บทที่ 4

ผลการทดลอง

การศึกษาการขยายพันธุ์เอื้องน้ำต้นในสภาพปลอดเชื้อ ประกอบด้วยการทดลอง 4 การทดลอง คือ **การทดลองที่ 1 โครงสร้างของเอื้องน้ำต้น การทดลองที่ 2 การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ การทดลองที่ 3 ผลของสูตรอาหารต่อการเพาะเลี้ยงอับเรณู** และ **การทดลองที่ 4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต** ผลการทดลองมีดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1 โครงสร้างของเอื้องน้ำต้น

1.1 โครงสร้างและสัณฐานวิทยาของเอื้องน้ำต้น

การศึกษาโครงสร้างและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเอื้องน้ำต้นเป็นการศึกษาจากส่วนประกอบของต้นพืช ได้แก่ ราก หัว ใบ ดอก และ ฝัก โดยการบันทึกลักษณะดังกล่าวของต้นพืชในระยะที่ส่วนต่าง ๆ เหล่านั้นเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ต้นพืชที่นำมาศึกษานั้นเป็นต้นพืชที่เก็บรวบรวมมาจากแหล่งกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ แล้วนำปลูกเลี้ยงไว้ที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ต้นเอื้องน้ำต้นเหล่านั้นมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังบรรยายไว้ข้างล่างนี้ โดยมีภาพถ่ายและภาพวาดทางพฤกษศาสตร์ของต้นพืชประกอบเพื่อความชัดเจน ดังต่อไปนี้

1.1.1 ราก (root : r) เป็นรากดินในระบบรากฝอย เจริญออกมาจากฐานของลำลูกกล้วย และกระจายอยู่โดยรอบ รากมีสีขาว ลักษณะกลม และเรียวยาว มีขนาดสม่ำเสมอกัน ปลายรากค่อนข้างแหลม (ภาพที่ 1 และ 4) มีจำนวนราก 12 – 28 รากต่อหัว มีเส้นผ่าศูนย์กลาง และ ความยาวรากเป็น 0.08– 0.18 × 14.20 – 33.00 ซม

1.1.2 ลำลูกกล้วย (pseudobulb : pb) ลำลูกกล้วยของเอื้องน้ำต้นเป็นลำต้นแปรรูป เกิดจากการที่ต้นพืชเปลี่ยนรูปร่างและหน้าที่ของลำต้นให้เป็นส่วนสะสมน้ำและอาหาร ส่วนที่แปรรูปคือส่วนโคนของลำต้น ซึ่งมีลักษณะเป็นปล้องที่เกิดต่อกันขึ้นไปเหนือดิน และปล้องที่เกิดการเปลี่ยนแปลงนั้นเป็นปล้องจำนวน 3-5 ปล้อง จากผิวดินขึ้นไป ปล้องที่อยู่โคนสุด 2 ปล้องมีลักษณะสั้นและซ้อนกันถี่ ส่วนปล้องที่อยู่ถัดขึ้นไปมีลักษณะเป็นปล้องยาวต่อด้วยปล้องขนาดสั้นอีก 2-3 ปล้อง ปล้องที่มีขนาดยาวนี้มีการขยายตัวออกทางด้านข้างทำให้เกิดเป็นลำที่ป่องออก ลำนี้มีรอยคอดกิ่ว (pseudobulb constriction : pbc) อยู่ตรงกลางลำ โดยมีส่วนที่อยู่ใต้รอยคอดกิ่วมีขนาดป้อมและ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อ้วนกว่าส่วนที่อยู่เหนือรอยคอดกิ่ว ทำให้เกิดลำลูกกล้วยที่มีรูปทรงคล้ายกับน้ำเต้าหรือคนโท ซึ่งมีคำพ้องเป็นภาษาถิ่นทางภาคเหนือว่า “น้ำต้น” ส่วนลำต้นบริเวณที่อยู่เหนือลำที่มีลักษณะ “น้ำเต้า” หรือ “น้ำต้น” นี้เป็นปล้องที่แปรรูปเหมือนกันอีก 2-3 ปล้อง แต่เป็นปล้องสั้น ๆ ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับลำปกติของลำต้น (ภาพที่ 2 และ 10) สำหรับลำลูกกล้วยของเอื้องน้ำต้นที่ได้นำมาศึกษาครั้งนี้ มีสีของลำลูกกล้วยเป็นสีเขียวเข้ม มีความ กว้าง × ยาวของหัวเป็น 2.70-4.00 × 11.70-20.50 ซม รอยคอดตรงกลางลำมีขนาดความกว้าง เป็น 0.80-1.30 ซม ลำลูกกล้วยส่วนบนมีขนาดเป็น 1.70-2.40 × 5.70-13.50 ซม ลำลูกกล้วยของเอื้องน้ำต้นนี้มีสันเป็นเหลี่ยม แต่ละลำมีสันร่องบนลำลูกกล้วย 5-11 สัน ลำลูกกล้วยมีกาบใบแห้ง สีเทาเข้มหุ้มอยู่ กาบใบแห้งเหล่านี้คือ ส่วนโคนของใบซึ่งเปลี่ยนรูปแบนออกทางด้านข้างมีลักษณะเป็นแผ่น (leaf sheath : lsh) เกิดอยู่บนข้อแต่ละข้อของลำต้น รวมทั้งบนข้อของลำลูกกล้วยด้วย กาบใบเหล่านี้โอบรอบปล้องไว้ซ้อนกันเป็นชั้น ๆ และเมื่อแผ่นใบแห้งตายไปแล้ว กาบใบยังคงติดอยู่กับลำลูกกล้วย ทำให้เพิ่มความสวยงามให้กับลำลูกกล้วย เนื่องจากกาบใบแห้งนี้มักจะมีสีเทาเข้ม สีเงินหรือสีทอง ส่วนลำลูกกล้วยนั้นเมื่อมีอายุมากขึ้นผิวด้านนอกมีสีเขียวเข้มหรือเขียวอมเทา (ภาพที่ 2 และ 4)

ภาพที่ 1 รากของเอื้องน้ำต้น

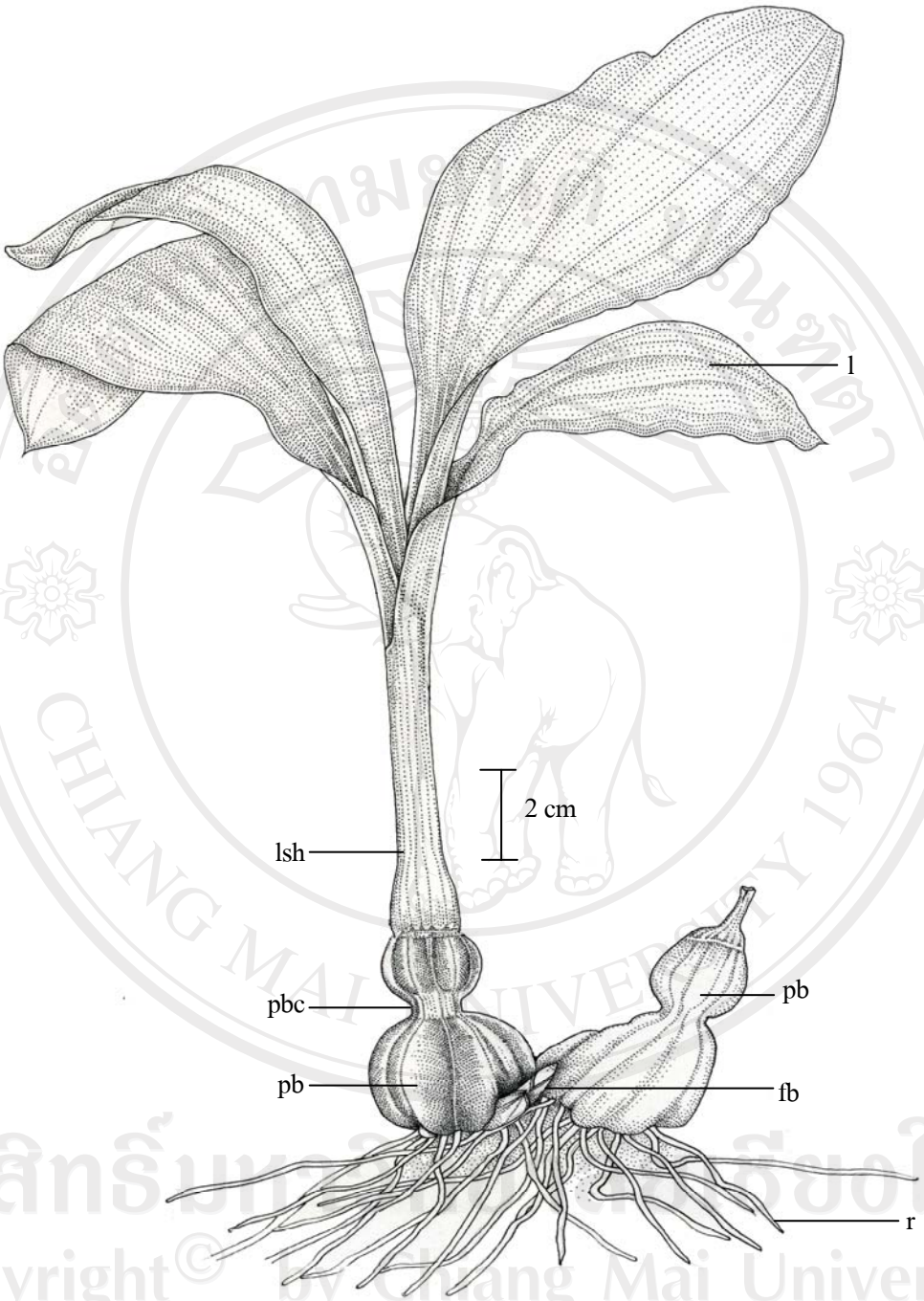
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 2 ลำลูกกล้วยของเอื้องน้ำต้น

1.1.3 ใบ ใบของเอื้องน้ำต้นเป็นใบเดี่ยว ใบรูปรีแกมรูปใบหอก เจริญออกมาจากตายอด ใบเรียงตัวแบบสลับ แผ่นใบ (lamina : l) มีสีเขียวเข้มพับเป็นรอยจีบหรือรูปรี โคนใบสอบและแบน มีลักษณะเป็นกาบใบ (leaf sheath : lsh) ขอบใบเรียบบิดเป็นคลื่น ปลายใบแหลม แผ่นใบบาง ผิวใบเกลี้ยงทั้ง 2 ด้าน เส้นใบแบบขนาน ด้านหลังใบมีสีเขียวส่วนด้านท้องใบสีเขียวอ่อน จำนวนใบต่อต้น คือ 3-5 ใบ มีขนาดความกว้าง × ยาวเป็น 6.00-13.00 × 15.00-54.40 ซม ใบหนา 0.03-0.13 ซม (ภาพที่ 3)

ภาพที่ 3 ใบของเอื้องน้ำต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 4 ภาพวาดแสดงส่วนประกอบของต้นเอื้องน้ำต้น

pb = pseudobulb ; fb = flower bud ; l = lamina ; lsh = leaf sheath

pbc = pseudobulb constriction ; r = root

1.1.4 ช่อดอก (inflorescence : i) ช่อดอกของเอื้องน้ำต้นเป็นแบบช่อกระจะ (raceme) เกิดออกมาจากตาข้างที่บริเวณโคนของ ลำลูกกล้วย ช่อดอก มี 1 ช่อดอกต่อลำ ก้านช่อดอก (peduncle : p) มีสีเขียวถึงสีเขียวอมเทา มีลักษณะแข็ง ตั้งตรง หรือปลายโค้ง มีขนละเอียดสีขาวปกคลุมทั่วทั้งช่อดอก ก้านช่อดอกยาวมีข้อและปล้องเห็นได้ชัดเจน มี 3-4 ปล้อง เส้นผ่าศูนย์กลางของก้านช่อดอกเป็น 0.30-0.43 ซม ยาว 40.00-59.70 ซม ดอกย่อยมี 9-28 ดอกต่อช่อ (ภาพที่ 5, 7 และ 9)

ภาพที่ 5 ช่อดอกของเอื้องน้ำต้นในสภาพของแหล่งกระจายพันธุ์

1.1.5 ดอก (floret : f) ดอกของเอื้องน้ำต้นเกิดที่ปลายช่อ เป็นดอกสมบูรณ์เพศแบบสมมาตรด้านข้าง ก้านดอก (pedicel : ped) มีสีเขียวและมีขนละเอียดปกคลุม ปลายก้านดอกอยู่ติดกับรังไข่ของดอก รังไข่มีขนาดใหญ่ มีร่องนูนปรากฏอย่างชัดเจน รังไข่ (ovary : o) มีสีเขียวเข้มกว่าก้านดอก และ มีขนละเอียดสีขาวปกคลุมหนาแน่น เส้นผ่าศูนย์กลางของก้านช่อดอกคือ 0.11-0.13 ซม ยาว 3.00-3.80 ซม เส้นผ่าศูนย์กลางของรังไข่คือ 0.10-0.21 ซม ยาว 1.00-1.20 ซม ส่วนของโคนก้านดอกมีใบประดับย่อย (bracteole) 1 ใบ สีเขียว เมื่อแห้งไม่หลุดออกจากโคนใบ ดอกที่บานเต็มที่กว้าง 1.00-2.30 ซม ยาว 1.60-1.90 ซม กลีบเลี้ยงด้านข้าง (lateral sepal : ls) มี 2 กลีบ มีรูปร่างเป็นรูป

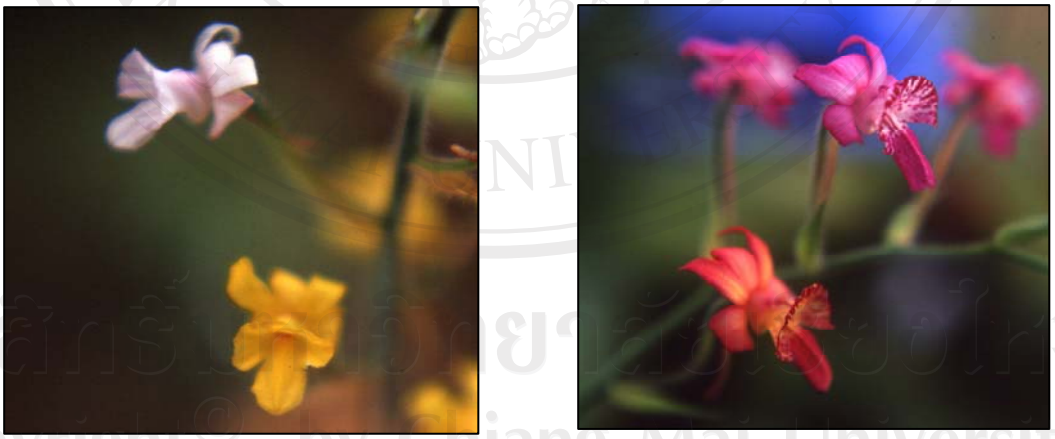
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไข่ปลายแหลม กลีบเลี้ยงด้านบน (dorsal sepal : ds) กว้าง 0.50-0.60 ซม ยาว 1.10-1.20 ซม กลีบเลี้ยงด้านข้าง (sepal : ls) กว้าง 0.50-0.60 ซม ยาว 1.20-1.40 ซม กลีบดอกประกอบด้วยกลีบดอกด้านข้าง (lateral petal : lp) 2 กลีบมีรูปรีปลายแหลม กลีบดอกด้านข้างกว้าง 0.40-0.60 ซม ยาว 1.10-1.25 ซม กลีบปาก (lip : li) กว้าง 1.90-2.15 ซม ยาว 1.20-1.30 ซม ดอกแต่ละดอกมีเดือย (spur : sp) ที่มีลักษณะเป็นท่อยาวปลายเรียว สีเขียว เส้นผ่าศูนย์กลางของเดือยดอกคือ 0.07-0.09 ซม (ภาพที่ 4-7 และ 9) ภายในช่อเดียวกันมีดอกสีต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับระยะการบานของดอก โดยที่สีของดอกในระยะดอกแย้มบานมี 2 สี คือสีขาว หรือสีชมพู ดอกที่มีสีขาวเมื่อบานเต็มที่แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะชราภาพดอกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และสีจะเข้มมากขึ้นเมื่อดอกใกล้โรย ดอกที่มีกลีบดอกสีชมพูเมื่อดอกเข้าระยะชราภาพกลีบดอกจะเปลี่ยนเป็นสีส้ม (ภาพที่ 6 และ8) และสีส้มนั้นเข้มขึ้นเมื่อดอกใกล้โรย (ภาพที่ 7 และ 8) เส้าเกสรกว้าง 0.35-0.45 ซม ยาว 0.75-0.85 ซม ฝาครอบกลุ่มเรณู(anther cap : ac) กว้าง 0.15-0.19 ซม ยาว 0.19-0.22 ซม ดอกของต้นพืชทุกต้นมีจุดประเป็นลายที่กลีบมากหรือน้อยแตกต่างกันไป เส้าเกสร (column : co) มีสีชมพูอ่อนถึงชมพู มีขนาดเล็ก รูปร่างเรียวยาว กว้าง 0.30-0.32 ซม ยาว 0.67-0.75 ซม กลุ่มเรณู (pollinia : pol) มี 2 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ก้อน แต่ละกลุ่มกว้าง 0.06-0.08 ซม ยาว 0.09-0.10 ซม มีสีเหลือง ก้านกลุ่มเรณูสั้น ฝาครอบกลุ่มเรณูโค้งนูน (ภาพที่ 9)

ภาพที่ 6 ช่อดอกของต้นที่มีดอกสีชมพูในระยะดอกบาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

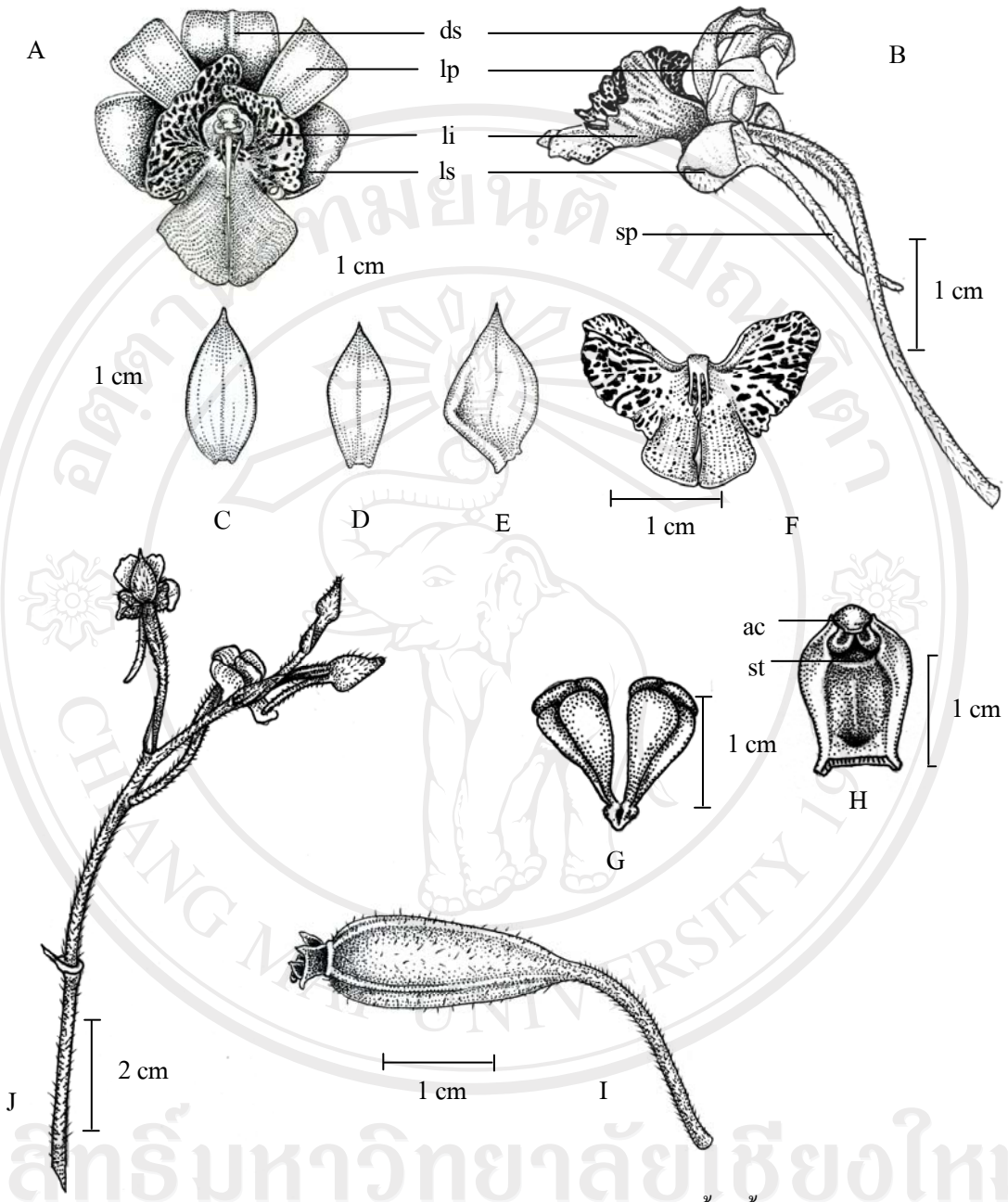
ภาพที่ 7 ช่อดอกของต้นที่มีดอกสีขาวในระยะดอกบาน



ภาพที่ 8 ดอกในระยะบานเต็มที่และในระยะเริ่มชราภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.1.6 ฝักและเมล็ด ฝัก (pod : pd) ของเอื้องน้ำต้นเป็นผลแบบผลแห้งแตก รูปขอบขนานแกมรูปไข่ มีสีเขียว ฝักอ่อนมีสีเขียวเข้ม เมื่อฝักแก่มีสีเขียวอมเหลือง ฝักที่แก่เต็มที่แตกออกตามแนวตะเข็บของฝัก (ภาพที่ 10) เมล็ด (seed : sd) ภายในฝักมีจำนวนมาก ขนาดเล็กคล้ายแป้งหรือฝุ่น



ภาพที่ 9 ภาพวาดแสดงส่วนประกอบของดอกเอื้องน้ำต้น

A = ส่วนประกอบของดอก ; B = ดอกด้านข้าง ; C = กลีบเลี้ยงด้านบน

D = กลีบดอก ; E = กลีบเลี้ยงด้านข้าง ; F = กลีบปาก

G = กลุ่มเรณู ; H = เส้าเกสรด้านหน้า ; I = ผล ; J = ก้านช่อดอก

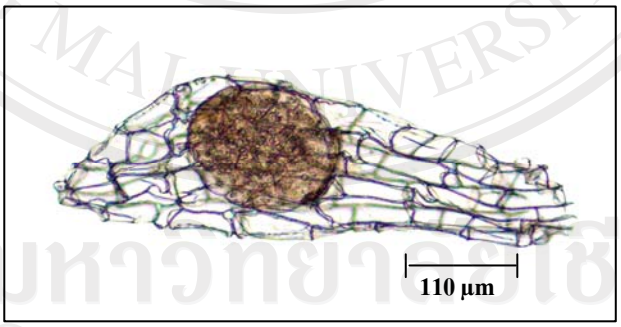
ac = anther cap ; ds = dosal sepal ; li = lip ; lp = lateral petal ; ls = lateral sepal

sp = spur ; st = stigma

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สีเหลืองอ่อน เมื่อขยายดูพบว่ามีลักษณะเหมือนถุงตาข่าย มีเอ็มบริโอสีน้ำตาลอ่อนบรรจุอยู่ด้านใน (ภาพที่ 11) ฝักกว้าง 0.74 – 0.80 ซม ยาว 2.13 – 2.22 ซม

ภาพที่ 10 ฝักเอื้องน้ำต้น



ภาพที่ 11 เมล็ดของเอื้องน้ำต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 ลักษณะทางกายวิภาควิทยาของชิ้นส่วนที่นำไปเพาะเลี้ยง

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของพืชทดลองเป็นการศึกษากับส่วนประกอบของต้นที่นำมาขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ ส่วนประกอบเหล่านั้นได้แก่ ก้านช่อดอก ใบ และ ปลายยอด โดยศึกษาเนื้อเยื่อจากภาคตัดตามยาวและตามขวางของอวัยวะดังกล่าว ผลการทดลองมีดังต่อไปนี้

1.2.1 ก้านช่อดอก

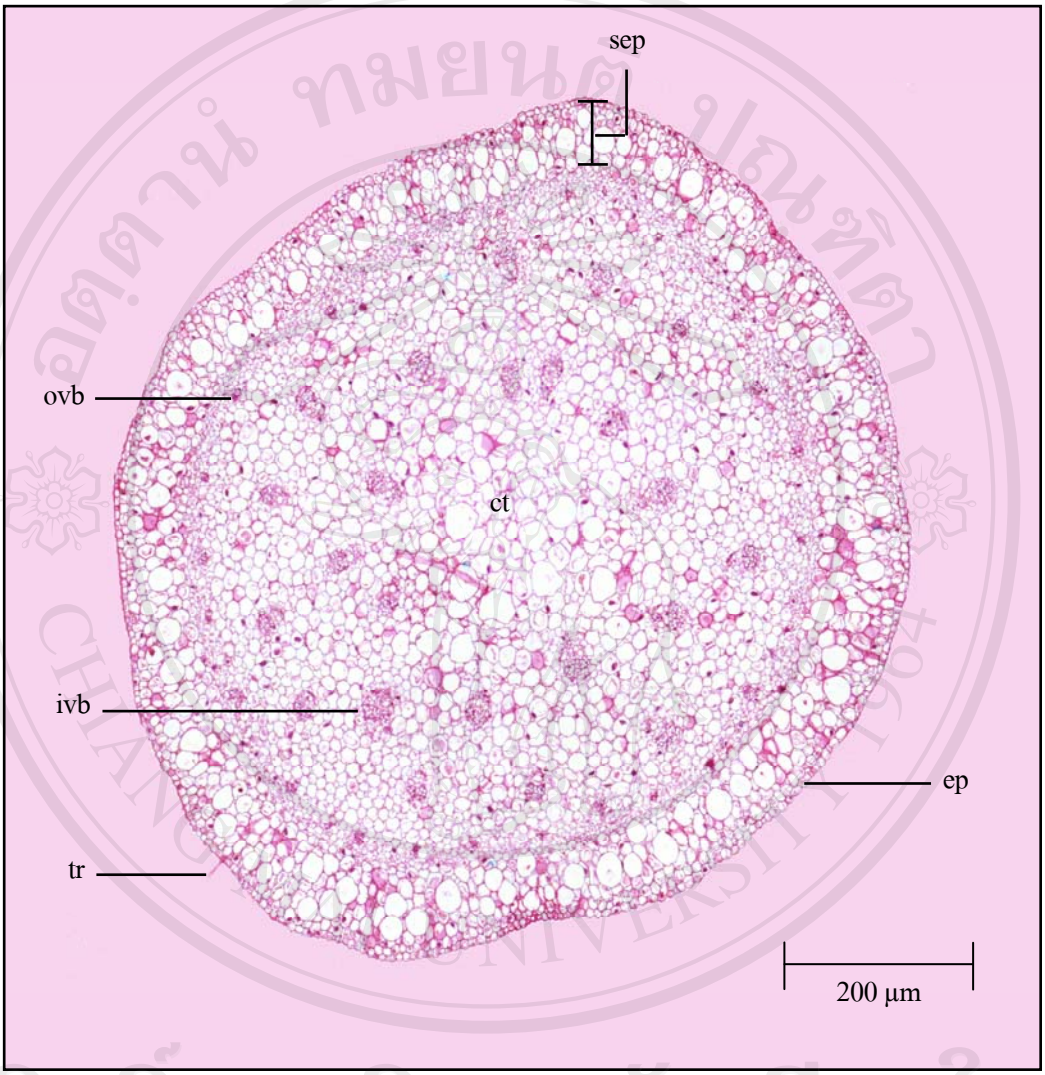
ภาคตัดขวางของก้านช่อดอกของต้นพืช แสดงไว้ในภาพที่ 12 และ13 จากภาพจะเห็นว่า ก้านช่อดอกประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ระบบ คือ

1.2.1.1 เนื้อเยื่อผิว (dermal tissue) เนื้อเยื่อนี้เป็นเนื้อเยื่อผิวเชิงซ้อน (multiple epidermis) โดยมีชั้นนอกสุด 1 ชั้นเซลล์ เป็นเซลล์เนื้อเยื่อผิว (epidermis : ep) ส่วนเนื้อเยื่อที่อยู่ใต้ชั้นนี้ลงไปเป็นส่วนของเนื้อเยื่อผิวเช่นกัน แต่เป็นชั้นใต้ชั้นผิว (subepidermis : sep) ซึ่งมีเซลล์รวมกันอยู่หลายชั้นเซลล์ เซลล์มีลักษณะเป็นเซลล์พาเรงคิมา มีขนาดไม่สม่ำเสมอ เป็นเซลล์รูปร่างค่อนข้างกลม เห็นเป็นแถบอยู่รอบนอกของภาคตัดขวาง แถบนี้เห็นชัดเจนเพราะมีขอบเขตที่ชัดเจน แยกออกจากเนื้อเยื่อของคอร์เทกซ์ โดยแยกด้วยความแตกต่างของขนาดและลักษณะของเซลล์ทั้ง 2 ระบบ ส่วนด้านนอกสุดของเนื้อเยื่อผิว คือ ชั้นของเซลล์ผิว (epidermis : ep) ซึ่งเป็นชั้นของเซลล์ชั้นเดียว มีเซลล์พาเรงคิมาที่มีขนาดเล็ก รูปสี่เหลี่ยมเรียงชิดกัน อยู่ชั้นนอกสุด (ภาพที่ 13)

1.2.1.2 คอร์เทกซ์ (cortex : ct) เป็นเนื้อเยื่อพื้น ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาที่มีผนังบาง มีรูปร่างไม่แน่นอน มีตั้งแต่รูปร่างกลม รูปสี่เหลี่ยมไปจนถึงรูปหลายเหลี่ยม นอกจากนี้ยังมีขนาดแตกต่างกันด้วย เซลล์ที่อยู่รอบนอก บริเวณใต้ชั้นของเซลล์ใต้ชั้นผิวลงมา 3-4 ชั้นเซลล์เป็นชั้นของเซลล์คอร์เทกซ์ที่มีเซลล์ขนาดเล็ก เรียงตัวไม่เป็นระเบียบอยู่กันแน่นหนา ย้อมติดสีเข้ม เซลล์มีผนังเซลล์ค่อนข้างหนา เซลล์พื้นส่วนนี้มีมัดท่อลำเลียง (vascular bundle : vb) เกิดแทรกอยู่บ้างแต่เป็นมัดที่มีขนาดเล็ก ส่วนเซลล์ที่อยู่ถัดเข้าไปด้านในเป็นเซลล์คอร์เทกซ์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและเป็นบริเวณที่ปรากฏมัดท่อลำเลียงขนาดใหญ่ (vascular bundle : vb) กระจัดกระจายอยู่เป็นกลุ่ม ๆ ส่วนเซลล์คอร์เทกซ์ที่อยู่บริเวณใจกลางลำต้นเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์คอร์เทกซ์ในบริเวณอื่น (ภาพที่ 12 และ 13)

1.2.1.3 มัดท่อลำเลียง (vascular bundle : vb) ท่อลำเลียงในก้านช่อดอกเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้างที่มีเซลล์ไซเล็มอยู่ด้านในและเซลล์โฟลเอ็มอยู่ด้านนอก เรียงตัวกันแบบกระจัดกระจายอยู่ทั่วไปมัดท่อลำเลียงรอบนอกของลำต้น ซึ่งอยู่ใกล้กับชั้นของเซลล์คอร์เทกซ์ด้านนอกมีขนาดเล็ก ส่วนมัดท่อลำเลียงที่อยู่ด้านในเข้าไปมีขนาดใหญ่กว่า (ภาพที่ 14)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

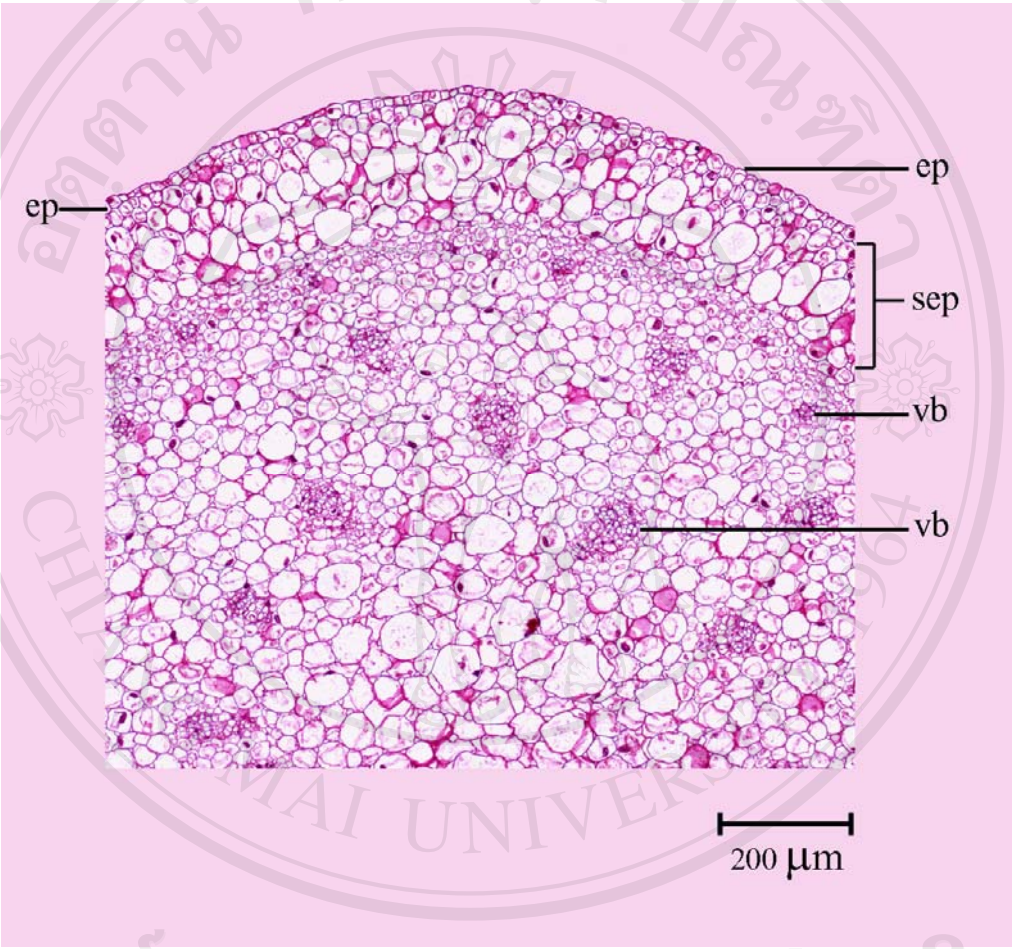


ภาพที่ 12 ภาคตัดขวางของก้านช่อดอกเอื้องน้ำต้น

ct = cortex; ep = epidermis ; ivb = inner vascular bundle

ovb = outer vascular bundle ; sep = subepidermis ; tr = trichome

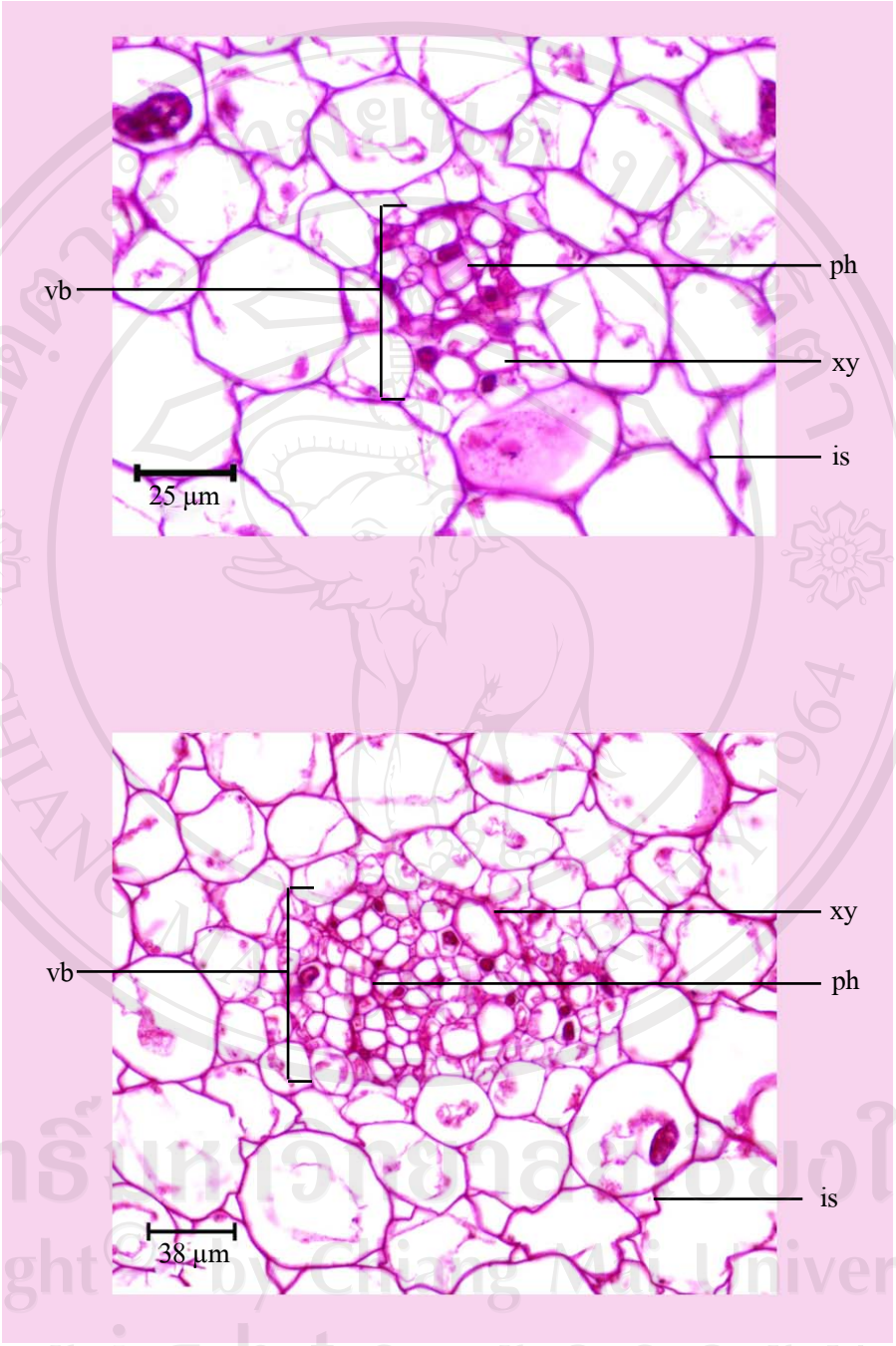
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 13 เนื้อเยื่อก้านช่อดอกตัดตามขวาง

ep = epidermis ; sep = subepidermis ; vb = vascular bundle

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 14 เนื้อเยื่อก้านช่อดอกตัดตามขวางแสดงมัดท่อลำเลียง

Is = intercellular space ; ph = phloem ; vb = vascular bundle ; xy = xylem

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

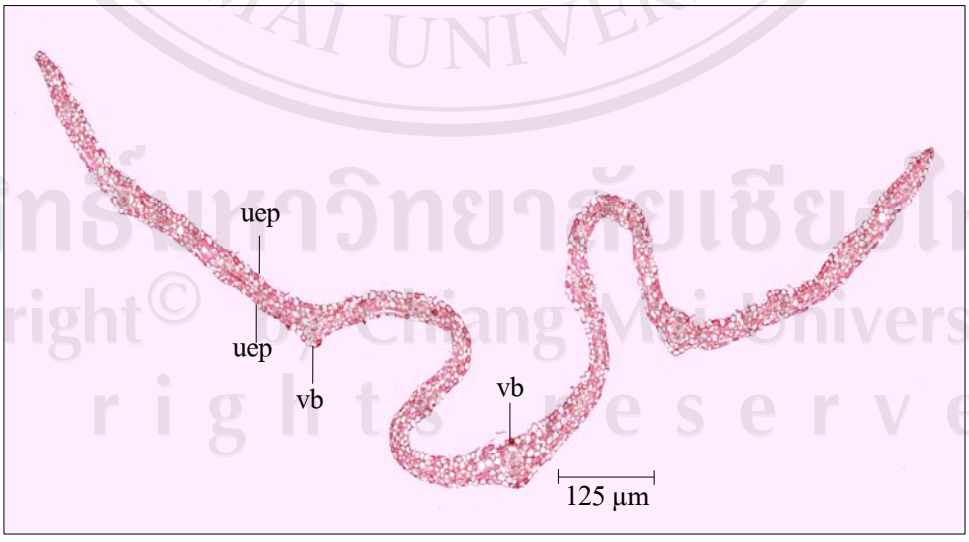
1.2.2 ใบ

ใบของเอื้องน้ำต้นประกอบด้วยเนื้อเยื่อระบบต่าง ๆ เหมือนลำต้น ซึ่งได้แก่ เนื้อเยื่อผิว เนื้อเยื่อพื้น และเนื้อเยื่อลำเลียง ดังแสดงในภาพที่ 15 ซึ่งเป็นภาคตัดขวางของใบ ในภาพแสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อของใบมีดังนี้

1.2.2.1 เนื้อเยื่อชั้นผิว (ep) ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาเรียงต่อกันเป็นแถว ด้านบนใบ (upper epidermis : uep) มี 1 ชั้น และด้านใต้ใบ (lower epidermis : lep) มี 1 ชั้น เซลล์มีรูปร่างสี่เหลี่ยมหรือหลายเหลี่ยมหรือค่อนข้างกลม ขนาดไม่เท่ากัน ปากใบเกิดในระดับเดียวกันกับเซลล์ผิวใบ ช่องว่างใต้ปากใบมีขนาดใหญ่และขยายเนื้อที่ออกไปทางด้านข้าง (ภาพที่ 15 และ 16)

1.2.2.2 มีโซฟิลล์ (mesophyll : me) เป็นเนื้อเยื่อพื้นที่อยู่ระหว่างชั้นเซลล์ผิวด้านบนใบและชั้นเซลล์ผิวด้านใต้ใบในชั้นนี้เซลล์มีโซฟิลล์ไม่แบ่งเป็นชั้นแพลิเซดและสปองจี แต่เป็นเซลล์พาเรงคิมาที่มีรูปร่างกลมหรือกลมรี มีขนาดไม่สม่ำเสมอ เรียงตัวกันแน่น มีช่องว่างระหว่างเซลล์ในบางบริเวณ ในเซลล์มีโซฟิลล์บางเซลล์พบว่ามีผลึกรูปเข็มอยู่

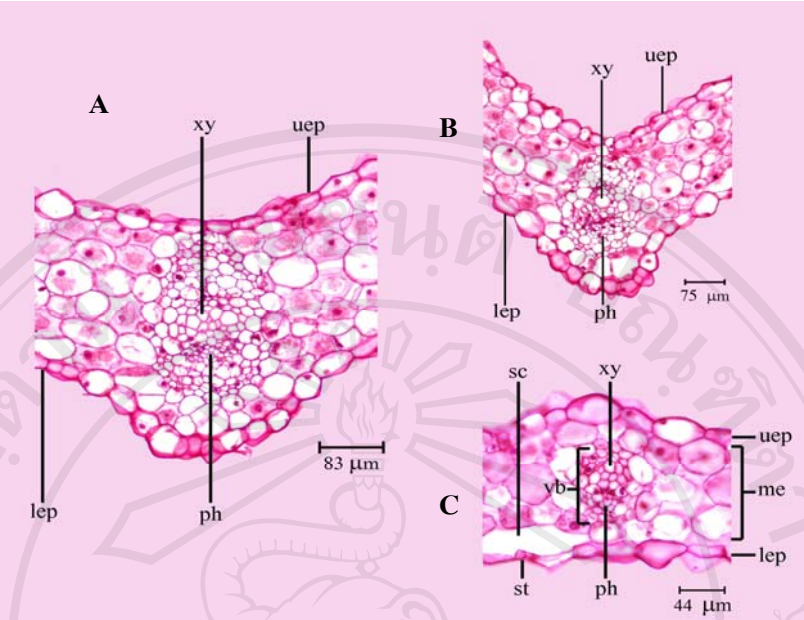
1.2.2.3 มัดท่อลำเลียง (vascular bundle : vb) เป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้าง มีเซลล์ไซเล็มอยู่ด้านผิวใบด้านบนใบ และเซลล์โฟลเอ็มอยู่ด้านเนื้อเยื่อผิวด้านใต้ใบ มัดท่อลำเลียงของเส้นกลางใบมีขนาดใหญ่ (ภาพที่ 16 A) ส่วนมัดท่อลำเลียงของเส้นใบขนาดเล็ก นั้นเนื้อเยื่อลำเลียงมีลักษณะเดียวกันกับของเส้นกลางใบและของเส้นใบขนาดใหญ่ เพียงแต่เซลล์ท่อลำเลียงมีขนาดเล็กกว่า (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 15 ใบของเอื้องน้ำต้นตัดขวาง

lep = lower epidermis ; uep = upper epidermis ; vb = vascular bundle

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



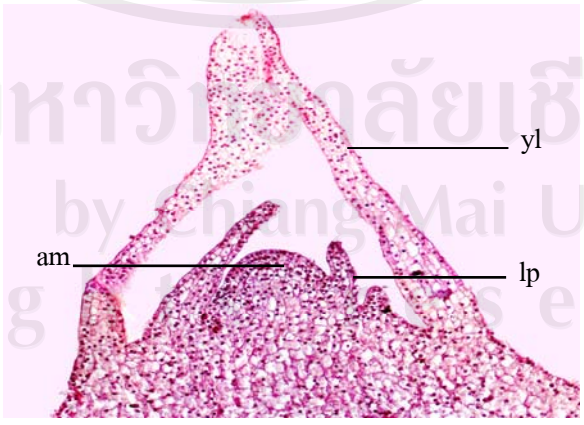
ภาพที่ 16 ภาคตัดขวางของใบเอื้องน้ำต้น (A = midvein ; B และ C = vein)

lep = lower epidermis ; me = mesophyll ; ph = phloem ; r = raphides ; sc = substomatal chamber

st = stomata ; uep = upper epidermis ; vb = vascular bundle ; xy = xylem

1.2.3 ปลายยอด

ศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของเนื้อเยื่อปลายยอด โดยการตัดเนื้อเยื่อตามขวาง พบว่าเนื้อเยื่อปลายยอดประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem : am) ที่มีลักษณะโค้งนูนเป็นรูปโดม มีเซลล์ตื่นตัวอยู่อย่างหนาแน่น มีจุดกำเนิดใบ (leaf primordium : lp) หุ้มอยู่ (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 ภาคตัดขวางของปลายยอด

am = apical meristem ; lp = leaf primordia ; yl = young leaf

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

การศึกษาการเพาะเมล็ดของเอื้องน้ำต้นในสภาพปลอดเชื้อ แบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย คือ **ผลของอายุฝักต่อการงอกของเมล็ด** และ **ผลของ NAA และ BA ต่อการงอกของเมล็ด** ผลการทดลองมีดังนี้

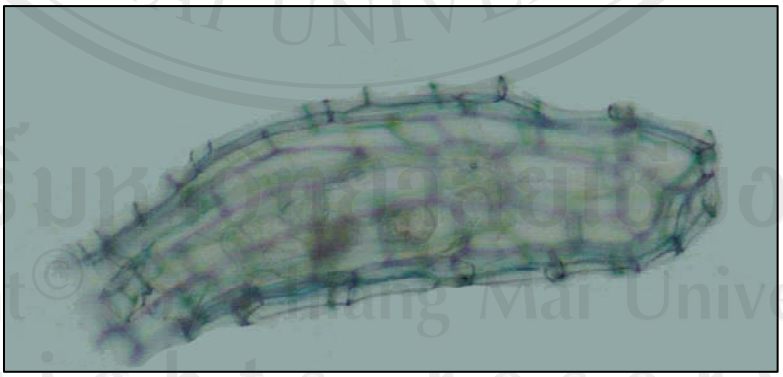
2.1 ผลของอายุฝักต่อการงอกของเมล็ด

การทดลองเกี่ยวกับผลของอายุของฝักต่อการงอกของเมล็ดนี้ เป็นการทดสอบกับฝักที่มีอายุ 6 , 8 และ 10 สัปดาห์หลังผสมเกสร โดยการเพาะบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร VW (1949) ในการทดลองนี้บันทึกผลในหลายลักษณะ คือ 1) รูปร่างลักษณะของเมล็ดที่อยู่ภายในฝักที่มีอายุแตกต่างกัน 2) การเปลี่ยนแปลงของขนาดของเอ็มบริโอ และ 3) การพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงของเมล็ด

ผลของการทดลองมีดังนี้

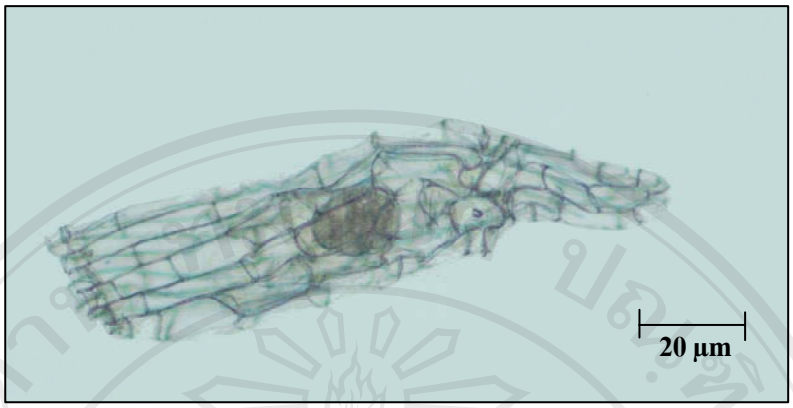
2.1.1 รูปร่างลักษณะของเมล็ดที่อยู่ในฝักที่มีอายุแตกต่างกัน

ในช่วงก่อนที่จะนำฝักอ่อนไปเพาะเมล็ดนั้นได้นำเมล็ดจากฝักอายุต่าง ๆ ไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะของเมล็ดมีรูปร่างเรียวยาว ป่องตรงกลาง เมล็ดที่นำมาจากฝักอายุ 2 สัปดาห์หลังการผสมเกสรนั้นไม่สามารถเห็นเอ็มบริโอภายในเมล็ด ดังแสดงไว้ในภาพที่ 18 ส่วนเมล็ดจากฝักอายุ 4 สัปดาห์หลังการผสมเกสรนั้นเห็นเอ็มบริโอบ้างแต่ไม่ชัดเจน (ภาพที่19) ในขณะที่เมล็ดจากฝักอายุ 6, 8 และ 10 สัปดาห์นั้น เห็นเอ็มบริโอชัดเจน แสดงให้เห็นว่าเมล็ดมีการพัฒนามากแล้วเห็นรูปร่างเป็นโครงสร้างของเอ็มบริโอมีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 20)

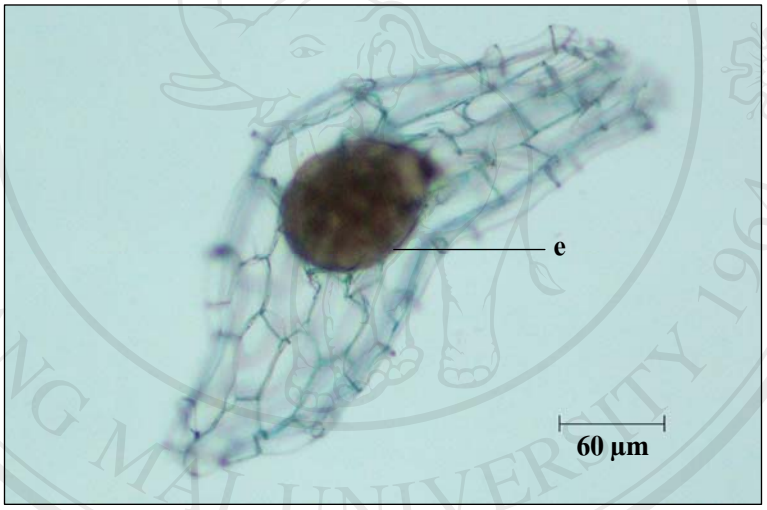


ภาพที่ 18 เมล็ดจากฝักอายุ 2 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 19 เมล็ดจากฝักอายุ 4 สัปดาห์



ภาพที่ 20 เมล็ดจากฝักอายุ 10 สัปดาห์

e = embryo

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.2 การเปลี่ยนแปลงขนาดของเอ็มบริโอ

ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงขนาดของเอ็มบริโอนั้น บันทึกผลการทดลองในลักษณะของความกว้าง และความยาวของเอ็มบริโอที่อยู่ในอาหารเพาะเลี้ยง ตลอดจนสังเกตการงอกของเมล็ดด้วย

2.1.2.1 ความกว้างเฉลี่ยของเอ็มบริโอ

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของขนาดของเอ็มบริโอในกรรมวิธีต่าง ๆ พบว่าเอ็มบริโอของเมล็ดจากฝักทุกกรรมวิธีมีความกว้างเฉลี่ยเพิ่มขึ้น ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 หลังการเพาะ และมีขนาดเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์ของการทดลองดังแสดงไว้ในตารางที่ 7 จาก

การสังเกต การเปลี่ยนแปลงหรือพัฒนาการของเอ็มบริโอภายในเมล็ด พบว่าเอ็มบริโอมีการเจริญและขยายขนาดดันเปลือกหุ้มเมล็ดให้ฉีกขาดออก และเมื่อเจริญเติบโตมากขึ้นจนหลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดแล้ว เอ็มบริโอเจริญเติบโตเร็วขึ้นและเจริญเร็วกว่าเอ็มบริโอที่ยังอยู่ในเปลือกหุ้มเมล็ด พบแนวโน้มด้วยว่าเอ็มบริโอจากฝักอายุมากกว่ามีขนาดใหญ่กว่าเอ็มบริโอของฝักอายุน้อย ยกเว้นเมล็ดจากฝักอายุ 2 สัปดาห์ ซึ่งเอ็มบริโอยังไม่น่าจะมีการพัฒนาเต็มที่จึงไม่มีการเจริญเติบโตเพิ่มขนาดเหมือนกรรมวิธีอื่น ๆ การเปลี่ยนแปลงในลักษณะดังกล่าวนี้ เริ่มพบหลังจากที่เพาะเมล็ดได้ประมาณ 7 สัปดาห์ ไปจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเพาะเมล็ดนาน 16 สัปดาห์

ผลการวิเคราะห์ความกว้างเฉลี่ยของเอ็มบริโอหลังจากเพาะได้ 16 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดจากฝักอายุ 10 สัปดาห์ มีความกว้างของเมล็ดเฉลี่ย 470 ไมครอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเมล็ดจากฝักอายุ 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ซึ่งมีความกว้างของเอ็มบริโอเฉลี่ย 128, 256 และ 370 ไมครอน ตามลำดับ โดยเมล็ดจากฝักอายุ 4 สัปดาห์ มีความกว้างเฉลี่ยน้อยที่สุด

2.1.2.2 ความยาวเฉลี่ยของเอ็มบริโอ

การเปลี่ยนแปลงความยาวของเอ็มบริโอนั้นพบว่าเมล็ดของทุกกรรมวิธีมีความยาวเฉลี่ยของเอ็มบริโอเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์หลังการเพาะ ยกเว้นกรรมวิธีอายุฝัก 2 สัปดาห์ (ตารางที่ 8) ซึ่งเอ็มบริโอไม่สมบูรณ์ดังกล่าวไปแล้ว ข้างต้น กรรมวิธีอายุฝัก 4 สัปดาห์ ถึง 10 สัปดาห์ ให้ความยาวเฉลี่ยเอ็มบริโอมีความแตกต่างทางสถิติ ตั้งแต่เริ่มทดลองถึงสัปดาห์ที่ 16 โดยหลังจากที่เพาะเมล็ดนาน 16 สัปดาห์ เอ็มบริโอจากฝักอายุ 4 , 6, 8 และ 10 สัปดาห์ มีความยาวเฉลี่ยเป็น 204, 356, 546 และ 661 ไมครอนตามลำดับ และ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2.1.2.3 ช่วงเวลาการงอกและเปอร์เซ็นต์การงอก

ในขณะที่เมล็ดมีการเจริญในอาหารเพาะเลี้ยงได้นำเมล็ดเหล่านั้นไปสุ่มตรวจการงอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดในแต่ละกรรมวิธีงอกไม่พร้อมกัน ทยอยกันงอก ซึ่งการงอกของเมล็ดนั้นสังเกตได้จากการบวมพองของเอ็มบริโอ และการที่เปลือกหุ้มเมล็ดฉีกขาด ทำให้เอ็มบริโอหลุดออกมา มีลักษณะค่อนข้างกลมคล้ายกับไข่ปลา สีขาวใส ซึ่งลักษณะเช่นนี้พบว่า เกิดได้หลังจากที่เพาะเมล็ดได้ 7 สัปดาห์ และทยอยงอกในสัปดาห์ต่อ ๆ มา จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง มีผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดจากกรรมวิธีต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่เมล็ดจากฝักอายุ 2 สัปดาห์ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเพราะเมล็ดไม่สมบูรณ์ ในทำนองเดียวกัน เมล็ดจากฝักอายุ 4 สัปดาห์ ซึ่งเอ็มบริโอมีการเจริญเติบโตที่ไม่สมบูรณ์เช่นกัน มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำด้วยเช่นกันคือ 5.04% และใช้เวลาในการงอกนานมากคือ ประมาณ 13 สัปดาห์หลังการเพาะ ซึ่งแตกต่างจากฝักอายุ 6, 8 และ 10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สัปดาห์ ซึ่งเริ่มงอกในช่วงสัปดาห์ที่ 10, 8 และ 7 สัปดาห์ ตามลำดับ และเมื่อบันทึกครั้งหลังสุดในช่วง 16 สัปดาห์หลังจากเพาะเมล็ดนั้น เมล็ดจากฝักอายุ 10 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุด คือ 71.59% ในขณะที่เมล็ดจากฝักอายุ 8 และ 6 สัปดาห์ มีความงอก 67.70% และ 54.90% ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 7 ความกว้างเฉลี่ยของเมล็ดจากฝักอายุต่างกัน เมื่อเพาะในอาหารแข็ง

อายุฝัก (สัปดาห์)	ความกว้างเฉลี่ยของเมล็ด (ไมครอน)[1/]				
	เริ่มทดลอง	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 16
2	0^{c}	0^{d}	0^{e}	0^{e}	0^{e}
4	10^{b}	20^{c}	26^{d}	34^{d}	128^{d}
6	10^{b}	28^{c}	44^{c}	56^{c}	256^{c}
8	14^{ab}	62^{b}	76^{b}	124^{b}	370^{b}
10	16^{a}	76^{a}	94^{a}	158^{a}	470^{a}

[1/] อักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี LSD

ตารางที่ 8 ความยาวเฉลี่ยของเมล็ดจากฝักอายุต่างกัน เมื่อเพาะในอาหารแข็ง

อายุฝัก (สัปดาห์)	ความยาวเฉลี่ยของเมล็ด (ไมครอน)[1/]				
	เริ่มทดลอง	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 16
2	0^{c}	0^{e}	0^{e}	0^{e}	0^{e}
4	10^{b}	20^{c}	32^{d}	58^{d}	204^{d}
6	16^{a}	32^{c}	56^{c}	74^{c}	356^{c}
8	18^{a}	74^{b}	124^{b}	154^{b}	546^{b}
10	20^{a}	90^{a}	164^{a}	216^{a}	661^{a}

[1/] อักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี LSD

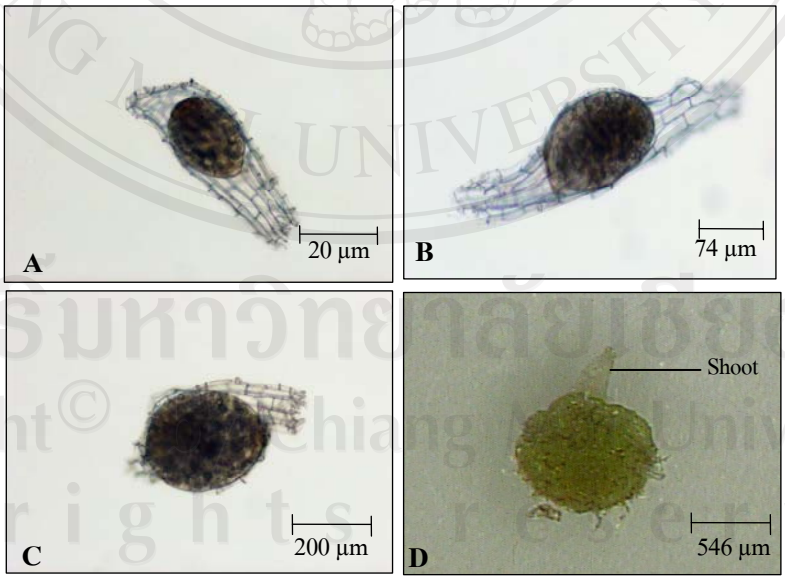
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 9 ระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดและเปอร์เซ็นต์การงอกหลังเพาะเมล็ดได้ 16 สัปดาห์

อายุฝัก (สัปดาห์)	เวลาที่ใช้ในการงอก (สัปดาห์)	เปอร์เซ็นต์การงอก (%)
2	0	0
4	13	5.04
6	10	54.90
8	8	67.70
10	7	71.59

2.1.3 การพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงของเมล็ด

จากการทดลองพบว่า การเพาะเมล็ดจากฝักอายุ 2, 4, 6, 8 และ 10 สัปดาห์ ลงในอาหารแข็งสูตร VW เป็นเวลา 16 สัปดาห์ เมล็ดงอกและพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์ม โดยที่เมล็ดนั้นขยายขนาดแล้วมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป คือ มีลักษณะกลมคล้ายไข่ปลาขนาดเล็ก สีขาว มีขนละเอียดมากปกคลุมที่ด้านโคน โปรโตคอร์มนี้สังเกตได้ชัดเจนเมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ เมล็ดทยอยกันงอกเป็นโปรโตคอร์มเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์ และ โปรโตคอร์มเพิ่มขนาดขึ้นเรื่อย ๆ จนพัฒนาไปเป็นยอดสีขาว และพัฒนาต่อไปเป็นต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงได้นาน 20 สัปดาห์ขึ้นไป (ภาพที่ 21 และ 22)



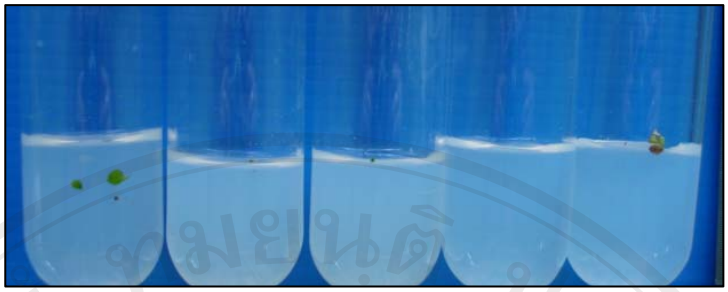
ภาพที่ 21 ขั้นตอนการพัฒนาของเมล็ดไปเป็นโปรโตคอร์ม

A = เมล็ดเมื่อเริ่มทดลอง ; B= เอ็มบริโอขยายขนาดเมื่อเลี้ยงได้นาน 6 สัปดาห์

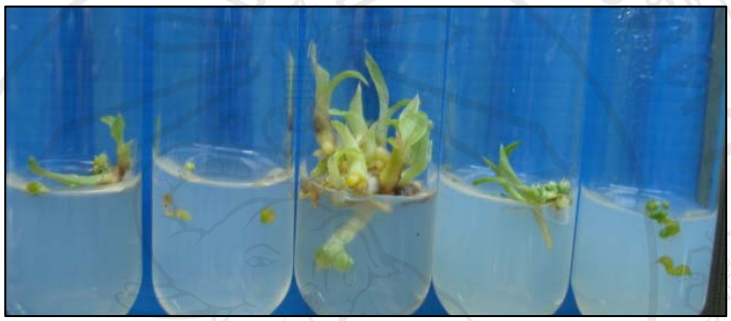
C= เมล็ดพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม เลี้ยงนาน 7-8 สัปดาห์

D = โปรโตคอร์มพัฒนาไปเป็นยอดขาว

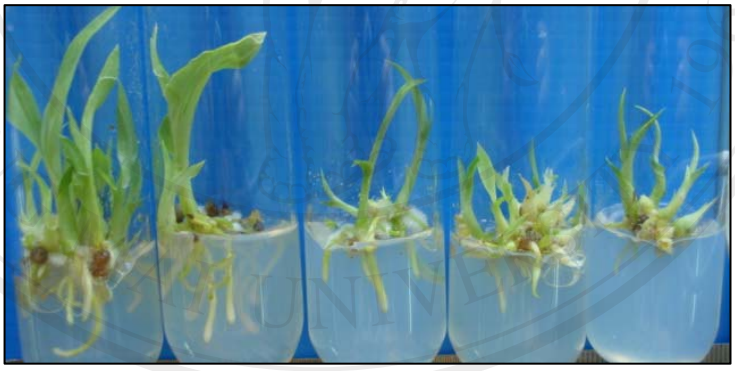
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



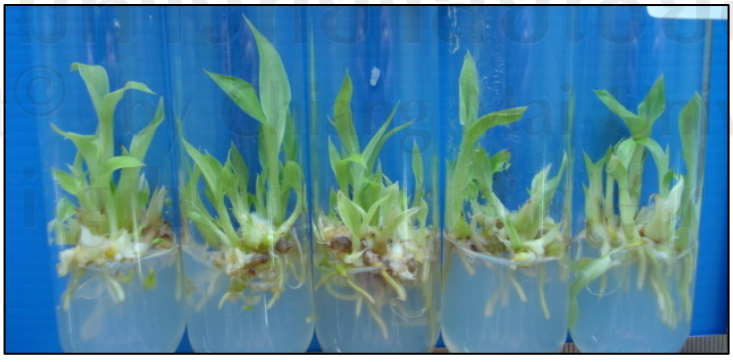
อายุฝัก 4 สัปดาห์



อายุฝัก 6 สัปดาห์



อายุฝัก 8 สัปดาห์



อายุฝัก 10 สัปดาห์

ภาพที่ 22 ลักษณะของต้นอ่อนในกรรมวิธีต่าง ๆ หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 5 เดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 ผลของ NAA และ BA ต่อการงอกของเมล็ด

การทดลองนี้เป็นการทดลองต่อเนื่องมาจากการทดลอง 2.1 โดยการนำฝักที่มีอายุที่ให้ผลดีที่สุดในการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นอ่อนมาทดสอบผลของ NAA ร่วมกับ BA ในการส่งเสริมการงอกของเมล็ด ฝักที่นำมาทดลองในการทดลองนี้คือ ฝักอายุ 10 สัปดาห์ นำมาเพาะในอาหารสูตร VW (CMU1) ที่เติม NAA และ /หรือ BA ที่ระดับต่างกัน เลี้ยงไว้นาน 12 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลของสารทั้ง 2 ชนิดที่มีผลต่อขนาดของเอ็มบริโอและ เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด ผลการทดลองมีดังนี้

2.2.1 ผลของ NAA และ BA ต่อขนาดของเอ็มบริโอ

2.2.1.1 ผลของปัจจัยหลัก NAA ต่อขนาดเอ็มบริโอ

เอ็มบริโอที่เลี้ยงในอาหารสูตร VW (CMU1) ที่เติม NAA เพียงอย่างเดียวที่ระดับต่างกัน เป็นระยะเวลานาน 12 สัปดาห์ พบว่ากรรมวิธีที่เมล็ดมีเอ็มบริโอที่มีความกว้างเฉลี่ยมากที่สุดคือ กรรมวิธีของอาหารที่เติม NAA เข้มข้น 0.1 มล/ล โดยมีความกว้างเฉลี่ย 300.66 ไมครอน ซึ่งกว้างกว่าเอ็มบริโอที่อยู่ในอาหารกรรมวิธี NAA เข้มข้น 0, 1 และ 2 มล/ล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งกรรมวิธีดังกล่าวมีเอ็มบริโอขนาดกว้างเฉลี่ยเป็น 261.33, 170.00 และ 123.33 ไมครอน ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปในทิศเดียวกันกับความยาวของเอ็มบริโอซึ่งพบว่าเอ็มบริโอ มีความยาวเฉลี่ยมากที่สุดในอาหารที่เติม NAA ที่ความเข้มข้นน้อยที่สุด โดยมีความยาวเฉลี่ย 382.80 ไมครอน ซึ่งยาวกว่าเอ็มบริโอที่อยู่ในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 1 และ 2 มล/ล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีความยาวเฉลี่ย 288.67, 212.22 และ 202.22 ไมครอน ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

2.2.1.2 ผลของปัจจัยหลัก BA ต่อขนาดของเอ็มบริโอ

ระดับความเข้มข้นของ BA ทำให้ความกว้างเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเอ็มบริโอมีความกว้างเฉลี่ยมากที่สุดในอาหารที่ไม่เติม BA คือกว้าง 261.33 ไมครอน และความกว้างเฉลี่ยน้อยที่สุดในอาหารที่เติม BA 1 มล/ล คือกว้าง 258.66 ไมครอน ในส่วนความยาวเฉลี่ยของเอ็มบริโอ พบว่าเอ็มบริโอมีความยาวเฉลี่ยมากที่สุด ในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มล/ล คือมีความยาวเฉลี่ย 397.33 ไมครอน และมีความยาวเฉลี่ยน้อยที่สุด ในอาหารที่ไม่เติม BA ซึ่งมีความยาวเพียง 288.66 ไมครอน อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 10)

2.2.1.3 ผลร่วมระหว่าง NAA และ BA ต่อขนาดของเอ็มบริโอ

ความกว้างเฉลี่ยของเอ็มบริโอที่เลี้ยงบนอาหารสูตร VW (CMU1) ที่เติม NAA และ/หรือ BA ที่ระดับปริมาณต่าง ๆ กัน ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ถึง 12 สัปดาห์หลังการเพาะ พบว่าความกว้างของเอ็มบริโอมีขนาดเพิ่มขึ้นในแต่ละสัปดาห์ของการทดลอง (แผนภาพที่ 1) ในสัปดาห์ที่ 12 ขนาดของเอ็มบริโอ มีความกว้างเฉลี่ยมากที่สุดที่ 247.33 ไมครอน เมื่อเติม NAA ความเข้มข้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1 มล/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มล/ล รองลงมาคือกรรมวิธีที่มี NAA 0.1 มล/ล ร่วมกับ BA 2 มล/ล มีความกว้างเฉลี่ยคือ 242.66 ไมครอน (ตารางที่ 10 และแผนภาพที่ 1)

ในส่วนของความยาวเฉลี่ยของเอ็มบริโอความเข้มข้นของ NAA และ/หรือ BA มีผลต่อความยาวของเอ็มบริโอในสัปดาห์ที่ 12 หลังการเพาะ พบว่า ที่ความเข้มข้น NAA 0.1 มล/ล กับ BA 1 มล/ล มีผลต่อความยาวของเอ็มบริโอมากที่สุดที่ 382.66 ไมครอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนความเข้มข้น NAA 2 มล/ล ร่วมกับ BA 2 มล/ล มีความยาวเฉลี่ยของเอ็มบริโอ น้อยที่สุด 260.00 ไมครอน (ตารางที่ 10 และแผนภาพที่ 2)

2.2.2 ผลของ NAA และ BA ต่อการงอกและเปอร์เซ็นต์การงอก

เมล็ดเริ่มมีการงอกในช่วงสัปดาห์ที่ 3ในทุกกรรมวิธีการทดลอง โดยพบเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดคือ 47.72% บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มล/ล เพียงอย่างเดียว และ พบเปอร์เซ็นต์การงอกน้อยที่สุดในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 2 มล/ล และ BA ความเข้มข้น 0 มล/ล คือ 23.29% (ตารางที่ 11)

เมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดนาน 12 สัปดาห์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดมากขึ้นในทุกกรรมวิธี เปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุด คือ 83.40 % บนอาหารที่มี NAA 0 มล/ล ร่วมกับ BA 2 มล/ล รองลงมาอาหารที่มี NAA 2 มล/ล ร่วมกับ BA 2 มล/ล, NAA 1 มล/ล ร่วมกับ BA 2 มล/ล, NAA 0 มล/ล ร่วมกับ BA 1 มล/ล, NAA 0.1 มล/ล ร่วมกับ BA 2 มล/ล, NAA 0.1 มล/ล ร่วมกับ BA 1 มล/ล, NAA 0.1 มล/ล ร่วมกับ BA 0 มล/ล, NAA 1 มล/ล ร่วมกับ BA 0 มล/ล, NAA 2 มล/ล ร่วมกับ BA 1 มล/ล, NAA 2 มล/ล ร่วมกับ BA 0 มล/ล และ NAA 1 มล/ล ร่วมกับ BA 1 มล/ล ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์งอก คือ 82.61, 81.81, 81.25, 81.13, 81.02, 80.79, 80.79, 80.68, 80.68 และ 79.54% ตามลำดับ และ พบการงอกน้อยที่สุดในอาหารที่ไม่เติม NAA และ BA โดยงอก 78.97% (ตารางที่ 12 และ แผนภาพที่ 3)

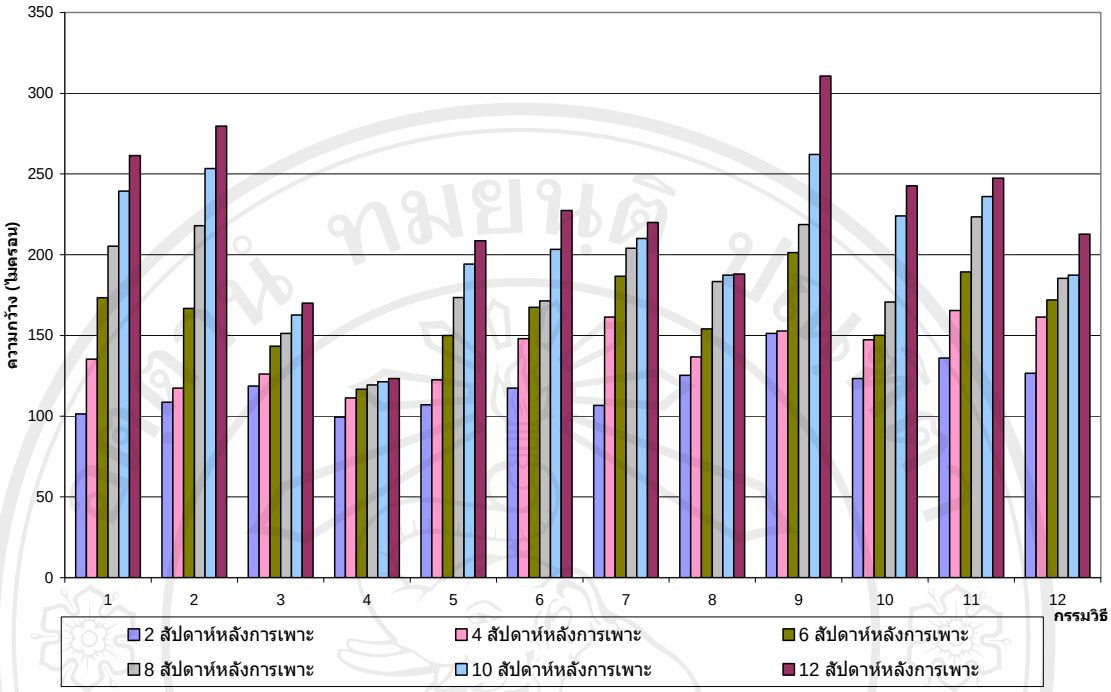
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 10 ผลของ NAA และ BA ต่อขนาดเฉลี่ยของเอ็มบริโอหลังการเพาะเมล็ด 12 สัปดาห์

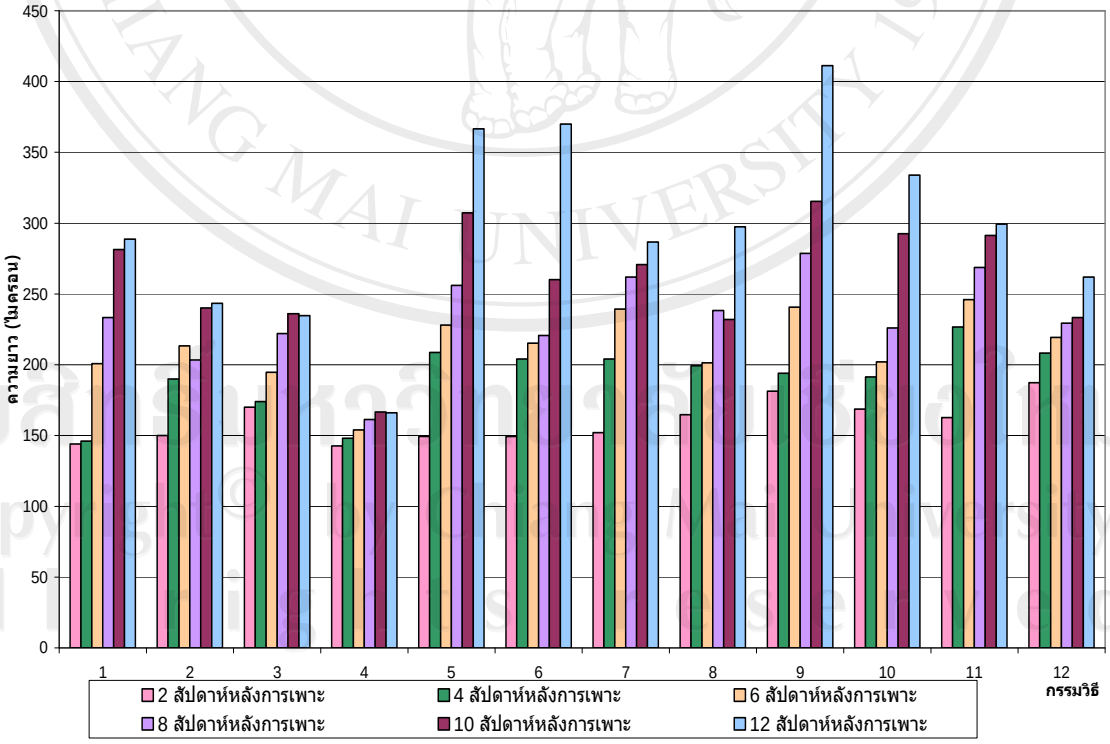
ปัจจัย (factor)		ความกว้าง	ความยาว
NAA (มล/ล)		(ไมครอน)	(ไมครอน)
0		261.33[b]	288.67[b]
0.1		300.66[a]	382.80[a]
1		170.00[c]	212.22[c]
2		123.33[d]	202.22[d]
F-test		*	*
BA (มล/ล)			
0		261.33[a]	288.66[b]
1		258.66[b]	348.00[ab]
2		258.66[b]	397.33[a]
F-test		*	*
Interaction A × B			
NAA (มล/ล)	BA (มล/ล)		
0	0	261.33[bcd]	288.67[cdef]
0.1	0	300.66[abc]	382.80[ab]
1	0	170.00[de]	212.22[fg]
2	0	123.33[e]	202.22[g]
0	1	258.66[ab]	348.00[abcd]
0.1	1	227.33[abc]	382.66[ab]
1	1	220.00[bcd]	286.67[defg]
2	1	188.00[cd]	355.33[abc]
0	2	258.66[ab]	397.33[a]
0.1	2	242.66[b]	304.00[bcde]
1	2	247.33[ab]	286.66[cdef]
2	2	212.66[bcd]	260.00[efg]
F-test		*	*
CV (%)		18.66	21.22

[1/]ที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี LSD

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



แผนภาพที่ 1 ผลของ NAA และ BA ต่อความกว้างเฉลี่ยของเอ็มบริโอ

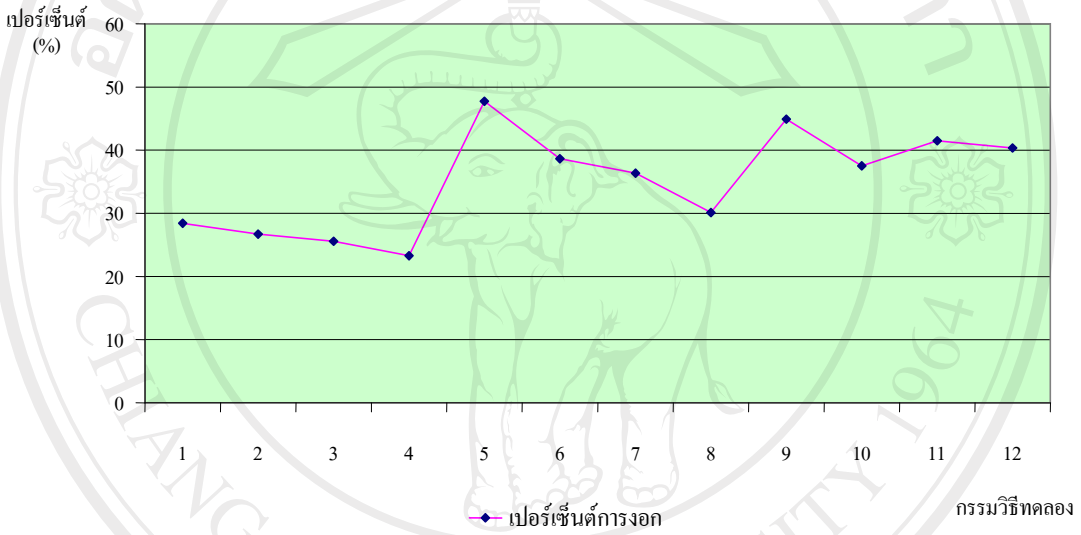


แผนภาพที่ 2 ผลของ NAA และ BA ต่อความยาวเฉลี่ยของเอ็มบริโอ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 11 ผลของ NAA และ BA ต่อ เปอร์เซ็นต์การงอกหลังการเพาะเมล็ด 3 สัปดาห์

BA (มล/ล)	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2
NAA (มล/ล)	0	0.1	1	2	0	0.1	1	2	0	0.1	1	2
การงอก (%)	28.40	26.7	25.56	23.29	47.72	38.63	36.36	30.11	44.88	37.50	41.47	40.34

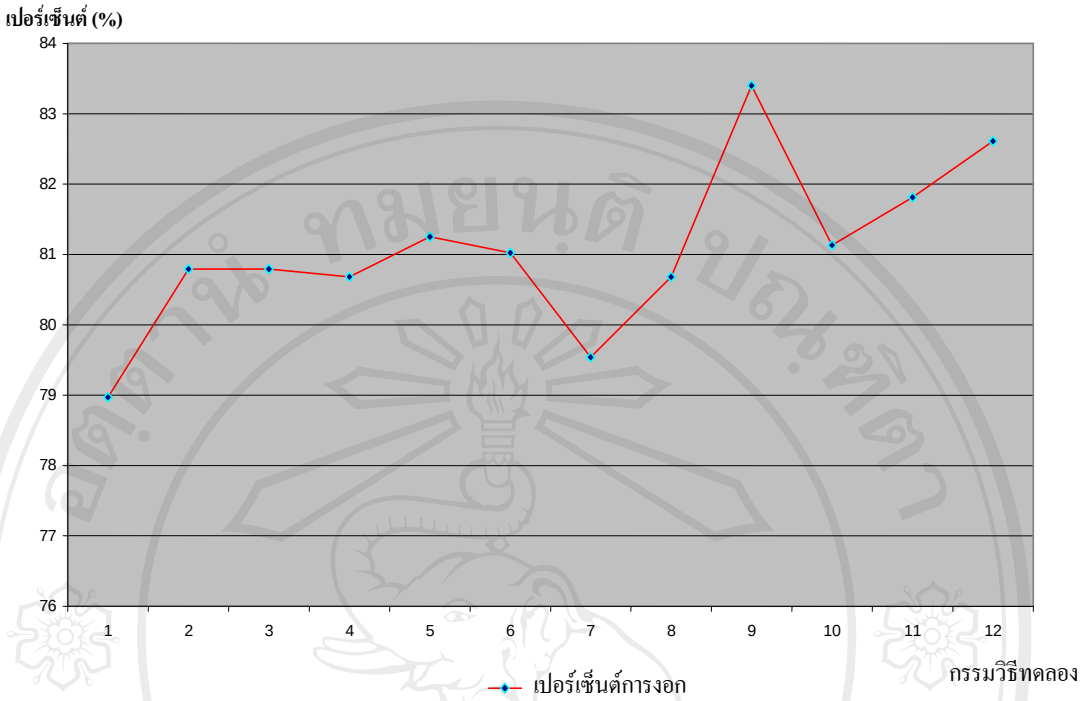


แผนภาพที่ 3 ผลของ NAA และ BA ต่อเปอร์เซ็นต์การงอกหลังการเพาะเมล็ด 3 สัปดาห์

ตารางที่ 12 ผลของ NAA และ BA ต่อเปอร์เซ็นต์การงอกหลังการเพาะเมล็ด 12 สัปดาห์

BA (มล/ล)	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2
NAA (มล/ล)	0	0.1	1	2	0	0.1	1	2	0	0.1	1	2
การงอก (%)	78.97	80.79	80.79	80.68	81.25	81.02	79.54	80.68	83.40	81.13	81.81	82.61

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

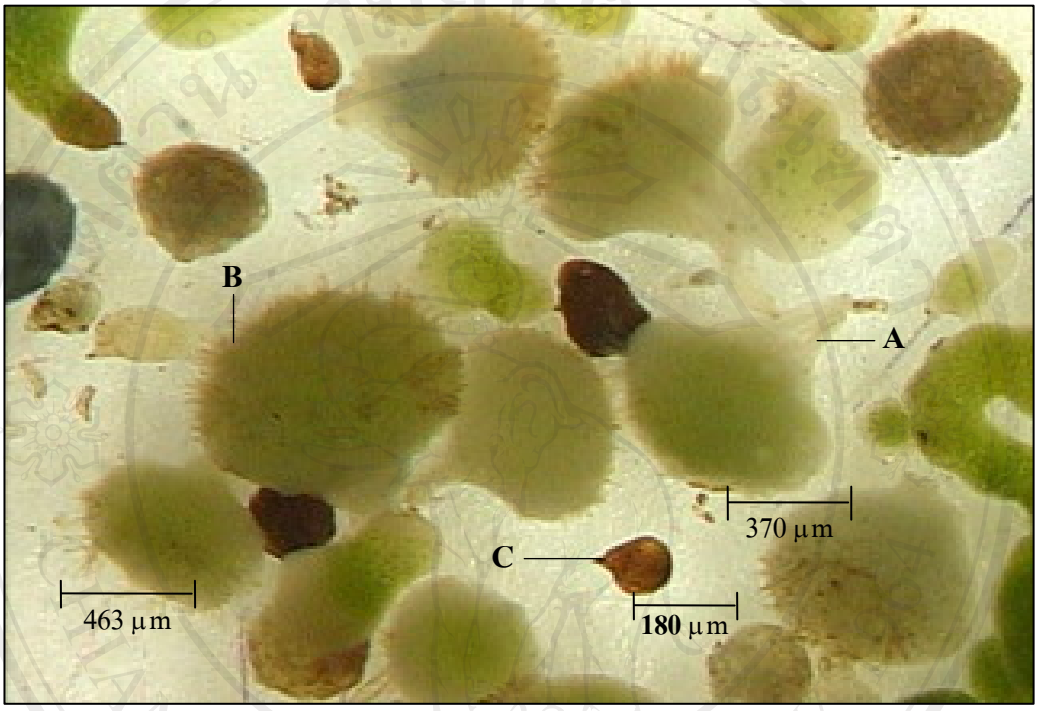


แผนภาพที่ 4 ผลของ NAA และ BA ต่อเปอร์เซ็นต์การงอกหลังการเพาะเมล็ด 12 สัปดาห์

2.2.3 การเปลี่ยนแปลงและพัฒนาการของเมล็ด

จากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาการของเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในกรรมวิธีต่าง ๆ ที่มี NAA และ BA ในอาหารเหลว เป็นระยะเวลานาน 12 สัปดาห์ เห็นว่า เมื่อเมล็ดมีการงอกนั้น เมล็ดจะพัฒนา และเจริญเป็นโปรโตคอร์ม โดยที่หลังจากเพาะเลี้ยงเมล็ดได้นาน 3-4 สัปดาห์ เมล็ดเริ่มงอก มีการเปลี่ยนแปลงทางรูปร่างลักษณะจากเมล็ดขนาดเล็ก ขยายขนาดออกเป็นโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นจุดคล้ายไข่ปลา จุดเล็ก ๆ สีขาว มีขนละเอียดปกคลุมเกือบทั่ว หลังจากนั้นโครงสร้างดังกล่าวงอกยอดออกมา จากนั้นอีก 1 สัปดาห์โปรโตคอร์มเปลี่ยนสีจากสีขาวเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน และมีขนาดเพิ่มขึ้น ยอดที่งอกออกมานั้นยาวขึ้นแล้วกลายเป็นยอดสีขาว (ภาพที่ 23) ซึ่งเมล็ดที่มีการพัฒนายอดสีขาวขึ้นมานี้เป็น เมล็ดที่อยู่ในอาหารที่เติม BA ส่วนอาหารที่เติม NAA ทุกความเข้มข้นกลับมีลักษณะตรงกันข้าม เมล็ดเจริญเป็นโปรโตคอร์มขนาดเล็กที่ไม่สร้างยอด ในสัปดาห์ที่ 8 หลังการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเริ่มทยอยกันเปลี่ยนเป็นสีดำแล้วตายในที่สุด แต่อย่างไรก็ตามในการเพาะเลี้ยงเมล็ดนี้ พบว่า ในอาหารที่มี BA ซึ่งมีการเจริญของโปรโตคอร์มนั้น การพัฒนาหยุดอยู่ที่ระยะการสร้างยอดสีขาวขึ้นมาเท่านั้น ไม่มีการพัฒนาไปเป็นต้นอ่อน แม้ว่าจะเลี้ยงมานานถึง 12 สัปดาห์แล้วก็ตาม (ภาพที่ 23 และ 24)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



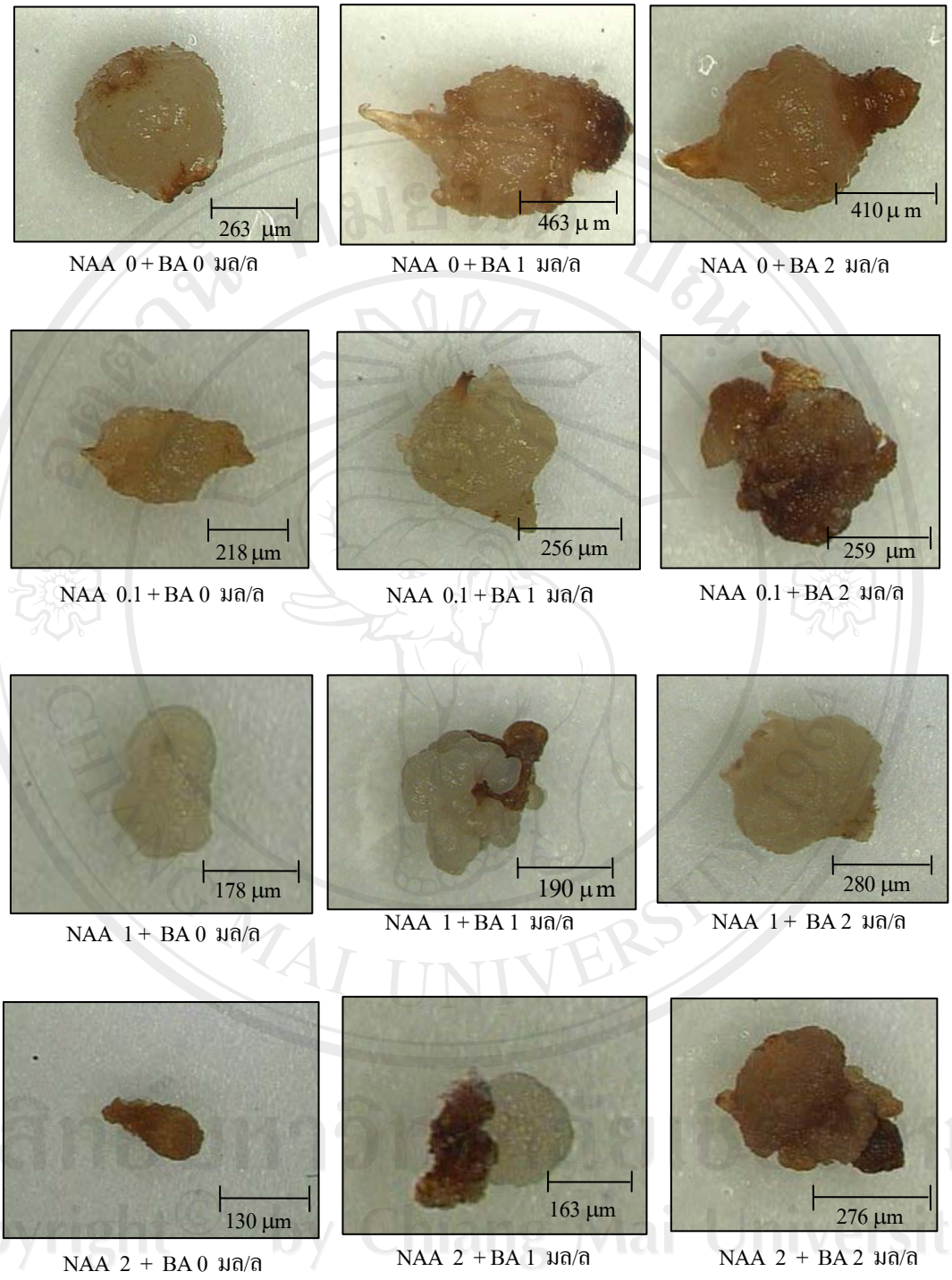
ภาพที่ 23 ลักษณะของโปรโตคอร์มที่มีการพัฒนาไปเป็นยอด

A ยอด

B โปรตคอร์มที่มีขนปกคลุม

C โปรโตคอร์มที่หมดสภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 24 ลักษณะของโปรโตคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลา 20 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 ผลของสูตรอาหารต่อการเพาะเลี้ยงอับเรณู

การทดลองนี้เป็นการทดลองเพาะเลี้ยงอับเรณูของเอื้องน้ำต้น โดยศึกษาผลของสูตรอาหาร 2 สูตร คือ **สูตร VW** และ **สูตร MS** โดยที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารที่ทดลองด้วยทั้ง 2 สูตร

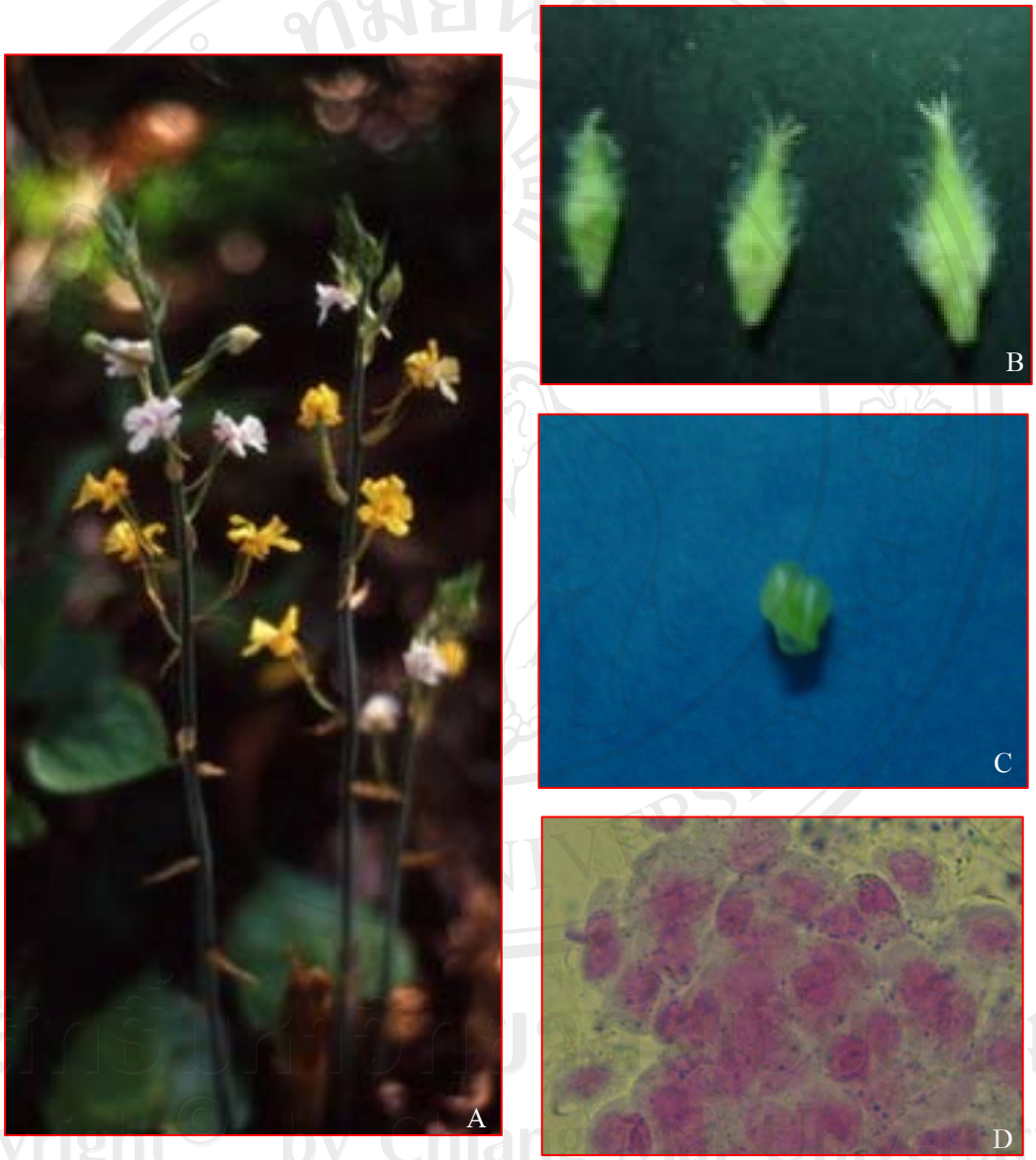
การศึกษาครั้งนี้ใช้วัสดุทดลองเป็นอับเรณูจากดอกอ่อนของเอื้องน้ำต้น ก่อนที่จะทดลองการเพาะเลี้ยงอับเรณูนั้นจะต้องทดสอบระยะการเจริญเติบโตของอับเรณูที่จะนำไปเพาะเลี้ยงเสียก่อน เนื่องจากต้องการจะใช้เรณูที่อยู่ในระยะ 1 นิวเคลียส (uninucleate microspore) เท่านั้น ในการตรวจดูระยะการพัฒนาของเรณูพบว่า มีความสัมพันธ์กับขนาดของดอก คือ ดอกที่มีขนาดเดียวกันมีระยะการพัฒนาของเรณูอยู่ในระยะเดียวกัน ดอกเอื้องน้ำต้นที่มีขนาดดอกอยู่ระหว่าง 0.3-0.5 มม มีเรณูอยู่ในระยะ 1 นิวเคลียสมากกว่าดอกอ่อนขนาดอื่น ๆ จึงใช้ดอกอ่อนขนาดดังกล่าวในการนำไปเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 25)

ในขั้นตอนของการเตรียมดอกและอับเรณูเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงนั้น ต้องทดสอบขั้นต้นในการตอบสนองของอับเรณูกับอาหารวุ้นก่อน โดยการเลือกดอกของเอื้องน้ำต้น 3 ขนาดคือ 0.01 × 0.01, 0.05 × 0.05 และ 0.1 × 0.1 มม แล้วเอาอับเรณูจากดอกเหล่านั้นไปผ่านกรรมวิธีการเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร VW (CMU1) เป็นเวลา 15 วัน หลังจากนั้นพบว่าอับเรณูจากดอกที่มีขนาด 0.05 ×0.05 มม ตอบสนองต่ออาหารเลี้ยงดีกว่าอับเรณูจากดอกอีก 2 ขนาด จึงคัดเลือกอับเรณูขนาด 0.05 × 0.05 มม เพื่อนำไปเพาะเลี้ยงตามกรรมวิธีที่กำหนด คือ เลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร VW (CMU1) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตด้วย

3.1 ผลของสูตรอาหาร VW ร่วมกับ 2, 4-D ต่อการเพาะเลี้ยงอับเรณู

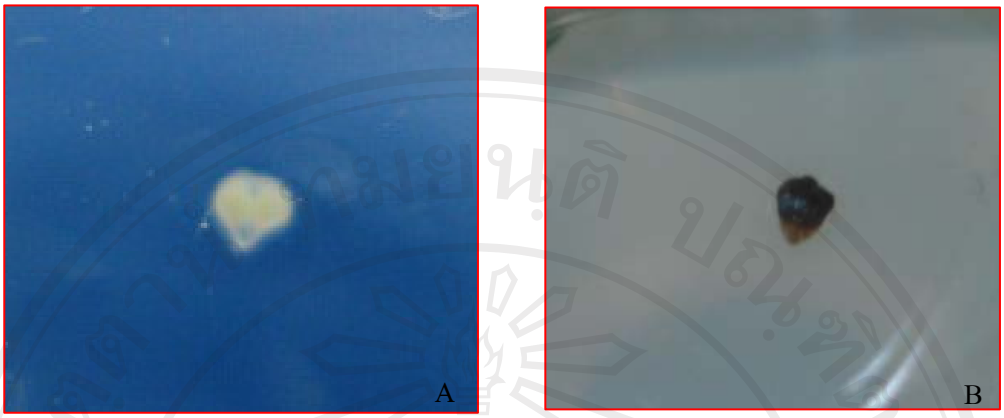
ในการเพาะเลี้ยงอับเรณูนั้น ต้องนำอับเรณูไปบ่มในสารละลายน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 3% และ 6% ก่อน เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นจึงจะนำไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร VW (CMU1) ที่เติม NAA 2 มล/ล, BA 1 มล/ล และ 2, 4-D ที่ความเข้มข้น 0, 2 และ 4 มล/ล พบว่าอับเรณูที่เลี้ยงในสูตรอาหารในทุกกรรมวิธี ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ เกิดขึ้น หลังจากที่เลี้ยงบนอาหารเป็นเวลา 1 เดือน ตรวจสอบดูพบว่า อับเรณูเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน และเมื่อนำไปตรวจสอบความมีชีวิตโดยทดสอบกับ 2, 3, 5- triphenyl tetrazolium chloride (TTC) พบว่าอับเรณูไม่มีชีวิต เนื่องจากเนื้อเยื่อไม่ติดสีแดง เมื่อเลี้ยงไว้นาน 2 เดือน พบว่าอับเรณูเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มในทุกกรรมวิธี (ภาพที่ 26)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 25 ลักษณะของช่อดอก (A), ดอกอ่อน (B), อับเรณู (C) และเรณูในระยะ 1 นิวเคลียส (D)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 26 อับเรณูที่เลี้ยงบนอาหาร VW ร่วมกับ 2, 4-D เป็นเวลา 30 วัน

A อับเรณูหลังจากเลี้ยงนาน 7 วัน

B อับเรณูหลังจากเลี้ยงนาน 30 วัน

3.2 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับ 2, 4-D ต่อการเพาะเลี้ยงอับเรณู

การเพาะเลี้ยงอับเรณูขนาด 0.05 ×0.05 มม บนอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA 2 มล/ล, BA 1 มล/ล และ 2, 4-D เข้มข้น 2 และ 4 มล/ล พบว่าผลที่ได้เป็นไปในลักษณะเดียวกันกับการทดลองที่ 3.1 คือ หลังจาก 15 วันของการเพาะเลี้ยง อับเรณูส่วนใหญ่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทั้งอัน และเมื่อนำไปตรวจสอบ พบว่าอับเรณูไม่มีชีวิต เมื่อเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ พบว่าเนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีดำและตายไป (ภาพที่ 27)

ภาพที่ 27 อับเรณูที่เลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ 2, 4-D นาน 2 เดือน

A อับเรณูหลังจากเลี้ยงนาน 7 วัน

B อับเรณูหลังจากเลี้ยงเป็นนาน 30 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต

การทดลองนี้เป็นการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด คือ NAA และ BA ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนของกิ่งก้านของเอื้องน้ำต้น เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ การทดลองนี้แบ่งเป็น 3 การทดลองย่อย คือ ผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนใบอ่อน ผลของ NAA และ TDZ ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนก้านช่อดอกอ่อน และ ผลของ 2, 4-D และ TDZ ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนปลายยอด

4.1 ผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนใบอ่อน

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของเอื้องน้ำต้นบนอาหารแข็งสูตร VW(CMU1) ที่เติม NAA และ BA ที่ความเข้มข้นต่างกันพบว่า หลังจากเพาะเลี้ยงได้เพียง 6-7 วัน บริเวณรอยตัดของเนื้อเยื่อเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล และเมื่อเลี้ยงต่อไปอีก 10 วัน ชิ้นส่วนเริ่มมีการปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาจากบริเวณรอยตัด เป็นผลให้ชิ้นส่วนใบ และอาหารมีการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลหรือดำ แม้จะย้ายชิ้นส่วนไปเลี้ยงลงบนอาหารใหม่ เมื่อเพาะเลี้ยงได้อีก 30 วัน ชิ้นส่วนใบยังคงปลดปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาในลักษณะเดิมอีก เมื่อเพาะเลี้ยงนานขึ้น พบว่าเนื้อเยื่อบริเวณที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หรือสีดำ เริ่มลามเข้าไปด้านในเรื่อย ๆ และต่อมาเนื้อเยื่อตายไปทั้งชิ้น (ภาพที่ 28)

4.2 ผลของ TDZ และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนก้านช่อดอกอ่อน

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านช่อดอกอ่อนโดยตัดชิ้นส่วนมาจากก้านช่อดอก โดยตัดเป็นท่อนให้มีความยาวท่อนละ 1 ซม นำไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW (CMU1) ที่เติม TDZ และ NAA ความเข้มข้นต่างกันตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้ พบว่าชิ้นส่วนในทุกกรรมวิธีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลตรงบริเวณรอยตัด เมื่อเลี้ยงได้ 30 วัน แล้วลามลงมาเรื่อยจนทั่วทั้งชิ้นส่วนนั้น ต่อมาเนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้นบางส่วนของเนื้อเยื่อเริ่มตายไปหลังจากเลี้ยงได้ 60 วัน และการย้ายชิ้นส่วนลงในอาหารใหม่ไม่สามารถช่วยให้ชิ้นส่วนอยู่รอดได้ (ภาพที่ 29)

4.3 ผลของ 2, 4-D และTDZ ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนปลายยอด

การทดลองนี้เป็นการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนปลายยอด โดยการนำชิ้นส่วนปลายยอดไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW (CMU1) ที่เติม 2, 4-D เข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มก/ล และ TDZ เข้มข้น 0, 1.0 และ 2.0 มก/ล เป็นเวลา 120 วัน

จากการทดลองเมื่อพิจารณาถึงการเกิดแคลลัส พบว่าไม่มีสูตรอาหารใดที่จะมีผลทำให้เนื้อเยื่อสร้างแคลลัส สำหรับความมีชีวิตรอดของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงพบว่า เนื้อเยื่อปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตรที่เติม และไม่เติม 2, 4-D และ TDZ มีการรอดชีวิตสูงถึง 100% (ตารางที่ 13)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

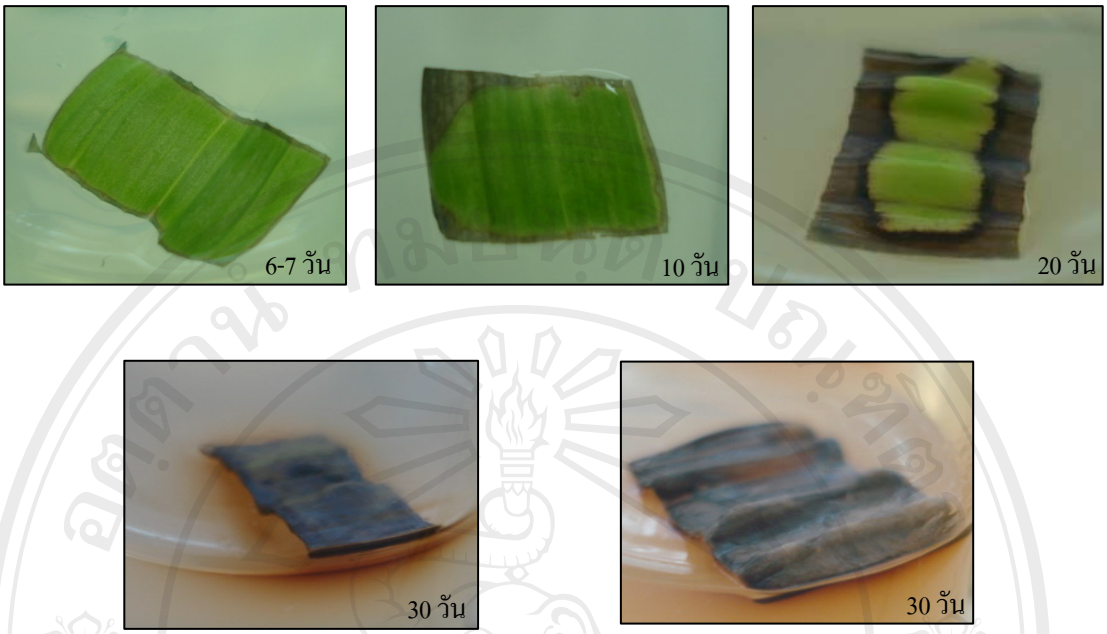
เมื่อพิจารณาปัจจัยหลัก 2, 4-D จะเห็นว่า 2, 4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันมีผลทำให้จำนวนใบ จำนวนราก และความสูง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จำนวนที่เกิดยอดใหม่นั้นไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อความเข้มข้นของ 2, 4-D เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ จำนวนใบ ความสูง และ จำนวนรากลดลง (ตารางที่ 14) การเติม 2, 4-D 0.1 มล/ล เพียงอย่างเดียว ส่งผลให้เกิดการงอกรากสูงที่สุด คือ 6.2 รากต่อต้น สำหรับปัจจัยของ TDZ นั้นมีผลทำให้จำนวนยอดลดลง แต่จำนวนรากเพิ่มขึ้น ส่วนจำนวนใบและความสูงเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาถึงปฏิสัมพันธ์ของ 2, 4-D และ TDZ พบว่าทั้ง 2 ปัจจัยมีปฏิสัมพันธ์กัน โดยที่กรรมวิธีที่ 2, 4-D และ TDZ ที่ความเข้มข้นสูงเท่ากันคือ 2 มล/ล ให้จำนวนยอดสูงสุดคือ 6.2 ยอดต่อต้นโดยเฉลี่ย และกรรมวิธีการเติม 2, 4-D 1 มล/ล และ TDZ 2 มล/ล ให้ผลในการเกิดรากมากคือ 5.2 รากต่อต้นโดยเฉลี่ย ส่วนในแง่ของจำนวนใบต่อต้นและความสูงต้นนี้พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่14 แผนภาพที่ 7 และภาพที่ 30)

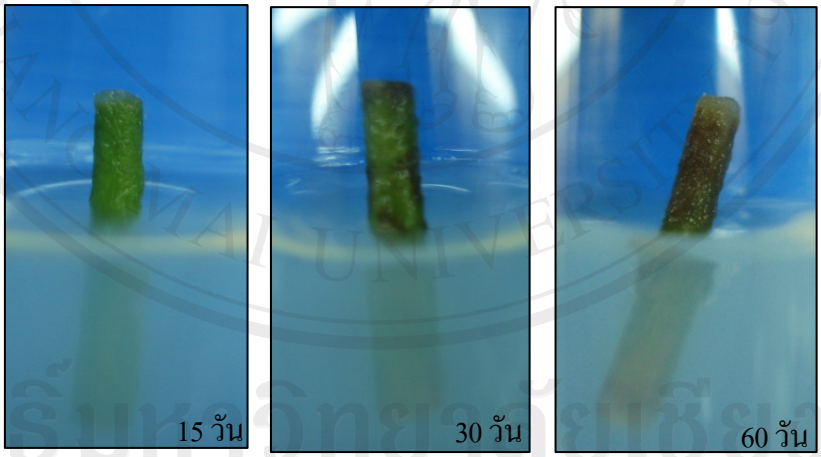
ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัส และ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW (CMU1) ที่เติม 2, 4-D และ TDZ

2, 4-D (มล/ล)	TDZ (มล/ล)	การสร้างแคลลัส (%)	การรอดชีวิต (%)
0	0	0	100
0.1	0	0	100
1	0	0	100
2	0	0	100
0	1	0	100
0.1	1	0	100
1	1	0	100
2	1	0	100
0	2	0	100
0.1	2	0	100
1	2	0	100
2	2	0	100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 28 ลักษณะของชิ้นส่วนใบที่เลี้ยงเป็นเวลานานต่างกันบนอาหารสูตร VW



ภาพที่ 29 ลักษณะของชิ้นส่วนก้านช่อดอกอ่อนที่เลี้ยงเป็นเวลานานต่างกัน บนอาหาร สูตร VW ที่เติม TDZ และ NAA

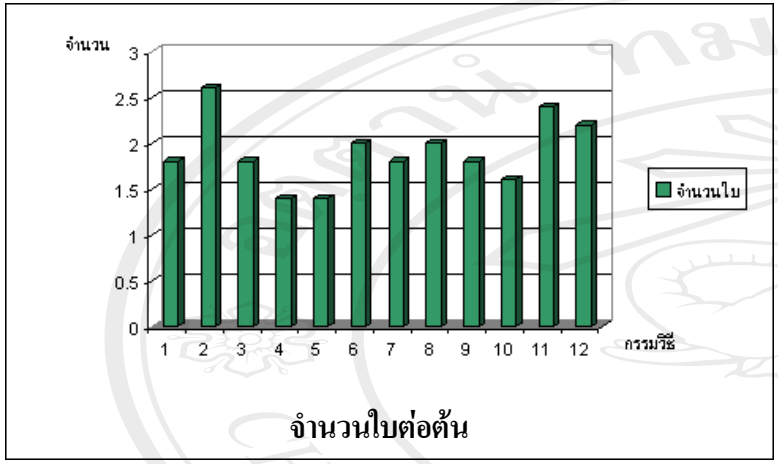
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 14 จำนวนยอด จำนวนราก จำนวนใบ และ ความสูงต้น ของเนื้อเยื่อปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (CMU1) ที่เติม 2, 4-D และ TDZ

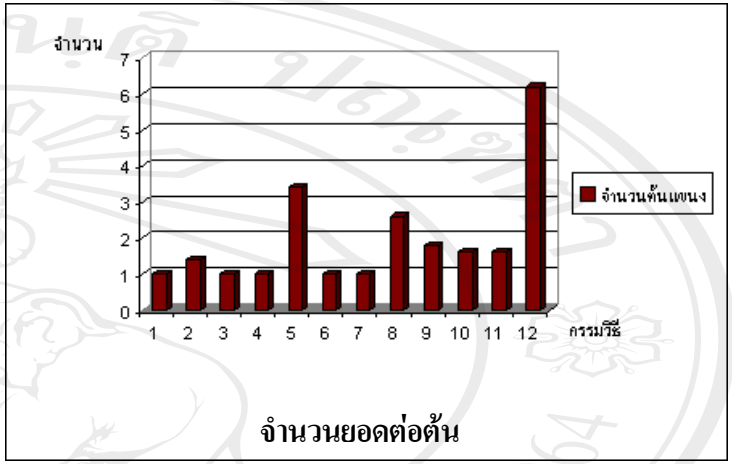
ปัจจัย (Factor)		จำนวนยอด	จำนวนราก	จำนวนใบ	ความสูง (ซม)
2, 4-D (มล/ล)					
0		1.0	2.0^{c}	1.8^{ab}	1.46^{b}
0.1		1.4	6.2^{a}	2.6^{a}	3.04^{a}
1		1.0	3.8^{b}	1.8^{ab}	1.64^{ab}
2		1.0	2.4^{bc}	1.4^{b}	1.34^{b}
F-test		ns	*	*	*
TDZ (มล/ล)					
0		1.0^{b}	2^{b}	1.8	1.46
1		3.4^{a}	1.6^{b}	1.4	1.26
2		1.8^{b}	3.6^{a}	1.8	1.58
F-test		*	*	ns	ns
		Interaction A × B			
2, 4-D (มล/ล)	TDZ (มล/ล)				
0	0	1.0^{d}	2.0^{fg}	1.8	1.46
0.1	0	1.4^{d}	6.2^{a}	2.6	3.04
1	0	1.0^{d}	3.8^{cd}	1.8	1.64
2	0	1.0^{d}	2.4^{fg}	1.4	1.34
0	1	3.4^{b}	1.6^{g}	1.4	1.26
0.1	1	1.0^{d}	1.8^{fg}	2.0	1.30
1	1	1.0^{d}	5.2^{ab}	1.8	2.18
2	1	2.6^{bc}	2.6^{etg}	2.0	1.86
0	2	1.8^{cd}	3.6^{de}	1.8	1.58
0.1	2	1.6^{cd}	4.8^{bc}	1.6	1.32
1	2	1.6^{cd}	5.2^{ab}	2.4	1.50
2	2	6.2^{a}	2.8^{def}	2.2	1.76
F-test		*	*	ns	ns
CV (%)		47.33	26.85	33.97	51.24

1/ อักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี LSD

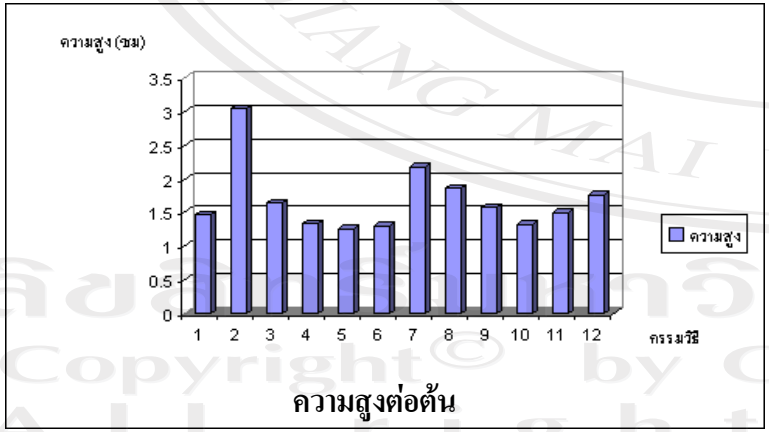
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



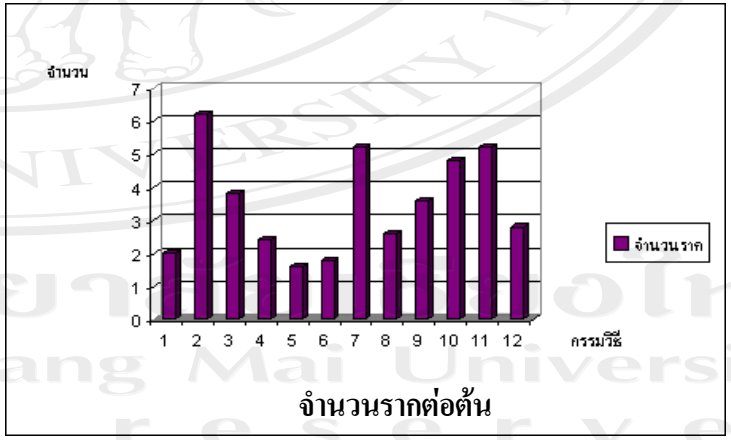
จำนวนใบต่อต้น



จำนวนยอดต่อต้น



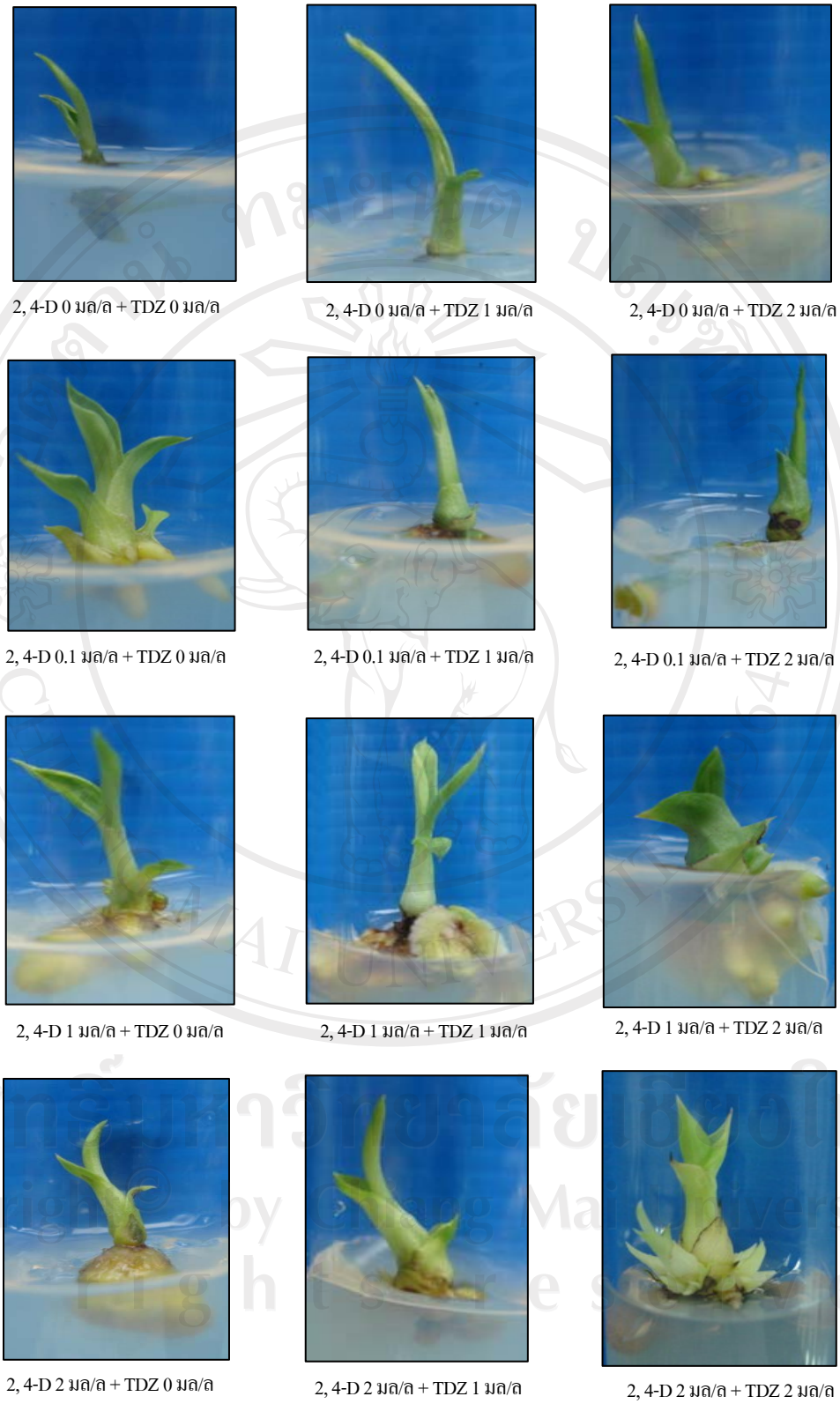
ความสูงต่อต้น



จำนวนรากต่อต้น

แผนภาพที่ 5 จำนวนยอด ราก ใบ และความสูงต้น ของเนื้อเยื่อปลายยอดเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW (CMU1) ที่เติม 2, 4-D และ TDZ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



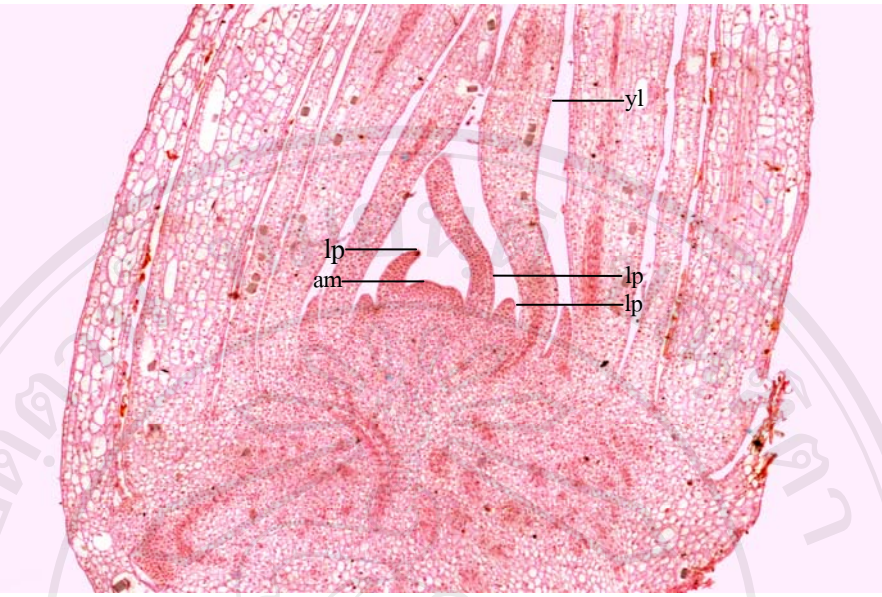
ภาพที่ 30 ลักษณะของเนื้อเยื่อปลายยอดที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW (CMU1) ที่เติม 2, 4-D และ TDZ เข้มข้นแตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในระหว่างที่ติดตามการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW (CMU1) ซึ่งเติม 2, 4-D และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ นั้น สังเกตพบว่า ชิ้นส่วนที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมียอดเพียงยอดเดียว ส่วนเนื้อเยื่อปลายยอดที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม 2, 4-D และ TDZ นาน 120 วัน มีการแตกหน่อ โดยเฉพาะในกรรมวิธีที่อาหารเติม 2, 4-D 2 มล/ล ร่วมกับ TDZ 2 มล/ล นั้นเนื้อเยื่อปลายยอดแตกหน่อได้จำนวนมาก (ภาพที่ 30) จึงนำตัวอย่างเนื้อเยื่อจากกรรมวิธีดังกล่าวมาศึกษาเนื้อเยื่อโดยการนำไปตัดตามยาว พบว่า ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อปลายยอดในกรรมวิธีที่ไม่มีการแตกหน่อข้างนั้น เนื้อเยื่อคงลักษณะของปลายยอดไว้ โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อดูจากภาคตัดตามยาวของเนื้อเยื่อจะเห็นปลายยอดเป็นเนื้อเยื่อเจริญ (apical meristem :am) รูปโดม มีจุดกำเนิดใบ (leaf primordia : lp) หุ้มไว้ (ภาพที่ 31) สำหรับเนื้อเยื่อของกรรมวิธีที่มีการแตกหน่อมากขึ้นเมื่อดูจากภาคตัดตามยาว (ภาพที่ 32) จะเห็นว่าเนื้อเยื่อตาข้าง (lateral bud : lb) ปรากฏอยู่มากมายที่บริเวณฐานของชิ้นส่วน และ ตาข้างเหล่านี้เกิดออกมาจากซอกใบ เป็นตาข้างขนาดใหญ่ที่มีจุดเจริญ(growing point : gp) เห็นได้ชัดเจน และ จุดเจริญ เหล่านี้มีจุดกำเนิดใบ(lp) ครอบซ้อนกันอยู่เป็นชั้น ๆ แสดงถึงความตื่นตัวของเนื้อเยื่อในการที่จะเจริญไปเป็นหน่อ

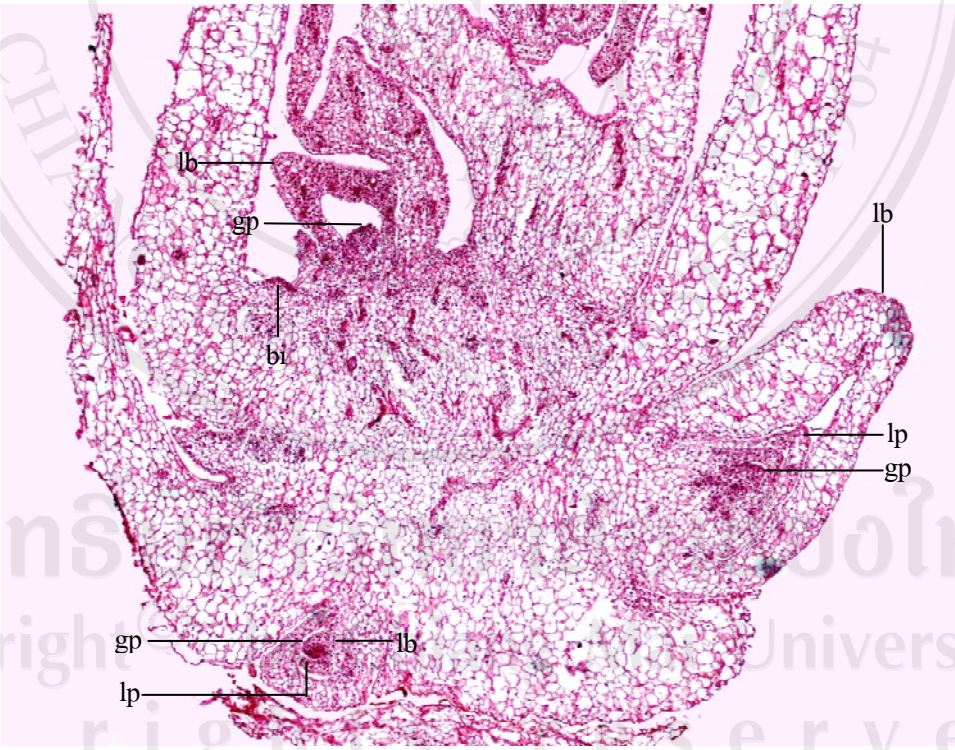
จากการสังเกตเห็นว่ารากที่เกิดขึ้นบนอาหารที่เติม 2, 4-D ร่วมกับ TDZ ในทุกกรรมวิธีนั้น รากมีรูปร่างผิดปกติไปจากรากของกรรมวิธีควบคุม รากดังกล่าวมีลักษณะอวบใหญ่ สั้น มีตุ่มที่ปลาย (ภาพที่ 33) จึงนำเนื้อเยื่อปลายรากที่มีอาการผิดปกตินั้นไปศึกษาเนื้อเยื่อพบว่า เนื้อเยื่อประกอบด้วยกลุ่มเซลล์พาเรงคิมาอยู่หนาแน่น เมื่อดูจากภาคตัดตามยาวจะพบว่าบริเวณรอบนอกมีลักษณะของเนื้อเยื่อผิวเชิงซ้อน(multiple epidermis) โดยมีชั้นของเซลล์ผิว (epidermal layer) และชั้นของเซลล์ใต้เซลล์ผิว (subepidermis layers) ในลักษณะของวีเลเมน (velamen : v) และมีเนื้อเยื่อของสตีล (stele : s) อยู่ตรงกลาง ดังแสดงในภาพที่ 34 และเมื่อดูจากภาคตัดขวางของรากพบว่ามีเนื้อเยื่อผิวหรือวีเลเมน (v) อยู่ด้านนอก ส่วนด้านในเป็นเนื้อเยื่อคอร์เทกซ์ชนิดพาเรงคิมา (parenchymatous cortex : pc) ซึ่งการเกิดเนื้อเยื่อเช่นนี้เห็นได้ชัดเจนว่าการบวมพองของรากนั้นเป็นผลมาจากการเกิดการแบ่งเซลล์มากมายซึ่งน่าจะเป็นผลที่เกิดจากการกระตุ้นของออกซินและไซโตไคนินที่ใส่ลงไปในอาหาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 31 ภาคตัดตามยาวของเนื้อเยื่อปลายยอดที่ไม่มีการแตกหน่อ

am = apical meristem; lp = leaf primordia; yl = young leaf



ภาพที่ 32 ภาคตัดตามยาวของเนื้อเยื่อปลายยอดที่มี การแตกหน่อ

am = apical meristem ; bi = bud initial ; gp = growing point ; lb = lateral bud; lp = leaf primordia

yl = young leaf

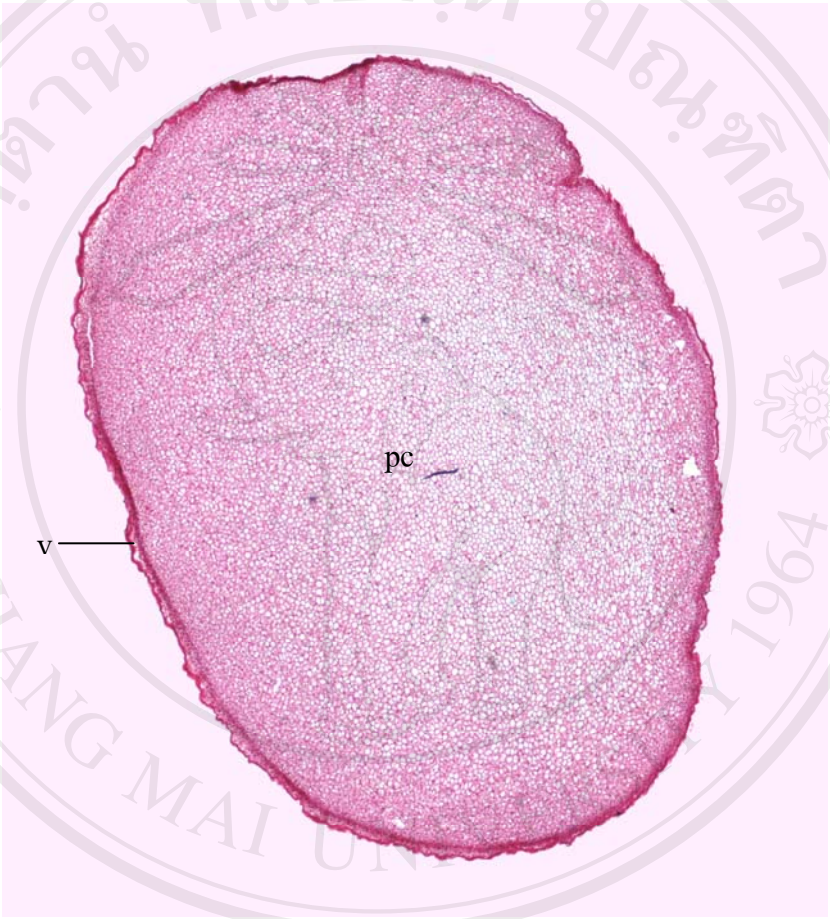
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 33 ลักษณะต้นอ่อนที่ปกติ (A) และต้นอ่อนที่มีรากผิดปกติ (B-D)

ภาพที่ 34 ภาคตัดตามยาวของปลายรากที่ได้รับ 2, 4-D และ TDZ

pc = parenchymatous cortex ; s = stele ; v = velamen

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 35 ภาคตัดขวางของปลายรากที่ผิดปกติของต้นอ่อนที่ได้รับ 2, 4-D และ TDZ

pc= parenchymatous cortex; v = velamen

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved