ผลไปทางเดียวกับการทดลองขั้นต้น (การทดลองที่ 4) คือกลุ่มที่ได้รับผงถ่านกัมมันต์จะมีขนาดเล็กกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับผงถ่านกัมมันต์ จากนั้นทำการแบ่งให้ได้กลุ่มละ 2 ขนาด และทำการแบ่งในแต่ละขนาดให้เป็นกลุ่มกลุ่มละเท่าๆ กัน 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่หนึ่งปลูกทันที กลุ่มที่สองเก็บไว้ 2 สัปดาห์ จึงนำไปปลูก และกลุ่มที่สามเก็บไว้ 4 สัปดาห์ จึงนำไปปลูก พบว่ามีเพียงกลุ่มที่ปลูกทันทีเท่านั้นที่หัวบอนสามารถเจริญเติบโตได้ ส่วนในกลุ่มที่เก็บไว้ 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์ เมื่อนำไปปลูกพบว่าหัวจะค่อยๆ นิ่มลง และเน่าไปในที่สุด ทั้งนี้การเก็บรักษาหัวของบอนที่เก็บจากสวนสามารถเก็บได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 21.11-26.67 องศาเซลเซียส ซึ่งเก็บได้มากกว่า 6 สัปดาห์ แต่ทั้งนี้ต้องขึ้นกับความสัมพันธ์ของความชื้น อุณหภูมิ และขนาดของหัว (Evans และคณะ 1993; คีเรก 2548)

หลังจากเพาะเลี้ยงบอนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าหัวที่ได้จากทุกชุดการทดลอง มีเปอร์เซ็นต์การงอก 100 เปอร์เซ็นต์ และหัวที่มีขนาดใหญ่ (ใหญ่กว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร สำหรับหัวที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ และใหญ่กว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร สำหรับหัวที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่เติมผงถ่านกัมมันต์) จะมีใบจำนวนมากกว่า ในส่วนลักษณะของใบในกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่มีผงถ่านกัมมันต์ใบจะมีขนาดใหญ่กว่า และมีการพัฒนาของสีใบได้เร็วอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้การเจริญเติบโต และพัฒนาของบอนสี จะขึ้นกับความสมบูรณ์ของหัวบอนที่นำมาปลูก (อุไร 2538) และเมื่อทำการศึกษาต่อในเรื่องกายวิภาคของหัวบอนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าหัวบอนที่เลี้ยงในอาหารที่มีผงถ่านกัมมันต์จะมีชั้นอีพิเดอมิสหลายชั้น เหมือนกับหัวที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัว ในขณะที่หัวบอนที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร

สูตรที่ปราศจากผงถ่านกัมมันต์จะมีชั้นอีพิเดอมิสเพียง 1 หรือ 2 ชั้นเท่านั้น ซึ่งจะมีผลต่อการเก็บรักษา เนื่องจากจะเกิดบาดแผล และสูญเสียความชื้นได้ง่าย (สมบุญ 2544) นอกจากนี้โคปคิ ปริมาณน้ำตาลหรือแป้งจะค่อยๆ ลดลงเนื่องจากถูกนำไปใช้ในกระบวนการหายใจ (จริงแท้ 2546) ทำให้การเจริญเติบโตของหัวบอนที่ได้จากการเลี้ยงขอลในอาหารที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์เจริญเติบโตได้ช้ากว่าหัวบอนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงขอลในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีผงถ่านกัมมันต์

### การทดลองที่ 7 ศึกษาการวิภาคของหัวที่ได้จากสภาพการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

จากการนำหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพของอาหารที่แตกต่างกัน คืออาหารแข็ง อาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลวในสภาพหนึ่ง และอาหารเหลวที่มีการเขย่า เปรียบเทียบหัวบอนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในกระถาง นำมาตัดเนื้อเยื่อ ศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าการย้อมด้วยไอโอดีน และ safranin พบว่าเนื้อเยื่อของหัวบอนจะติดสีน้ำเงินเนื่องจากภายในมีเม็ดแป้งอยู่เป็นจำนวนมาก ส่วนที่เป็นแคลลัสจะไม่ติดสีน้ำเงิน แต่จะติดสีแดงของ safranin เนื่องจาก safranin จะติดเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นผนังเซลล์ที่มีลิกนิน (lignin) คิวทิน (cutin) และซูเบอร์ริน (suberin) เป็นสีแดง โครงสร้างภายในเซลล์ที่ติดสี safranin ได้แก่ โกรโมโซม นิวคลีโอลัส (nucleolus) และเซนโทรโซม (centrosome) เป็นต้น (สถาพร และคณะ 2551)

และเมื่อทำการศึกษานำหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มีผงถ่านกัมมันต์จะมีผนังชั้นคอร์กหนา มีอีพิเดอมิสหลายชั้นเหมือนกับหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในกระถาง ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารอื่นๆ ที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์ ในสภาพอาหารแข็งหรืออาหารเหลวจะมีชั้นคอร์กบาง มีอีพิเดอมิสชั้นเดียว ซึ่งการแบ่งเซลล์ของชั้นอีพิเดอมิสมีสองลักษณะคือ การแบ่งเซลล์แบบแอนติคลินอล (anticlinal division) ซึ่งจะทำได้ชั้นอีพิเดอมิสชั้นเดียว และการแบ่งเซลล์แบบเพอริคลินอล (periclinal division) ซึ่งจะทำได้อีพิเดอมิสหลายชั้น (พวงผกา 2548) และการมีชั้นอีพิเดอมิสหลายชั้นทำให้สามารถลดการสูญเสียน้ำ ป้องกันอันตรายจากการกระทบกระเทือน ป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรค และทำหน้าที่เก็บน้ำ (water storage cell) ซึ่งมักจะมีสารเมือก (mucilage) อยู่ด้วย (เทียมใจ 2546) โดยอาจเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เมื่อนำหัวไปปลูกสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าหัวที่มีชั้นอีพิเดอมิสชั้นเดียว

## บทที่ 6

### สรุปผลการทดลอง

**การทดลองที่ 1 การศึกษาความผันแปรของต้นบอนพระยาเสวตที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

ความผันแปรของบอนพระยาเสวตที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แบ่งตามลักษณะรูปร่างของใบ และอัตราระหว่างสีเขียวกับสีขาวของใบ สามารถแบ่งเป็น 6 ลักษณะคือ

- บอนใบไทย สีขาวมากกว่าสีเขียว
- บอนใบกลม สีขาวมากกว่าสีเขียว
- บอนใบไทย สีขาวเท่ากับสีเขียว
- บอนใบกลม สีขาวเท่ากับสีเขียว
- บอนใบไทย สีขาวน้อยกว่าสีเขียว
- บอนใบกลม สีขาวน้อยกว่าสีเขียว

ซึ่งลักษณะที่เกิดมากที่สุด 48 เปอร์เซ็นต์ คือ บอนใบไทย สีขาวเท่ากับสีเขียว โดยเป็นบอนที่มีลักษณะเดียวกับต้นแม่ที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เมื่อทำการวัดขนาด และคำนวณอัตราส่วนของใบทั้ง ความกว้างใบ ความยาวใบ และความลึกของโคนใบ พบว่ามีบอนเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ที่มีอัตราส่วนของใบ และสี คล้ายคลึงกับต้นแม่ (ความกว้างของใบ : ความยาวของใบ : ความลึกของหูใบ = 3 : 6 : 1)

**การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครส และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต**

การชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวตในหลอดทดลอง โดยนำยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรที่ปรับระดับของน้ำตาลซูโครสเป็น 20, 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมและไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ พบว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลองของบอนพระยาเสวตคือ อาหาร MS สูตรที่มีน้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการใส่ผงถ่านกัมมันต์ โดยมีน้ำหนักสด 198.7 มิลลิกรัมต่อหัว เส้นผ่าศูนย์กลาง 5.95 มิลลิเมตรต่อหัว โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 15.4 รากต่อยอดเริ่มต้น มี

จำนวนชอคเฉลี่ย 1.8 ชอคต่อชอคเริ่มต้น จำนวนใบทั้งหมด 3.4 ใบต่อชอคเริ่มต้น และมีจำนวนใบสีเขียวเฉลี่ย 1.3 ใบต่อชอคเริ่มต้น

### การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของปริมาณ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต

การชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวตในหลอดทดลอง โดยนำชอคที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรที่ปรับระดับสารเร่งการเติบโต BA ความเข้มข้น 10, 20, 25, 30 และ 35 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการใส่และไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ พบว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลองของบอนพระยาเสวตคือ อาหาร MS สูตรที่มี BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ โดยให้น้ำหนักสด 78.0 มิลลิกรัมต่อหัว และมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.50 มิลลิเมตรต่อหัว โดยมีจำนวนชอคเฉลี่ย 4.6 ชอคต่อชอคเริ่มต้น จำนวนใบทั้งหมดเฉลี่ย 5.7 ใบต่อชอคเริ่มต้น และจำนวนใบที่มีสีเขียวเฉลี่ย 5.1 ใบต่อชอคเริ่มต้น แต่จะไม่พบรากเกิดขึ้น

### การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ BA และผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต

การชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวตในหลอดทดลอง โดยนำชอคที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรที่ปรับระดับของน้ำตาลซูโครสเป็น 60 และ 80 กรัมต่อลิตร (ระดับน้ำตาลซูโครสที่ทำให้การเจริญของหัวดีที่สุดจากการทดลองที่ 2.2) BA ความเข้มข้น 10, 20 และ 25 ไมโครโมลาร์ (ระดับความเข้มข้นของ BA ที่ทำให้การเจริญของหัวดีที่สุดจากการทดลองที่ 2.3) ร่วมกับการใส่และไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ พบว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลองของบอนพระยาเสวตคือ อาหาร MS สูตรที่มีน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ โดยให้น้ำหนักสด 1.041 กรัมต่อหัว และมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.74 มิลลิเมตรต่อหัว โดยมีชอคเฉลี่ยมากที่สุด 12.7 ชอคต่อชอคเริ่มต้น ในส่วนใบทั้งหมด และใบที่มีสีเขียว ไม่แตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ และมีรากเกิดขึ้นเฉลี่ย 0.7 รากต่อหัว

### การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของสภาพของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวต

การชักนำให้เกิดหัวของบอนพระยาเสวตในหลอดทดลอง โดยนำชอคที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร และ BA ความ

เข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (จากการทดลองที่ 2.4) ในสภาพของอาหาร 4 ลักษณะ คือ อาหารแข็ง (ใส่ไขมัน 5.8 กรัมต่อลิตร) อาหารกึ่งแข็ง (ใส่ไขมัน 2.9 กรัมต่อลิตร) อาหารเหลวในสภาพนิ่ง และอาหารเหลวในสภาพเขย่า เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของห้วบอนในหลอดทดลอง พบว่าบอนที่อยู่ในอาหารเหลวในสภาพเขย่าให้ผลต่อการชักนำให้เกิดห้วมากที่สุด โดยมีน้ำหนักของห้ว 2.61 กรัมต่อห้ว และเส้นผ่าศูนย์กลาง 19.01 มิลลิเมตรต่อห้ว เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงในอาหารเหลวสภาพนิ่ง (น้ำหนัก 2.45 กรัมต่อห้ว เส้นผ่าศูนย์กลาง 17.32 มิลลิเมตรต่อห้ว) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อาหารเหลวสภาพนิ่งมีผลต่อการชักนำให้เกิดยอด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 22.4 ยอดต่อยอดเริ่มต้น แต่อาหารเหลวสภาพเขย่ามีผลเพิ่มการเกิดราก จำนวนใบทั้งหมดและใบสีเขียว ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ

#### การทดลองที่ 6 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของห้วที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กับระยะเวลาการเก็บรักษา ต่อการเจริญของห้วเมื่อนำออกปลูก

เมื่อนำห้วบอนพระยาเสวตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรที่ให้ผลต่อการเจริญของห้วมากที่สุด (อาหารเหลวสูตรที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ แบ่งเป็นกลุ่มที่เติมผงถ่านกัมมันต์ และกลุ่มที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ เขย่าด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที) หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่เติมผงถ่านกัมมันต์สามารถแบ่งเป็นกลุ่ม โดยอาศัยเส้นผ่าศูนย์กลางของห้วได้เป็นสองกลุ่ม คือ ห้วที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร และกลุ่มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร ส่วนในกลุ่มที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์แบ่งได้เป็น กลุ่มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร และกลุ่มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร

นำห้วที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ย้ายลงปลูกตามระยะเวลา (ปลูกทันที เก็บที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และเก็บที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์) พบว่ามีเพียงการนำห้วลงปลูกทันทีเท่านั้นที่ห้วบอนงอก และเติบโตได้ ส่วนห้วบอนที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ ห้วบอนไม่สามารถงอก และเติบโตได้

เมื่อเลี้ยงต้นบอนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นบอนที่เจริญมาจากกลุ่มที่นำห้วบอนลงปลูกทันที ทุกขนาดมีเปอร์เซ็นต์การงอก 100 เปอร์เซ็นต์

จำนวนใบมีจำนวนมากในกลุ่มของต้นที่เจริญมาจากห้วที่มีขนาดใหญ่คือ ขนาดห้วบอนที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร สำหรับกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์ มีจำนวนใบเฉลี่ย 10.47 ใบต่อต้น และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของห้วบอนมากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร สำหรับกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารที่มีผงถ่านกัมมันต์ มีจำนวนใบเฉลี่ย 12.25 ใบต่อต้น

การพัฒนาสีของใบ พบว่ามีการพัฒนาสีมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ในทุกกลุ่มการทดลอง ด้านขนาดของใบ พบว่ากลุ่มที่เลี้ยงในอาหารที่มีผงถ่านกัมมันต์จะมีขนาดของใบเฉลี่ยใหญ่กว่ากลุ่มที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์อย่างมีนัยสำคัญ

#### การทดลองที่ 7 ศึกษากายวิภาคของหัวที่ได้จากสภาพการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

นำหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพของอาหารที่แตกต่างกัน (อาหารแข็ง อาหารกึ่งแข็ง และอาหารเหลวในสภาพนิ่ง) แคลลัส และหัวบอนที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัว นำมาตัดเนื้อเยื่อ ศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่ามีเพียงแคลลัสเท่านั้นที่สามารถพบเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ ซึ่งมีคลอโรพลาสต์กระจายอยู่ทั่วไปในเซลล์

หัวบอนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และหัวที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัว จะพบชั้นของคอร์ก คอร์กเทกซ์ และพิต โดยชั้นนอกเป็นส่วนของคอร์กจะประกอบด้วยคอร์กเซลล์ และคอร์กแคมเบียม ส่วนถัดไปเป็นส่วนของคอร์กเทกซ์ที่มีเซลล์พาราคีมา และส่วนในสุดเป็นส่วนของพิต ซึ่งมีเซลล์พาราคีมาที่มีเม็ดแป้ง เรียกว่า แอมิโลพลาสต์

หัวที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MS สูตรที่ไม่มีผงถ่านกัมมันต์นี้มีชั้นของคอร์กที่บาง มีเนื้อเยื่อผิว 1 ชั้น แต่เซลล์เนื้อเยื่อผิวมีขนาดใหญ่ ในขณะที่หัวบอนที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MS สูตรที่มีผงถ่านกัมมันต์มีชั้นของคอร์กที่หนา มีเนื้อเยื่อผิวหลายชั้น และเซลล์เนื้อเยื่อผิวมีขนาดเล็ก ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับหัวบอนที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัว

## บรรณานุกรม

### ภาษาไทย

จริงแท้ สิริพานิช. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. พิมพ์ครั้งที่ 5.

กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546.

เจริญ เจริญสุด. บอนสีใบสวย. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์อุดมศึกษา, 2525.

ชุติมา คุณาไทย. “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสี.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาเกษตรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2526.

ณิภุศิริ สุขสุวรรณ และภาวณา อัสวะประกา. “การจัดการผลผลิตไม้ดอกไม้ประดับ.” ใน เอกสารการสอนชุดวิชาการจัดการผลผลิตพืช หน่วยที่ 8-15 สาขาวิชาส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. 195-230. นนทบุรี: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, 2548.

ศิริเรก ทองอร่าม. “การขยายพันธุ์พืช โดยการแบ่งและการแยก.” ใน เอกสารการสอนชุดวิชาการปรับปรุงพันธุ์พืชและการขยายพันธุ์พืช หน่วยที่ 8-15 สาขาวิชาส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. พิมพ์ครั้งที่ 8. 343-417. นนทบุรี: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, 2548.

เทียมใจ คมกฤต. กายวิภาคของพุ่มไม้. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546

นงลักษณ์ อินทองงาม. “การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเซลล์วิทยาของบอนสี (*Caladium bicolor* Vent.)” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาเกษตรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2527.

บุญนาค สีสด. การปลูกบอนสี. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ บริษัท เพาเวอร์ วิ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด, 2544.

บุญยืน กิจวิจารณ์. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น: ห้างหุ้นส่วนจำกัด โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, 2544.

พิชาน. ราชินีแห่งไม้ใบ บอนสี. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แนวเกษตรกรรม, 2549.

พรเทพ เขียวศิลป์. “การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสี.” การศึกษารายบุคคล วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2547.

- พิรเดช ทองอำไพ. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: วิจัยการพิมพ์, 2537.
- พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง. กายวิภาคและสัณฐานวิทยาของพืชมีดอก. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ท็อป, 2548.
- ภาณุ เรืองจันทร์. "การผลิตหัวข้อยลิต์ในหลอดทดลอง." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2533.
- รังสฤษฎ์ กาวิตะ. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2541.
- ร้อยแปดพรรณไม้ไทย. บอนสี [Online]. Accessed 28 กันยายน 2549. Available from <http://www.panmai.com/Caladium/Caladium.htm>.
- วิไลลักษณ์ ชนะจิตร และ จุติมา สุคนธ์วิมลมาลย์. การขยายพันธุ์ว่านแสงอาทิตย์ในสภาพปลอดเชื้อ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2538.
- เศรษฐมนตร์ กาญจนกุล. ร้อยพรรณพฤกษา บอนสี. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์เศรษฐศิลป์, 2550.
- ตกาวิรัตน์ เมืองงาม. "สมาคมส่งเสริม และอนุรักษ์บอนสีแห่งประเทศไทย มุ่งผลิตลูกไม้ส่งออก" ใน ไม้ดอกไม้ประดับ. 33-40. สมุทรปราการ: บริษัท เมืองเกษตรเมกกาโซน จำกัด, 2550.
- สถาพร บริบูรณ์วัฒน์ ขวัญประเสริฐ พันธุ์ชัย ประเด็น แสงแก้วใส สุกัญญา วัฒนวิเชียร นัทวุฒิจรัสกลาง และอัจฉรา ชรรณถาวร. เทคนิคทางชีววิทยา. [Online]. Accessed 31 มีนาคม 2551. Available from <http://vdo.kku.ac.th/mediacenter/mediacenter-uploads/libs/html/1197/index.htm>.
- สมาคมบอนสีแห่งประเทศไทย. บอนสี ฉบับสมาคมบอนสีแห่งประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), 2540.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. สรีรวิทยาของพืช. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2544.
- สิรินุช ลามศรีจันทร์. การกลายพันธุ์ของพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2540.
- อุไร จิรมงคลการ. บอนสี : ราชนิแห่งไม้ใบ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), 2540.

- อุคร อุณหูมิ และสุขุม วงษ์เอก. “กฎหมายเกี่ยวกับศัตรูพืช และสารควบคุมศัตรูพืช”. ใน เอกสาร  
การสอนชุดวิชาศัตรูพืชเบื้องต้น หน่วยที่ 8-15 สาขาวิชาส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์  
มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. (15-1) – (15-73). นนทบุรี: สำนักพิมพ์  
มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, 2549.
- อรรวรรณ วิชัยลักษณ์. บอนสี. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย  
ไทย จำกัด, 2548.
- อารีย์ ทองภักดี. อนุกรมวิธานพืช. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2546.

### ภาษาต่างประเทศ

- Ahmed, E. U., Hayashi, T., Zhu, Y., Hosokawa, M. and Yazawa, S. “Lower incidence of variants  
in *Caladium bicolor* Ait. Plants propagated by culture of explant from younger tissue.”  
Scientia Horticulturae. 96 (2002): 187-194.
- Ahmed, E. U., Hayashi, T. and Yazawa, S. “Auxins increase the occurrence of leaf color variants  
in *Caladium* regenerated from leaf explants.” Scientia Horticulturae. 100 (2004): 153-  
159.
- ARS Systematic Botanists. Taxon : *Caladium humboldtii* (Raf.) Schott. [Online]. Accessed 21  
February 2006. Available from <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?8337>
- Arthur, G. D., Stirk, W. A. and Straden S. J. “Effect of autoclaving and charcoal on root-  
promoting substances present in water extracts made from gelling agents.” Bioresource  
Technology. 97 (2006): 1942-1950.
- Asiatica. *Caladium humboldtii* ‘Pha Ya Sa Vette’. [Online]. Accessed 4 April 2008. Available  
from [http://www.asiaticanursery.com/index.cfm?fuseaction=plants.plantDetail&  
plant\\_id=734](http://www.asiaticanursery.com/index.cfm?fuseaction=plants.plantDetail&plant_id=734).
- Bayliss, M. W. “Chromosomal variation in plant tissue in culture.” International Review of  
Cytology. 11a (1980): 113-143.
- Bennett, M. D. and Rees, H. “Induced and developmental variation in chromosomes of  
meristematic cells.” Chromosoma. 27 (1969): 226-224.
- Bizarri, M., Borghi, L. and Ranalli, P. “Effect of activated charcoal effects on induction and  
development of microtubers in potato (*Solanum tuberosum* L.)” Annals of Applied  
Biology. 127 (1995): 175-181.

- Cavalier-Smith T. (1981). "The origin and early evolution of the eukaryotic cell, In: Carlile MJ, Collins JF, Moseley BEB (eds)." *Molecular and Cellular Aspects of Microbial Evolution*, Society for General Microbiology Symposium 32, Cambridge: Cambridge University Press, p. 33-84.
- Dahlgren, R. M. T., Clifford, H. T. and Yeo, P. F. *The Families of the Monocotyledons Structure, Evolution and Taxonomy*. Berlin: Springer-Verlag, 1985.
- Dantu, P.K. and Bhojwani, S.S. "*In vitro* corm formation and field evaluation of corm-derived plants of *Gladiolus*." *Scientia Horticulturae*. 61 (1995): 115-129.
- Ebrshim, M. K. H. "Comparison, determination and optimizing the conditions required for rhizome and shoot formation, and flowering of *in vitro* cultured calla explants" *Scientia Horticulturae*. 101 (2004): 305-313.
- Estrada, R., Trovar, P. and Dodds, J.H. "Induction of *in vitro* tubers in a broad range of potato genotypes." *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 7 (1986): 3-10.
- Evans, M. R., Harbaugh, B. K. and Wifret, G. J. "Caladiums as potted and Landscape plants." *Circular 1060*. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 1993.
- Fridborg, G., Pedersen, M., Landstrom, L. and Eriksson, T. "The effect of activated charcoal on tissue cultures: Adsorption of metabolites inhibiting morphogenesis." *Physiologia Plantarum*. 43 (1978): 104-106.
- Gerrits, M.L., Miller, W., Kipnis, H.L., Kolloffel, C., Croes, T and Klerk, G.J. "Blub growth in lily regenerated *in vitro*." *Acta Horticulturae*. 430 (1997): 267-273.
- Han, B. H., Yae, B. W., Yu, J. H. and Peak, K. Y. "Improvement of *in vitro* micropropagation of *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca' by the formation of shoots with abnormally swollen basal plates." *Scientia Horticulturae*. 103 (2005): 351-359.
- Han, B.H., Yu, H.J., Yae, B.W. and Peak, K. Y. "*In vitro* micropropagation of *Lilium longiflorum* 'Georgia' by shoot formation as influenced by addition of liquid medium." *Scientia Horticulturae*. 103 (2004): 39-49.
- Hartinie, M. and Jualang, G. A. "*In vitro* germination and plantlet establishment of *Labisia pumila* (BI.) F. Vill." *Scientia Horticulturae*. 115 (2007): 91-97.
- Hauser, B and Horn, W. "*In vitro* corm formation of *Sparaxis* hybrids." *Acta Horticulturae*. 300 (1992): 169-172.

- Hosoki, T. and Asahira, T. "In vitro propagation of *Narcissus*." HortScience. 15 (1980): 602-603.
- Iglesias, I., Feijoo, M.C. and Fernandez, S.F. "Temperature and photoperiod influences on *in vitro* bulb formation of *Hyacinthoides paivae*." Acta Horticulturae. 486 (1999): 339-342.
- Jeong, C. S., Chakrabarty, D., Hahn, E. J., Lee, H. L and Paek, K. Y. "Effects of oxygen, carbon dioxide and ethylene on growth and bioactive compound production in bioreactor culture of ginseng adventitious roots." Biochemical Engineering Journal. 27 (2006): 252-263.
- Karam, N. S. and Al-Majathoub, M. "Direct shoot regeneration and microtuberization in wild *Cyclamen persicum* Mill. using seedling tissue." Scientia Horticulturae. 86 (2000): 235-246.
- Kim, Y. J., Hasegawa, P. M. and Bressan R. A. "In vitro propagation of Hyacinth." HortScience. 16 (1981): 65-67.
- Kim, S., Guo, D., Jung, D. and Kwon, S. "Multiple shoots regeneration and *in vitro* bulblet formation from garlic callus." Journal Plant Biotechnology. 5(2) (2003): 95-99.
- Lawrence, H. M. Taxonomy of Vascular Plants. New York: The Macmillan Company. 1960.
- Li, S. J., Deng, X. M. Mao, H.Z. and Hong, Y. "Enhanced antocyanin synthesis in foliage plant *Caladium bicolor*." Plant Cell Report. 23 (2005): 716-720.
- Lian, M. L., Chakrabaty. D., and Paek, K. Y. "Growth of *Lilium* Oriental Hybrid 'Casablanca' bulblet using bioreactor culture." Scientia Horticulturae. 97 (2003): 41-48.
- Mares, D. J., Sowokinos, J. R. and Hawker J. S. "Carbohydrate metabolism in developing potato tubers." Li PH (ed) Potato Physiology. (1985) 279-327
- Mujib, A., Bandyopadhyay, S. and Ghosh, P. D. "Tissue culture derived plantlet variation in *Caladium bicolor* L. – An Important ornamental." Plant Tissue Culture. 10(2) (2000): 149-155.
- Mukhopadhyay, M. J., Sengupta, P., Mukhopadhyay, S. and Sen, S. "In vitro stable regeneration of onion and garlic from suspension culture and chromosomal instability in solid callus culture." Scientia Horticulturae. 104 (2005): 1-9.
- Murashige, T. and Skoog, F. "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures." Physiologia Plantarum. 15 (1962): 473-497.

- Nayak, S. and Naik, P. K. "Factors effecting *in vitro* microrhizome formation and growth in *Curcuma longa* L. and improved field performance of micropropagated plants." Science Asia. 32 (2006): 31-37.
- Ng, S.Y.C. "In vitro tuberization in white yam (*Dioscorea rotundata* Poir)." Plant Cell Tissue and Organ Culture. 14 (1988):121-128.
- Omokolo, N. D., Boudjeko, J.J. and Takadong, T. "In vitro tuberization of *Xanthosoma sagittifolium* L. Schott: effect of phytohormone, sucrose, nitrogen and photoperiod." Scientia Horticulturae. 98 (2003): 337-345.
- Peck, D. E. and Cumming, B. G. "Beneficial effects of activated charcoal on bulblet production in tissue cultures of *Muscari armeniacum*." Plant cell Tissue and Organ Culture. 6(1) (1986): 9-14.
- Poornima, G. N. and Ravishankar, R. V. "In vitro propagation of wild yams, *Dioscorea oppositifolia* (Linn) and *Dioscorea pentaphylla* (Linn)." African Journal of Biotechnology. 6 (2007): 2348-2352.
- Porter, C. L. Taxonomy of Flowering Plants. New York: W. H. Freeman and Company. 1967.
- Ringe, F. and Nitsch, J. P. "Condition leading to flower formation on excised *begonia* flagments cultured *in vitro*." Plant Cell Physiology. 9 (1968): 639-652.
- Sarma, K. S. and Rogers S. M. D. "Plant regeneration from seedling explants of *Juncus effuses*." Aquatic Botany. 68 (2000): 239-247.
- Sayed Hassan, A. K. M. and Roy, S. K. "Micropropagation of *Gloriosa superba* L. through high frequency shoot proliferation." Plant Tissue Culture. 15(1) (2005): 67-74.
- Slabbert, M. M. and Niederwieser, J. G. "In vitro bulblet production of *Lachenalia*." Plant Cell Report. 18 (1999): 620-624.
- Skoog, F. and Miller, C. O. "Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues." Symposia of the Society for Experimental Biology. 11 (1957): 118-130.
- Somkanea, U., Thepsithar, C. and Thongpukdee, A. "Somaclonal variation of caladium [*Caladium bicolor* (Ait.) Vent.] from *in vitro* propagation." Acta Horticulturae. 755 (2007): 375-364.
- Takayama, S. and Misawa, M. "Differentiation in *Lilium* bulb scales grown *in vitro*: Effect of various cultural conditions." Physiologia Plantarum. 46 (1979): 184-190.

- Takayama, S. and Misawa, M. "Regulation of organ formation by cytokinin and auxin in *Lilium* bulbscales grown *in vitro*." Plant & Cell Physiology. 23(1) (1982): 67-74.
- Tropiflora Cargo Report. Terrarium page. [Online]. Accessed 2 September 2005. Available from <http://www.tropiflora.com/creport/cr115-2/p6.html>.
- Wang, P. and Hu, C. "*In vitro* mass tuberization and virus-free seed-potato production in Taiwan." American Journal of Potato Research. 59 (1982): 33-37.
- Wan, Y., Murphy, M. L., Rayburn, A. L. and Wildholm, J. M. "Ploidy levels of plants regenerated from mixed ploidy maize callus culture." In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 28 (1992): 87-89.
- [www.brentandbeckysbulbs.com](http://www.brentandbeckysbulbs.com). Caladium-humboldtii (Pha Ya Sa Vette). [Online]. Accessed 4 April 2008. Available from <http://www.brentandbeckysbulbs.com/summer/productview/?sku=60-25>.
- Yamamoto, Y. and Matsumoto, O. "*In vitro* corm formation and growth habit of propagated seed corm in taro (*Colocasia esculenta* Schott.)." Japanese Society for Horticultural Science Journal. 61(1) (1992): 55-61.
- Yu, W. C., Joyce, P. J., Cameron, D. C. and McCown, B. H. "Sucrose utilization during potato microtuber growth in bioreactors." Plant Cell Reports. 19 (2000): 407-413.
- Zavaleta-Mancera, H. A., Lopez-Delgado H., Loza-Tavera, H., Mora-Herrera, M., Trevilla-Garcia, C., Vargas-Suarez, M. And Ougham, H. "Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark-senescence." Journal of Plant Physiology. 164 (2007): 1572—1582.
- Zipcodezoo.com. Caladium humboldtii (Caladium). [Online]. Accessed 4 April 2008. Available from [http://zipcodezoo.com/Plants/C/Caladium\\_humboldtii.asp](http://zipcodezoo.com/Plants/C/Caladium_humboldtii.asp).

มหาวิทยาลัยศิลปากร **ภาคผนวก** สงวนลิขสิทธิ์

ภาคผนวก ก  
การเตรียมอาหารและสารเร่งการเติบโต

มหาวิทยาลัยศิลปากร ดงอนลิวสิทธิ์

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)

องค์ประกอบ	มิลลิกรัมต่อลิตร
<b>ธาตุอาหารหลัก (macronutrients)</b>	
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440
KNO <sub>3</sub>	1,900
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,650
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
<b>ธาตุอาหารรอง (micronutrients)</b>	
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.8
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	22.3
KI	0.83
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8.6
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25
<b>สารอินทรีย์ (organic constituents)</b>	
Glycine	2
Myo-Inositol	100
Thiamine-HCl (Vitamin B1)	0.1
Pyridoxine-HCl (Vitamin B6)	0.5
Nicotinic acid	0.5
Na <sub>2</sub> EDTA	37.3

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของอาหารสูตร Ringe และ Nitsch (1968)

องค์ประกอบ	มิลลิกรัมต่อลิตร
<b>ธาตุอาหารหลัก (macronutrients)</b>	
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	125
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	500
KNO <sub>3</sub>	125
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	125
<b>ธาตุอาหารรอง (micronutrients)</b>	
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.85
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	25
KI	1
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	10
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25
<b>สารอินทรีย์ (organic constituents)</b>	
Glycine	2
Myo-Inositol	100
Thiamine-HCl (Vitamin B1)	0.5
Pyridoxine-HCl (Vitamin B6)	0.5
Nicotinic acid	5
Na <sub>2</sub> EDTA	37.25
Folic acid	0.5
Biotin	0.05

### การเตรียมสารละลายเข้มข้นของสารเร่งการเติบโต

1. 6-Benzylaminopurine (BA) ความเข้มข้น 100 ppm  
ละลายสารเร่งการเติบโต BA 100 มิลลิกรัม ใน 0.1 % KOH 1-2 มิลลิลิตร (หรือละลาย  
หมด) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร
2. NAA ( $\alpha$ -Naphthalene acetic acid) ความเข้มข้น 100 ppm  
ละลายสารเร่งการเติบโต NAA 100 มิลลิกรัม ใน 0.1 % KOH 1-2 มิลลิลิตร (หรือ  
ละลายหมด) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

หมายเหตุ      BA ( $C_{12}H_{11}N_5$ ) มีมวลโมเลกุล 225.20  
                    NAA ( $C_{12}H_{10}O_2$ ) มีมวลโมเลกุล 186.20

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์  
ภาคผนวก ข  
การเตรียมเนื้อเยื่อ และการย้อมสี เพื่อศึกษาได้ก้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

## 1. การเตรียมเนื้อเยื่อ และการย้อมสี เพื่อส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

### วัสดุ-อุปกรณ์

1. ใบมีด โคนคมๆ
2. แผ่นสไลด์ และแผ่นปิดสไลด์
3. สารละลายไอโอดีน (I<sub>2</sub>)
4. Safranin O
5. กระจกนาฬิกา
6. อ่างใส่น้ำ

### วิธีทำ

#### ขั้นที่ 1 Free-hand-sectioning

ตัดเนื้อเยื่อให้เป็นชิ้นบางๆ ตามแนวขวาง (transverse section, cross section, x.s.) ตัดหลายๆ ชิ้น นำมาแช่ลงในกระจกนาฬิกาที่มีน้ำกลั่นอยู่ ใช้พู่กันเลือกเอาชิ้นที่บางที่สุดมา 1-2 ชิ้น วางบนกระจกสไลด์ ปิดแผ่นปิดสไลด์ จากนั้นทำ irrigate

#### ขั้นที่ 2 Irrigated whole mount

หยดของเหลวลงไปที่ขอบด้านหนึ่งของแผ่นปิดสไลด์ แล้วใช้กระดาษทิชชู หรือกระดาษซับดูดออกอีกทางด้านหนึ่ง เพื่อให้ของเหลวใหม่ที่หยดลงไปไหลเข้าไปแทนที่ของเหลวเดิม

ถ้าเป็นเซลล์พืชทั่วไปใช้ Safranin O เซลล์จะติดสีแดง

ถ้าเป็นเม็คน้ำจืดจะย้อมด้วยไอโอดีน เม็คน้ำจืดจะติดสีน้ำเงิน

### หมายเหตุ

#### การเตรียมสี Safranin O

##### สี Safranin O มีวิธีเตรียมดังนี้

1. ละลายสี Safranin O 4 กรัมด้วย methyl cellosolve 200 ml คนจนสีละลายหมด
2. เติมแอลกอฮอล์ 95 % 100 ml และน้ำกลั่น 100 ml ลงในสารละลายข้อ 1
3. ใส่ sodium acetate 4 กรัม และฟอรัมาลิน 8 ml ลงในสารละลายสี แล้วคนให้ทั่ว เก็บในขวดที่มีฝาปิดสนิท ถ้ามีตะกอนมากควรกรองก่อนเก็บ

#### การเตรียมสารละลายไอโอดีน

1. ผสมไอโอดีน 1.0 กรัม กับ โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) 2.0 กรัม ในโถรง

2. ค่อยๆ เติมน้ำกลั่นลงไปผสมไอโอดีนและโพแทสเซียมไอโอไดด์ในโกร่ง ใช้  
สากบดให้ละเอียด จนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกับน้ำกลั่น
3. ปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำกลั่นจนครบ 300 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร **ภาคผนวก ค** สงวนลิขสิทธิ์  
วิธีการคิดคำนวณอัตราส่วนของใบบองพระยาเสวค

วิธีการคำนวณอัตราส่วนของใบบนพระยาเสวตเปรียบเทียบกับความลึกของส่วนฐานใบ (leaf base)

1. การคำนวณความกว้างของใบ

$$\text{อัตราส่วนความกว้างของใบ} = \frac{\text{ความกว้างของใบ}}{\text{ความลึกของฐานใบ}}$$

2. การคำนวณความยาวของใบ

$$\text{อัตราส่วนความยาวของใบ} = \frac{\text{ความยาวของใบ}}{\text{ความลึกของฐานใบ}}$$

3. การคำนวณความลึกของฐานใบ

$$\text{อัตราส่วนความลึกของฐานของใบ} = \frac{\text{ความลึกของฐานใบ}}{\text{ความลึกของฐานใบ}}$$

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ต้นที่	ขนาดใบเฉลี่ย (มิลลิเมตร) *		
	ความกว้างใบ	ความยาวใบ	ความลึกฐานใบ
1	15	35	5
2	22	40	6

\* ค่าเฉลี่ยจากการวัดใบ 5 ใบต่อต้น

$$\begin{aligned} \text{อัตราส่วนความกว้างใบที่ 1} &= 15 \div 5 \\ &= 3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราส่วนความยาวใบที่ 1} &= 35 \div 5 \\ &= 7 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราส่วนความลึกฐานใบที่ 1} &= 5 \div 5 \\ &= 1 \end{aligned}$$

อัตราส่วนของใบบนพระยาเสวตของบอนต้นที่ 1 (กว้าง : ยาว : ลึก) คือ 3 : 7 : 1

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นายรุ่งนรินทร์ สุขอร่าม  
ที่อยู่ บ้านเลขที่ 29/1 หมู่ 3 ถนนทวีวัฒนา-กาญจนภิเษก แขวงทวีวัฒนา เขตทวีวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10170

### ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2544 สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนยอแซฟอุปถัมภ์

พ.ศ. 2547 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา จากมหาวิทยาลัยศิลปากร การศึกษารายบุคคลเรื่อง “การศึกษาเปรียบเทียบความสามารถของ *Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus armatus* ในการลด Orthophosphate ในบ่อบำบัดน้ำเสียและแหล่งน้ำผิวดิน”

พ.ศ. 2548 ศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

วิทยานิพนธ์เรื่อง “การชักนำให้เกิดหัวในหลอดทดลองของบอนพระยาเสวต (*Caladium humboldtii* Schott. cv. Phraya Savet)”

### ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่

Sugaram, R., Thepsithar, C. and Thongpukdee, A. “Effect of N<sup>6</sup>-benzyladenine, sucrose and activated charcoal on *in vitro* tuber formation of *Caladium humboldtii* Schott. ‘Phraya Savet’.” Proceeding: 33<sup>rd</sup> Congress on Science and Technology of Thailand-Science and Technology for Global Sustainability. Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand, 18-20 October 2007.

Sugaram, R., Thepsithar, C. and Thongpukdee, A. “Factors affecting *in vitro* tuber formation of *Caladium humboldtii* Schott. ‘Phraya Savet’.” *Acta Horticulturae*. 755 (2007): 351-356.