

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การงอกของละอองเกสรพืชกลุ่มปทุมมา และกลุ่มกระเจียวที่เก็บรักษาในสภาพต่าง กัน

การทดลองที่ 1.1 การเก็บรักษาละอองเกสรปทุมมาในสภาพต่าง กัน

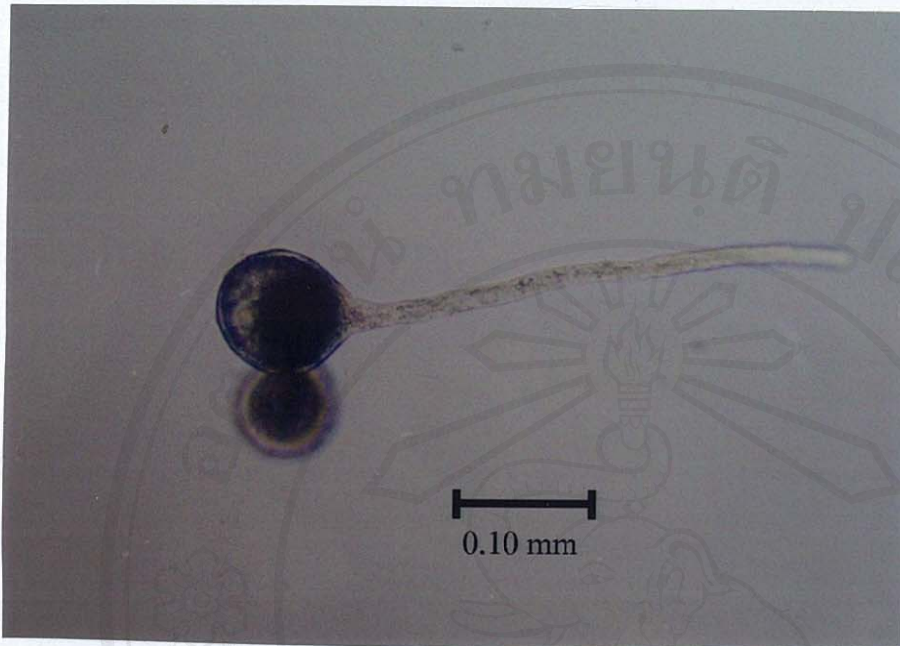
1.1.1 ผลของความเข้มข้นซูโครสต่อการงอกของละอองเกสร

ละอองเกสรที่เลี้ยงในน้ำยาที่มีซูโครส 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีการงอกของ หลอดละอองเกสรดีที่สุดคือ 22.5 และ 28.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 8 ลักษณะการงอกของหลอดละอองเกสรเป็นปกติ (ภาพที่ 10ก.) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นซูโครสขึ้นเป็น 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกจะลดลงเหลือเพียง 13.4 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้นพบลักษณะการงอกของหลอดละอองเกสรผิดปกติ (ภาพที่ 10ข.) โดยมีความแตกต่างจากการงอกที่ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ อย่างเห็นได้ชัด

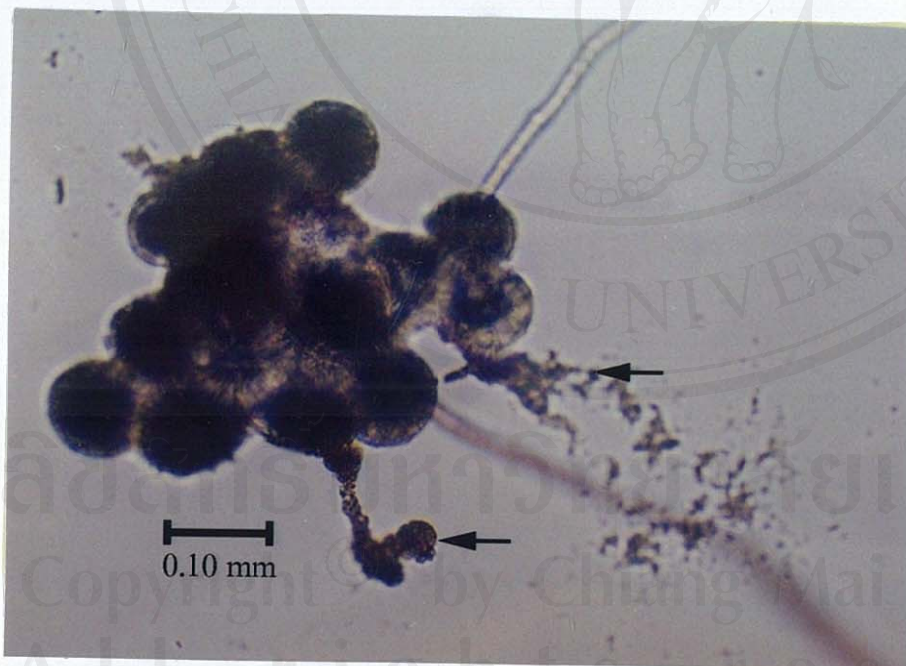
ตารางที่ 8 ความเข้มข้นของซูโครส ต่อการงอกของหลอดละอองเกสร

ความเข้มข้นซูโครส (เปอร์เซ็นต์)	การงอก ¹ (เปอร์เซ็นต์)
2.5	22.5 ^a
5	28.3 ^a
7.5	13.4 ^b
10	0.1 ^c
LSD	2.9

¹ อักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.05)



ก.



ข.

ภาพที่ 10 การงอกหลอดละอองเกสรของปทุมมาสายพันธุ์ 'Chiang Mai Pink'

ก. ลักษณะการงอกหลอดละอองเกสรปกติ (180x)

ข. ลักษณะการงอกของหลอดละอองเกสรที่ผิดปกติ (ลูกศรชี้) (145x)

1.1.2 ความมีชีวิตของละอองเกสรเมื่อเก็บรักษาไว้ในสภาพต่างกัน

ละอองเกสรปทุมมามีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตเพียง 48.9 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่แรกเก็บจากต้น และเมื่อเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพชั้นที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 วันยังคงมีความมีชีวิตสูงอยู่คือ 41.2 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9) แต่เมื่อเก็บละอองเกสรเป็นเวลา 3 - 10 วันความมีชีวิตจะลดลงอยู่ในช่วง 13.8 - 21.3 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเมื่อเก็บละอองเกสรเป็นเวลานาน 15 วันเกิดเชื้อราขึ้นบนละอองเกสร ในขณะที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความมีชีวิตลดลงเหลือ 9.6 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่วันแรกที่เก็บรักษา แล้วเกิดเชื้อราตั้งแต่วันที่ 3 เป็นต้นไป

ความมีชีวิตของละอองเกสรที่เก็บไว้ในสภาพแห้งที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ลดลงมากตั้งแต่วันแรกที่เก็บรักษา และเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงเป็น 5.1 - 17.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาไว้นาน 3 - 28 วัน และเมื่อเก็บในสภาพแห้งที่มีซิลิกาเจลอยู่ด้วยพบว่า ความมีชีวิตของละอองเกสรที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ก็ลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่วันแรกที่เก็บรักษาเช่นกัน ส่วนการเก็บรักษาในสภาพแห้งไม่มีการเสียหายจากเชื้อราจะเห็นว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส และเก็บในสภาพชั้นสามารถเก็บไว้ได้นานถึง 10 วัน โดยในวันที่ 6 ความมีชีวิตค่อนข้างสูงอยู่

ตารางที่ 9 ความมีชีวิตของ ตะอองเกสรที่เก็บรักษาในสภาพ และอุณหภูมิต่างกันเป็นเวลานาน
ต่างกัน

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	สภาพเก็บรักษา	ความมีชีวิต ¹ (เปอร์เซ็นต์)	
		25 องศาเซลเซียส	8 องศาเซลเซียส
0	-	48.9	-
1	สภาพชื้น	9.6	41.2
	สภาพแห้ง	9.4	11.2
	ซิลิกาเจล	9.2	8.6
3	สภาพชื้น	*	18.1
	สภาพแห้ง	7.9	7.6
	ซิลิกาเจล	4.9	5.4
6	สภาพชื้น	*	21.3
	สภาพแห้ง	17.0	11.5
	ซิลิกาเจล	15.3	5.1
10	สภาพชื้น	*	13.8
	สภาพแห้ง	13.2	8.6
	ซิลิกาเจล	1.9	10.1
15	สภาพชื้น	*	*
	สภาพแห้ง	7.7	5.1
	ซิลิกาเจล	2.8	8.0
21	สภาพชื้น	*	*
	สภาพแห้ง	7.9	6.2
	ซิลิกาเจล	4.8	7.8
28	สภาพชื้น	*	*
	สภาพแห้ง	6.3	9.2
	ซิลิกาเจล	11.3	9.5

¹ หมายถึง ไม่ได้นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ

* หมายถึง เกิดเชื้อราขึ้นบนตะอองเกสรที่เก็บรักษา

1.1.3 เปอร์เซ็นต์การงอกของหลอดละอองเกสร

หลอดละอองเกสรของปทุมมาที่เก็บจากต้น โดยตรง มีเปอร์เซ็นต์การงอกหลอดละอองเกสรเพียง 34.5 เปอร์เซ็นต์ และหลอดละอองเกสรจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส ในสภาพชื้นให้การงอกสูงสุดคือ 30.3 เปอร์เซ็นต์ หลังเก็บรักษาไว้นาน 1 วัน และเปอร์เซ็นต์การงอกจะลดลงเป็น 3.3 – 8.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาไว้นาน 3-10 วัน เมื่อเก็บรักษาไว้นาน 15 วันเกิดเชื้อราขึ้นบนหลอดละอองเกสรที่เก็บไว้จึงไม่ได้นำมาเลี้ยง และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสในสภาพชื้น การงอกของหลอดละอองเกสรเป็น 9.6 เปอร์เซ็นต์ หลังเก็บรักษาไว้นาน 1 วัน และเมื่อเก็บไว้นาน 3 วัน เกิดเชื้อราขึ้นบนหลอดละอองเกสร

การงอกของหลอดละอองเกสรจากอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียสในสภาพแห้งลดลงมากตั้งแต่วันแรกที่เก็บรักษา โดยเปอร์เซ็นต์การงอกจะลดลงเป็น 0.4 - 2.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาไว้นาน 3 - 28 วัน และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส การงอกของหลอดละอองเกสรเป็น 9.4 และ 8.8 เปอร์เซ็นต์ หลังเก็บรักษาไว้นาน 1 วัน และ 3 วันตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาไว้นาน 6 - 21 วัน เปอร์เซ็นต์ การงอกจะลดลงต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีการงอกของหลอดละอองเกสรเลย เมื่อเก็บรักษานาน 28 วัน

ในสภาพแห้งที่มีซิลิกาเจล ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เปอร์เซ็นต์การงอกของหลอดละอองเกสรต่ำมากตั้งแต่วันแรกที่เก็บรักษา คือ 1.9 และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เปอร์เซ็นต์การงอกของหลอดละอองเกสรจะลดลงต่ำมากเช่นกัน เมื่อเก็บหลอดละอองเกสรไว้นาน 3 - 6 วัน และในสภาพเก็บรักษานี้ไม่พบการงอกเลยเมื่อเก็บรักษานาน 10 วัน (ตารางที่ 10)

โดยสรุปสามารถเก็บรักษาหลอดละอองเกสรที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส ในสภาพชื้นได้นาน 10 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของหลอดละอองเกสรดีที่สุด เมื่อเก็บรักษาได้นานเพียง 1 วัน

ตารางที่ 10 การงอกของหลอดละอองเกสรปทุมมาสายพันธุ์ 'Chiang Mai Pink' ที่เก็บรักษาในสภาพต่างกันในช่วงเวลานานต่างกัน

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	สภาพเก็บรักษา	การงอก ¹ (เปอร์เซ็นต์)	
		25 องศาเซลเซียส	8 องศาเซลเซียส
0	-	34.6	-
1	สภาพชื้น	9.6	30.3
	สภาพแห้ง	9.4	1.0
	ซลิกาเจล	0.2	1.9
3	สภาพชื้น	*	8.8
	สภาพแห้ง	8.8	2.6
	ซลิกาเจล	2.7	0.7
6	สภาพชื้น	*	4.0
	สภาพแห้ง	0.8	0.8
	ซลิกาเจล	0.2	1.7
10	สภาพชื้น	*	3.3
	สภาพแห้ง	0.3	0.4
	ซลิกาเจล	0	0.4
15	สภาพชื้น	*	*
	สภาพแห้ง	0.6	0.8
	ซลิกาเจล	0	0.6
21	สภาพชื้น	*	*
	สภาพแห้ง	0.2	0.4
	ซลิกาเจล	0	0.6
28	สภาพชื้น	*	*
	สภาพแห้ง	0	0.4
	ซลิกาเจล	0.2	0.7

¹ หมายถึง ไม่ได้นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ

* หมายถึง เกิดเชื้อราขึ้นบนหลอดเกสรที่เก็บรักษา

การทดลองที่ 1.2 เปรียบเทียบการงอกของละอองเกสรพืชกลุ่มปทุมมา และกลุ่มกระเจียวที่ใช้ทำการผสม

จากการทดลอง พบว่าละอองเกสรพืชกลุ่มปทุมมา และกลุ่มกระเจียวที่เก็บจากแปลงทดลองก่อนการเก็บรักษาในสภาพชื้น ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเกสร สูงสุด คือสายพันธุ์ C-28 และ BK (ตารางที่ 11) โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกเป็น 56.8 และ 54.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ในสายพันธุ์ K-38 และ OR มีเปอร์เซ็นต์การงอกน้อยมากเพียง 0.5 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เมื่อเก็บรักษาละอองเกสรนาน 1 วัน พบว่าพืชกลุ่มกระเจียวสายพันธุ์ MM มีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงอย่างรวดเร็ว โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 3.1 จาก 31.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเก็บรักษาละอองเกสรนาน 6 วัน พืชกลุ่มปทุมมาและกลุ่มกระเจียวทุกสายพันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อเก็บรักษาละอองเกสรต่อไปนาน 10 วัน พืชกลุ่มปทุมมาเพียง 3 สายพันธุ์ที่ยังงอกได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 2.3-8.8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนละอองเกสรจากกลุ่มกระเจียวไม่สามารถงอกได้เลย

ตารางที่ 11 การงอกของหลอดละอองเกสรพืชกลุ่มปทุมมา และกลุ่มกระเจียว ที่เก็บรักษาไว้
เวลานานต่างกัน

เวลาการเก็บรักษา (วัน)	สายพันธุ์	เปอร์เซ็นต์การงอก ¹
0	CMP	40.5
	C-28	56.8
	BK	54.8
	BC	40.4
	MM	31.5
	OR	0
	K-38	0.5
1	CMP	32.9
	C-28	53.0
	BK	51.2
	BC	38.6
	MM	3.1
	OR	0
	K-38	1.7
3	CMP	23.0
	C-28	16.8
	BK	15.0
	BC	16.8
	MM	6.2
	OR	0
	K-38	0.5

¹ หมายถึง ไม่ได้นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ

ตารางที่ 11 (ต่อ) การงอกของหลอดละอองเกสรพืชกลุ่มปทุมมา และกลุ่มกระเจียว ที่เก็บรักษาไว้
เวลานานต่างกัน

เวลาการเก็บรักษา (วัน)	สายพันธุ์	เปอร์เซ็นต์การงอก ¹
6	CMP	10.4
	C-28	8.3
	BK	2.9
	BC	21.7
	MM	11.7
	OR	0.7
	K-38	0.5
10	CMP	5.0
	C-28	8.8
	BK	2.3
	BC	*
	MM	*
	OR	0
	K-38	*
15	CMP	*
	C-28	*
	BK	*
	BC	*
	MM	*
	OR	0
	K-38	*

¹ หมายถึง ไม่ได้นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ

* หมายถึง เกิดเชื้อราขึ้นบนหลอดละอองเกสรที่เก็บรักษา

การทดลองที่ 2 การผสมพันธุ์ระหว่างชนิด และระหว่างต้น

2.1 เปอร์เซ็นต์การติดฝัก

หลังจากที่ได้ผสมเกสรพืชกลุ่มปทุมมาและกลุ่มกระเจียวนาน 4 สัปดาห์ พบว่า กลุ่มผสม $MM \times MM$ (ภาพที่ 11) มีการติดฝักสูงที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยกลุ่มผสมที่เปอร์เซ็นต์ผสมติดรองลงมาได้แก่ $C-28 \times CMP$, $CMP \times C-28$, $CMP \times BK$ และ $BK \times CMP$ โดยมีเปอร์เซ็นต์การผสมติดเป็น 85.0, 61.7, 80.7 และ 57.1 ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

พบว่าในกลุ่มผสมระหว่าง $C-28 \times C-28$ มีการขยายขนาดของฝัก แต่เกิดการฝ่อของฝักภายใน 2 สัปดาห์หลังจากได้รับการผสมเกสร ทำให้ได้ฝักที่ไม่แก่เต็มที่ ยิ่งไปกว่านั้นในกลุ่มผสมระหว่าง $CMP \times BC$, $BC \times CMP$, $C-28 \times MM$, $MM \times C-28$, $C-28 \times OR$, $OR \times C-28$, $OR \times OR$, $C-28 \times K38$, $K-38 \times C-28$, $CMP \times K-38$ และ $K-38 \times CMP$ ไม่พบการขยายขนาดของฝักหลังจากทำการผสมเกสร (ตารางที่ 12)

2.2 จำนวนเมล็ดต่อฝัก

พบว่า กลุ่มผสม $CMP \times BK$ มีค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อฝักมากที่สุด คือ 51.7 เมล็ดต่อฝัก และกลุ่มผสมที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อฝักน้อยที่สุด คือ $BK \times CMP$ ซึ่งมีจำนวนเมล็ดต่อฝักเพียง 14.6 เมล็ด (ตารางที่ 12)

2.3 การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

การศึกษากการติดฝักโดยการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา เพื่อติดตามการพัฒนาของเมล็ดลูกผสมระหว่าง $CMP \times PT$ พบว่าอวูลของพืชกลุ่มปทุมมามีลักษณะเป็นอวูลประเภท anatropous มีไมโครไพล์ (micropyle = mi) อยู่ด้านล่าง ใกล้ๆกับก้านอวูล (funiculus = fu) แต่ฐานอวูล (chalaza = ch) อยู่ด้านตรงข้ามกับก้านอวูล (ภาพที่ 12ก) เมื่อนำฝักที่มีอายุ 3 วันหลังผสมเกสรมาตัดตามยาว พบอวูลมีนิวเคลียสที่สามารถทำงานได้ (functional nucleus = fn) อยู่ภายในถุงคัพพะ (embryo sac = es) และมีผนังอวูล (integument = in) หุ้มอยู่ (ภาพที่ 12ข) และเมื่อนำฝักที่มีอายุ 5 วันหลังผสมเกสรมาตัดตามยาว พบว่าอวูลที่ได้รับการผสมแล้วเริ่มมีการพัฒนาไปเป็นเมล็ด โดยเห็นขอบเขตที่เป็นเปลือกเมล็ด (seed coat = sc) พัฒนาจากผนังอวูลเดิมเกิดขึ้นชัดเจน ซึ่งบริเวณส่วนบน และส่วนฐานบริเวณปลายของเมล็ดมีกลุ่มเซลล์ที่ตื่นตัว (active cell = ac) คือเซลล์ที่มีขนาดเล็ก นิวเคลียสขนาดใหญ่ และล้อมติดสีเข้มกว่าเซลล์อื่นในเมล็ดที่มีอายุ 7 วันหลังผสมเกสร (ภาพที่ 13)

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การติดไฟ และค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อฝัก

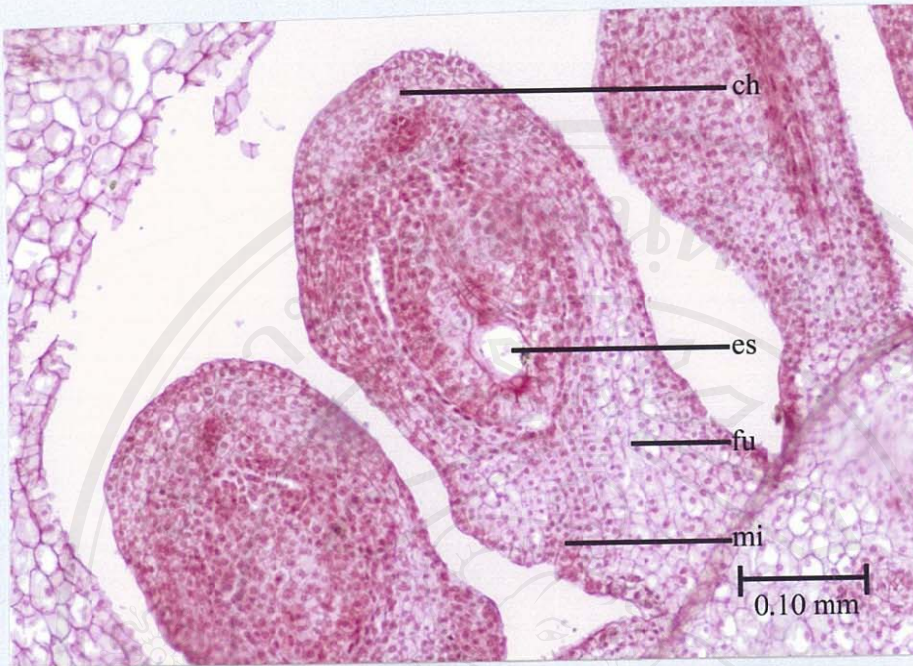
คู่ผสม	เปอร์เซ็นต์การติดไฟ	ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อฝัก
C-28 × C-28	0	0
C-28 × CMP	85.0	37.4
CMP × C-28	61.7	42.1
CMP × BK	80.7	51.7
BK × CMP	57.1	14.6
CMP × BC	0	0
BC × CMP	0	0
C-28 × MM	0	0
MM × C-28	0	0
MM × MM	100.0	21.2
C-28 × OR	0	0
OR × C-28	0	0
OR × OR	0	0
C-28 × K38	0	0
K-38 × C-28	0	0
CMP × K-38	0	0
K-38 × CMP	0	0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

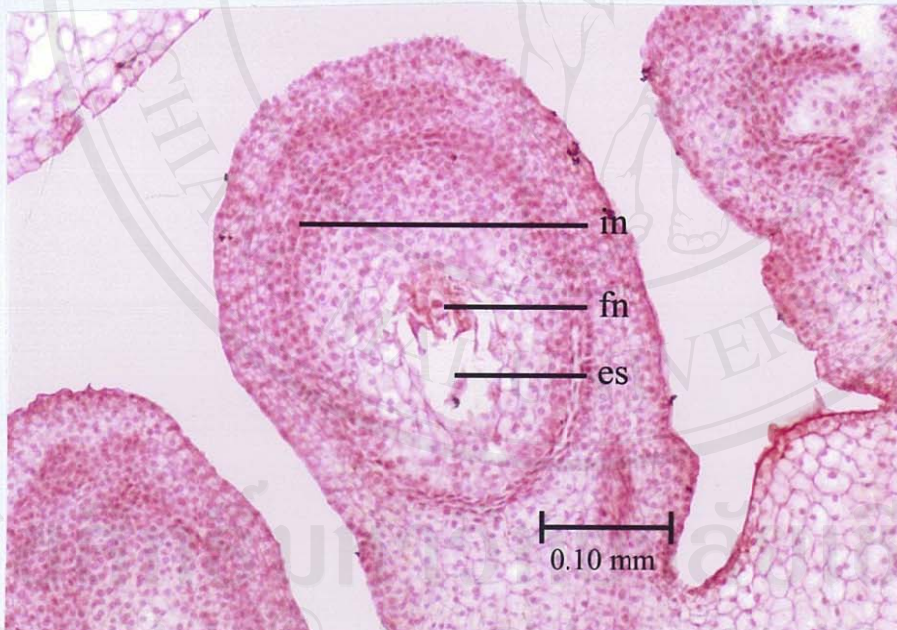


ภาพที่ 11 ลักษณะการติดฝักของลูกผสม MM × MM

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ก.

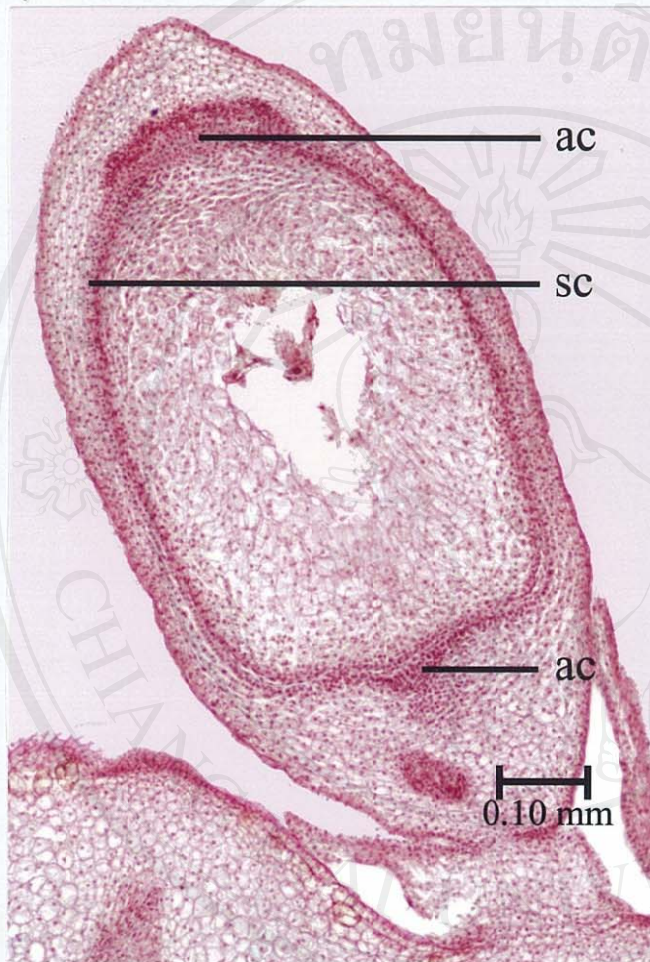


ข.

ภาพที่ 12 การพัฒนาของอวูลไปเป็นเมล็ดอ่อนหลังการผสมเกสร 3 วัน

ก. ลักษณะอวูลแบบ anatropous ซึ่งแสดงตำแหน่งของ embryo sac (es), micropyle (mi), funiculus (fu) และ chalaza (ch) (165x)

ข. ลักษณะ functional nucleus (fn) อยู่ภายใน embryo sac (es) และ integument (in) (170x)



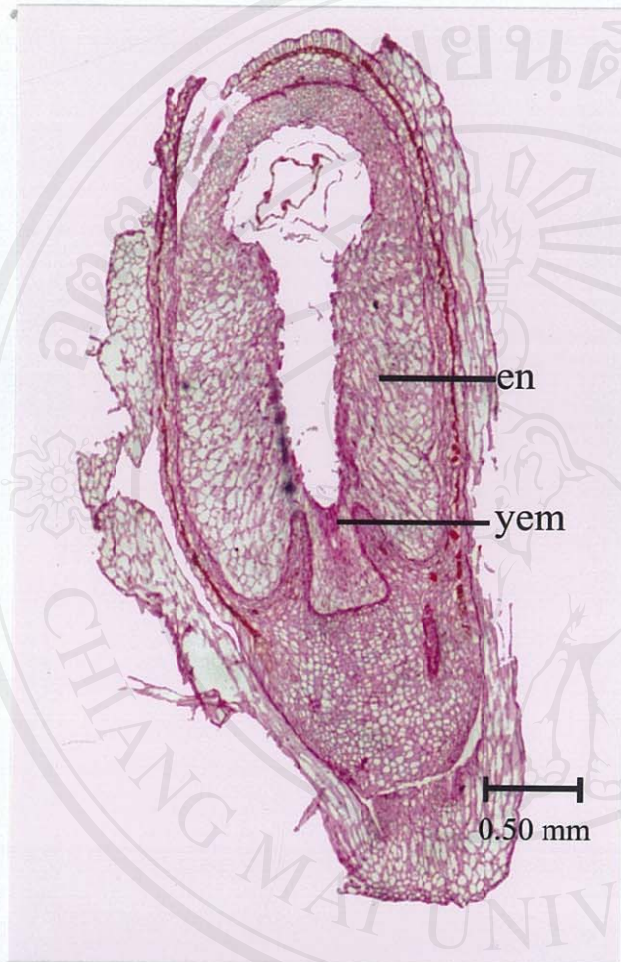
ภาพที่ 13 การพัฒนาของออรูตไปเป็นเมล็ด หลังผสมเกสรนาน 7 วัน (170x)

- seed coat (sc)

- active cell (ac)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ต่อมาเมื่ออายุ 12 วันหลังผสมเกสร เมล็ดมีการขยายขนาดกว้าง และยืดยาวขึ้น กลุ่มเซลล์ภายในเปลือกเมล็ดมีขนาดใหญ่ขึ้น และส่วนฐานบริเวณของงอตัวของคัพภะ มีกลุ่มเซลล์ที่ต้นตัวอยู่เรียงกันเป็นระเบียบชัดเจน ซึ่งคือคัพภะอ่อน(ภาพที่ 14) ในช่วงนี้อาหารสะสม (endosperm = en) เริ่มพัฒนาชัดเจน ต่อมาเมื่อเมล็ดมีอายุ 15 วัน หลังผสมเกสร พบว่ามีคัพภะที่พัฒนาแล้ว ในช่วงเวลานี้มีการสร้างใบเริ่มเกิด (leaf primordium) (ภาพที่ 15) ในขณะเดียวกันเนื้อเยื่อสะสมอาหารจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ เนื้อเยื่อสะสมอาหารที่อยู่บริเวณส่วนบนของคัพภะซึ่งปกคลุมคัพภะประมาณ 1 ใน 3 ของความยาวคัพภะประกอบด้วยเซลล์รูปร่างกลมมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 16) และอีกส่วนคือเนื้อเยื่อสะสมอาหารส่วนล่างซึ่งอยู่ล้อมรอบคัพภะประมาณ 2 ใน 3 ของความยาวเนื้อเยื่อสะสมทั้งหมด ประกอบด้วยเซลล์ขนาดใหญ่ รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า เนื้อเยื่อสะสมอาหารทั้ง 2 ส่วนนี้ขยายขนาดใหญ่เมื่อเมล็ดเพิ่มขนาดขึ้น (ภาพที่ 17) คัพภะพัฒนามากขึ้นเห็นส่วนยอดแรกเกิด (plumule = pl) และเห็นเปลือกเมล็ดชั้นนอก (testa = te) ซึ่งแข็ง และเยื่อหุ้มเมล็ด (tegument = tg) ซึ่งเจริญมาจากผนังอวุล (integument = in) ชั้นนอกและชั้นในตามลำดับ ด้านนอกสุดของเมล็ดมีผิวเป็นมันคล้ายขี้ผึ้งเคลือบไว้ (ภาพที่ 16 และ 17) เมื่อนำเนื้อเยื่อสะสมอาหารภายในเมล็ดไปย้อมด้วยสารละลาย Sudan IV ดิจีสตีแดงเข้มแสดงว่าเป็นเซลล์ที่สะสมอาหารประเภทไขมัน (ภาพที่ 17) และเมื่อย้อมด้วยสารละลายไอโอดีนติดสีน้ำเงินม่วง (ภาพที่ 18) จากการสำรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า มีเม็ดแป้งอยู่ภายในเซลล์มาก แสดงว่าเป็นเนื้อเยื่อสะสมอาหารที่เก็บสะสมอาหารในรูปของแป้งเป็นส่วนใหญ่ (ภาพที่ 17 และ 18) เมื่อเมล็ดเริ่มพัฒนาต่อมาพบว่า คัพภะอยู่บริเวณโคนของใบเลี้ยง (scutellum = st) (ภาพที่ 19)

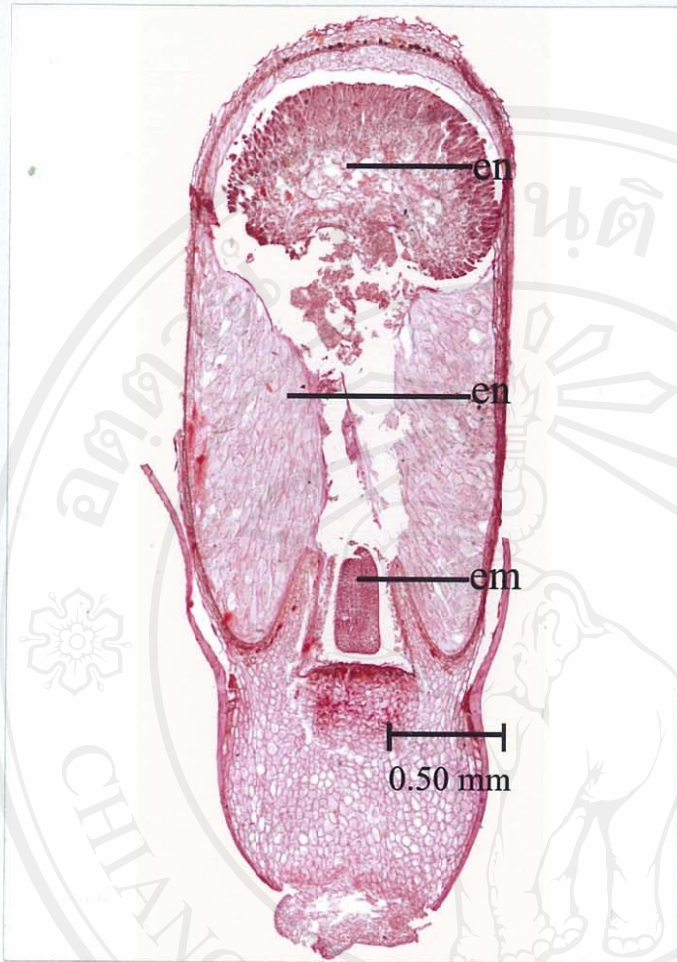


ภาพที่ 14 การพัฒนาของเมล็ด และคัพภะหลังผสมนาน 12 วัน (25x)

- young embryo (yem)

- endosperm (en)

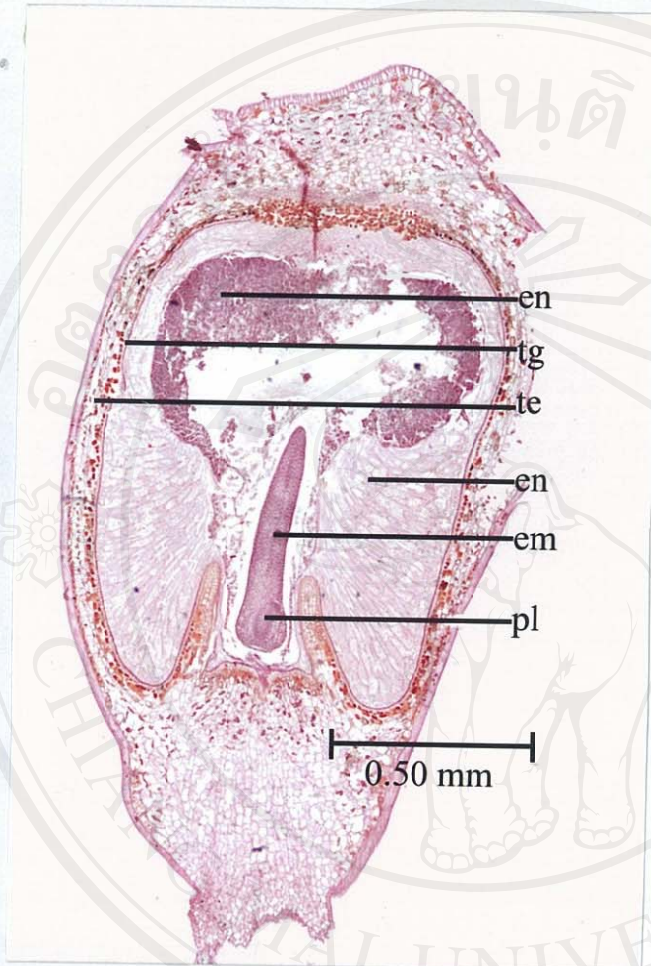
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 15 การพัฒนาของลำทะ และอาหารสะสมที่เห็นชัดเจนในเมล็ด
หลังผสมเกสรนาน 15 วัน (40x)

- embryo (em)
- endosperm (en)

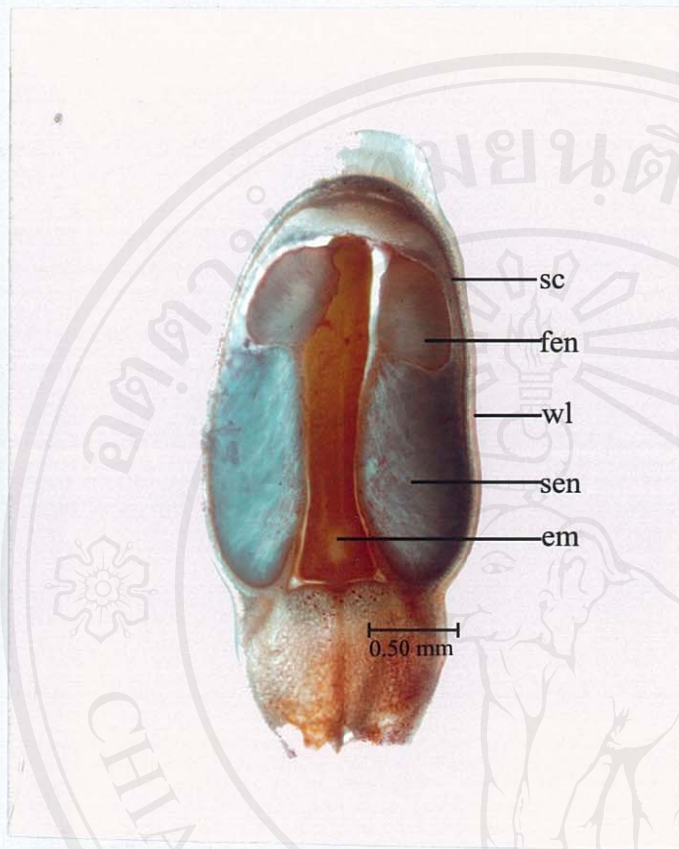
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 16 การพัฒนาของคัพภะ และอาหารสะสมที่เห็นชัดเจนในเมล็ด

หลังผสมเกสรนาน 21 วัน (53x)

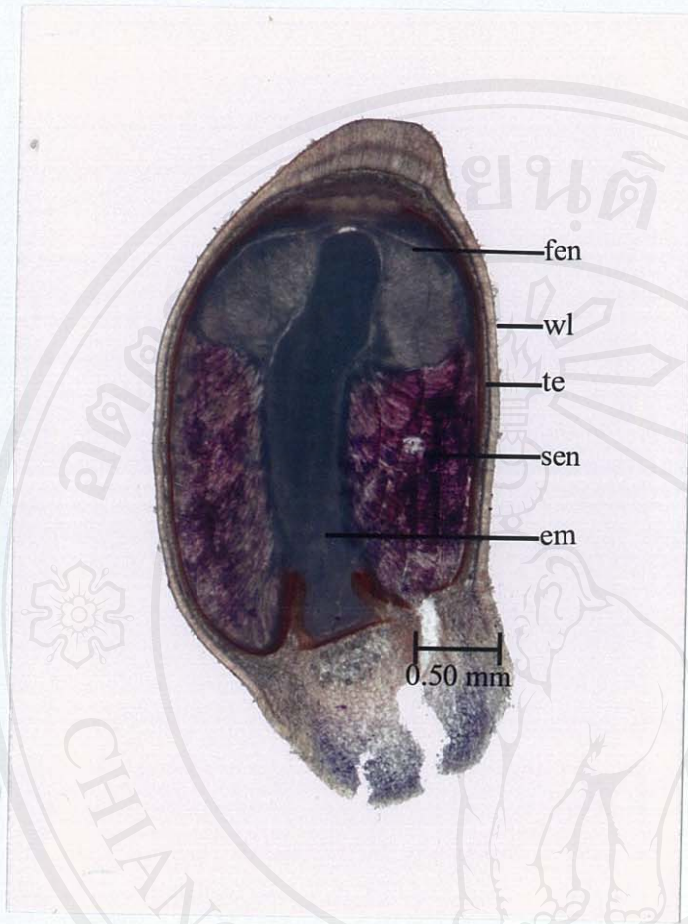
- embryo (em)
- endosperm (en)
- plumule (pl)
- testa (te)
- tegment (tg)
- wax layer (wl)



ภาพที่ 17 เมล็ดที่ถูกข้อมด้วยสีข้อมไขมันติดสีแดงส้ม (22x)

- seed coat (sc)
- fatty endosperm (fen)
- starchy endosperm (sen)
- embryo (em)
- wax layer (wl)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved



ภาพที่ 18 เมล็ดที่ถูกย้อมด้วยสีไอโอดีน เนื้อเยื่อสะสมอาหารทั้ง 2 ข้าง
ติดสีน้ำเงินม่วง (22x)

- fatty endosperm (fen)
- embry (em)
- starchy endosperm (sen)
- testa (te)
- wax layer (wl)

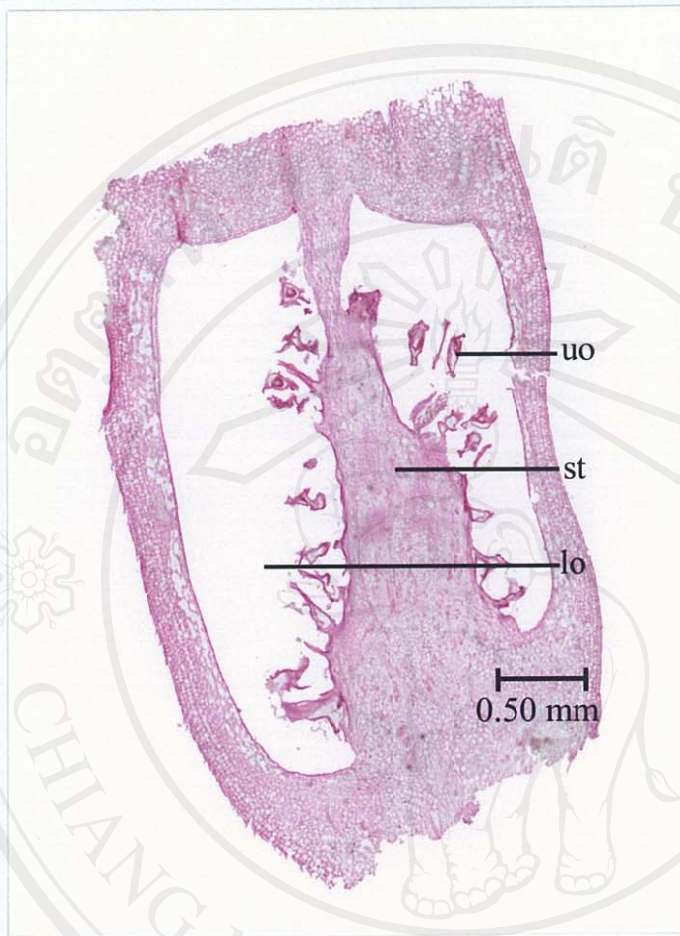
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 19 ตำแหน่งคัพภะอยู่บริเวณ โคนใบเลี้ยง (90x)

- scutellum (su)
- plumule (pl)

ส่วนคู่ผสมที่ทำการผสมเสร็จแล้วไม่ติดเมล็ด เมื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา ของ
 คู่ผสมระหว่าง CMP × BC และ CMP × MM พบว่า ไม่มีการพัฒนาของคัพภะ (ภาพที่ 20) แต่ใน
 คู่ผสมที่ใช้ CMP ทำการผสมตัวเอง พบว่า มีการพัฒนาของออรูลได้ระยะหนึ่งก่อนที่เมล็ดจะฝ่อไป
 เมื่ออายุ 7 วันหลังผสมเสร็จ (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 20 ออวูลที่ไม่พัฒนาภายในฝักที่กำลังฝ่อของกลุ่มผสมระหว่าง CMP × MM

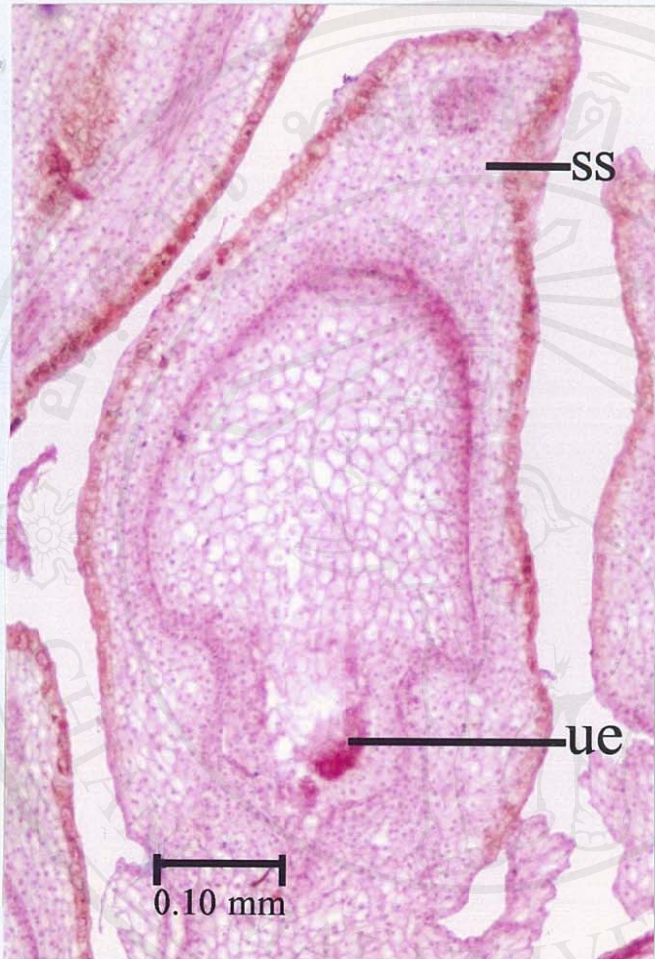
อายุ 7 วันหลังการผสมเกสร (20x)

- undeveloped ovule (uo)

- locule (lo)

- septum (st)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 21 คัพภะที่ไม่พัฒนาของ CMP ผสมตัวเองอายุ 7 วันหลังการผสมเกสร

- undeveloped embryo (ue) (165x)
- shrinking seed (ss)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 การเลี้ยงคัพพะ

การทดลองที่ 3.1 ผลของความเข้มข้นซูโครส และอายุคัพพะต่อการงอกของคัพพะและการเจริญของต้นกล้า

การทดลองนี้ได้ผสมเกสรคู่ผสมระหว่าง C-28 × CMP จากนั้นนำเอาคัพพะจากเมล็ดคู่ผสมที่มีอายุ 24 27 และ 30 วันหลังจากการผสม มาเลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และวุ้นความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ โดยที่เติมซูโครสความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ คือ 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์

3.1.1 เปอร์เซ็นต์การรอดตาย

พบว่าคัพพะอายุ 24 วันหลังผสมเกสร เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ มีการรอดชีวิตน้อยมากเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อเลี้ยงอาหารที่มีซูโครสความเข้มข้น 3 และ 12 เปอร์เซ็นต์ไม่มีการรอดชีวิตเลย ในขณะที่คัพพะอายุ 27 วัน เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครส 3 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพียง 40 - 60 เปอร์เซ็นต์ แต่คัพพะอายุ 30 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของคัพพะสูงขึ้นเป็น 40 - 90 เปอร์เซ็นต์ โดยความเข้มข้นซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ให้การรอดชีวิตสูงสุด (ตารางที่ 13)

3.1.2 จำนวนวันเมื่อเริ่มเกิดราก

เมื่อเลี้ยงคัพพะที่มีอายุ 24 วัน มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำมาก ใช้เวลาในการเกิดรากเป็น 35.0 และ 27.0 วันบนอาหารที่เติมซูโครส 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับคัพพะที่มีอายุ 27 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนวันเฉลี่ยที่เกิดรากอยู่ระหว่าง 27.0-35.0 วัน ส่วนคัพพะที่มีอายุ 30 วัน ใช้เวลาการเกิดรากโดยรวมน้อยกว่าคือ 23.8-27.7 วัน (ตารางที่ 13)

3.1.3 จำนวนรากต่อต้น

เมื่อเลี้ยงคัพพะที่มีอายุ 24 วัน บนอาหารที่มีความเข้มข้นซูโครส 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ เกิดรากเฉลี่ยน้อยมากเพียง 1.1 และ 0.3 รากต่อต้น ตามลำดับ ส่วนคัพพะที่มีอายุ 27 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นโดยรวมเพิ่มขึ้นเป็น 5.7 2.8 7.6 และ 0.2 ราก ตามลำดับ

คัพพะที่มีอายุ 30 วัน เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสความเข้มข้น 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ เกิดรากเฉลี่ย 8.6 7.6 5.7 และ 5.9 รากต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 13) เมื่อนำค่าเฉลี่ย

ในการเกิดรากไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปัจจัยหลักคือ อายุของคัพภะที่ใช้เพาะเลี้ยง มีอิทธิพลต่อจำนวนรากอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่คัพภะอายุ 30 วัน ให้จำนวนรากต่อต้นมากกว่าคัพภะที่อายุน้อยกว่า (ตารางที่ 14 และตารางภาคผนวกที่ 3) แต่ความเข้มข้นของซูโครสไม่มีผลทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และไม่มีการสัมพันธ์กันระหว่างอายุของคัพภะและความเข้มข้นของซูโครส (ตารางภาคผนวกที่ 3)

3.1.4 จำนวนวันที่เกิดยอด

เมื่อเลี้ยงคัพภะที่มีอายุน้อยคือ 24 วัน บนอาหารที่มีความเข้มข้นของซูโครส 6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำมากมีจำนวนวันเฉลี่ยที่เกิดยอดเป็น 46.7 วัน (ตารางที่ 15) แต่เมื่อเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 3 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการเกิดยอดเลย สำหรับคัพภะที่มีอายุ 27 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนวันเฉลี่ยที่เกิดยอดอยู่ระหว่าง 55.5 - 58.7 วัน ส่วนคัพภะที่มีอายุ 30 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนวันเฉลี่ยที่เกิดยอดเร็วขึ้นเป็น 42.0 - 44.5 วัน โดยภาพรวมคัพภะอายุ 30 วัน ใช้เวลาน้อยในการเกิดยอด

3.1.5 จำนวนยอดต่อต้น

เมื่อเลี้ยงคัพภะที่มีอายุ 24 วัน บนอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ มียอดเฉลี่ยต่อต้นเพียง 0.1 ยอด และคัพภะที่มีอายุ 27 วัน เลี้ยงบนที่เติมซูโครสความเข้มข้น 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้เกิดยอดเฉลี่ยต่อต้นน้อยเช่นกันเพียง 0.1-0.8 ต้น ส่วนคัพภะที่มีอายุ 30 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ มียอดเฉลี่ยต่อต้นเป็น 0.8 0.4 0.3 และ 0.4 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 15)

เมื่อนำค่าเฉลี่ยในการเกิดยอด ไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอายุของคัพภะที่ใช้เพาะเลี้ยงมีผลต่อจำนวนยอดเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญ โดยคัพภะที่มีอายุ 30 วัน ให้จำนวนยอดต่อต้นมากกว่าคัพภะที่มีอายุ 24 และ 27 วัน แต่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสไม่ช่วยให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวกที่ 4) ในขณะที่มีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอายุของ คัพภะ และความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส (ตารางที่ 15 และ ตารางภาคผนวกที่ 4)

ตารางที่ 13 ผลของความเข้มข้นซูโครส และอายุคัพภะต่อค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนวันที่เริ่มเกิดราก และจำนวนรากต่อต้น

อายุคัพภะ (วัน)	ความเข้มข้น น้ำตาลซูโครส (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)	การรอดชีวิต ¹ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนวันที่เริ่ม เกิดราก ¹	จำนวนรากต่อต้น
24	3	0	-	-
	6	10	35.0	1.1
	9	10	27.0	0.3
	12	0	-	-
27	3	60	27.0	5.7
	6	50	30.4	2.8
	9	50	27.8	7.6
	12	40	35.0	0.2
30	3	90	23.8	8.6
	6	60	25.1	7.6
	9	40	25.8	5.7
	12	70	27.7	5.9
ปัจจัย				
อายุคัพภะ (1)		-	-	*
ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส (2)		-	-	ns
(1) × (2)		-	-	ns

¹ หมายถึง ไม่ได้นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.05$)

ตารางที่ 14 ผลของอายุคัพพะต่อจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น

อายุคัพพะ (วัน)	จำนวนรากต่อต้น
24	0.38 ± 1.79 ^c
27	3.50 ± 6.14 ^b
30	6.35 ± 7.41 ^a
ms	31.97
total	44.54.99
cv (%)	0.72

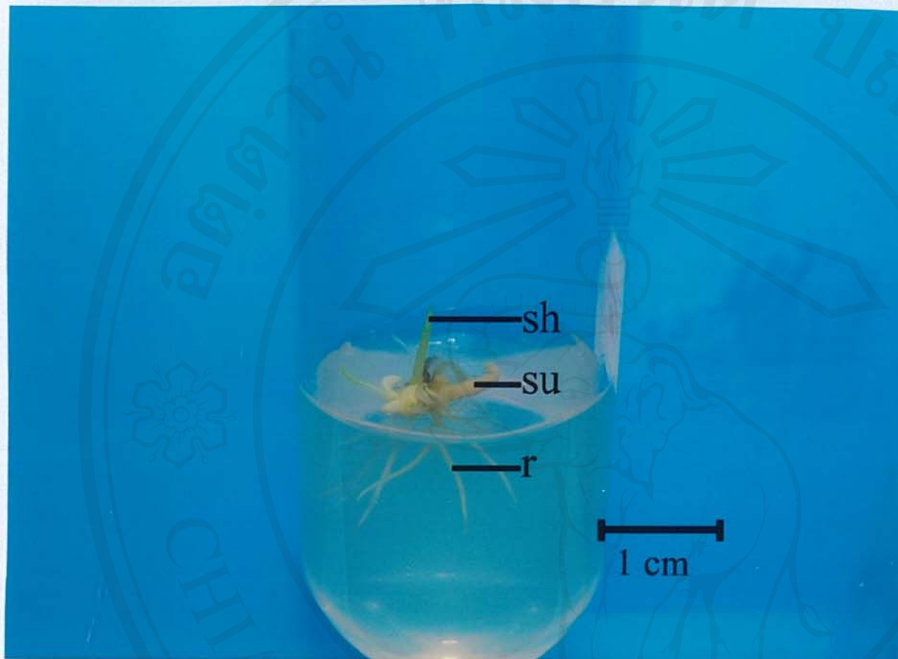
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.05)

3.1.6 ความสูงของยอด

เมื่อเลี้ยงคัพพะที่มีอายุ 24 วัน บนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงยอดเฉลี่ยเป็น 0.9 เซนติเมตร ส่วนคัพพะที่มีอายุ 27 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงเฉลี่ยเป็น 1.2 1.0 1.6 และ 0.1 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับคัพพะที่มีอายุ 30 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงเป็น 5.6 1.6 1.6 และ 1.5 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 15)

เมื่อนำค่าความสูงเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอายุของคัพพะที่ใช้เพาะเลี้ยงให้ผลแตกต่างกันต่อความสูงของยอดอย่างมีนัยสำคัญ โดยคัพพะที่มีอายุ 30 วัน มียอดสูงที่สุด(ตารางที่ 16) แต่ความเข้มข้นของซูโครสไม่มีผลต่อความสูงเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวกที่ 5) นอกจากนั้นอายุของคัพพะ และความเข้มข้นซูโครส ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 15 และตารางภาคผนวกที่ 5)

จากการทดลอง พบว่า การงอกของคัพภะปทุมมาเกิดขึ้นที่บริเวณส่วนโคนของใบ
เลี้ยง โดยเกิดราก ออกมาก่อน ต่อมาจึงเกิดยอด (ภาพที่ 22)



ภาพที่ 22 ลักษณะการเกิดใบเลี้ยง การเกิดราก และยอด ของคัพภะปทุมมา
ในสภาพปลอดเชื้อ

- scutellum (su)
- root (r)
- shoot (sh)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 15 ผลของความเข้มข้นชูโครส และอายุคัพภะต่อค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่เริ่มเกิดยอด จำนวนยอดต่อต้น และความสูงของยอด

อายุคัพภะ (วัน)	ความเข้มข้น น้ำตาลชูโครส (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนวันที่เริ่ม เกิดยอด ¹	จำนวนยอดต่อต้น	ความสูงของยอด (เซนติเมตร)
24	3	-	-	-
	6	46.7	0.1 ^c	0.9
	9	-	-	-
	12	-	-	-
27	3	55.5	0.5 ^{abc}	1.2
	6	56.6	0.2 ^{bc}	1.0
	9	58.7	0.8 ^a	1.6
	12	58.3	0.1 ^c	0.1
30	3	44.5	0.8 ^a	5.6
	6	43.4	0.4 ^{abc}	1.6
	9	42.0	0.3 ^{abc}	1.7
	12	42.0	0.4 ^{ab}	1.5
ปัจจัย				
อายุคัพภะ (1)		-	*	*
ความเข้มข้นน้ำตาลชูโครส (2)		-	ns	ns
(1) × (2)		-	*	ns

¹ หมายถึง ไม่ได้นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.05)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.05)

อักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.05)

ตารางที่ 16 ผลของอายุครรภ์ต่อค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อต้น และความสูงของยอด

อายุครรภ์ (วัน)	จำนวนยอดต่อต้น	ความสูงของยอด
24	0.03 ± 0.16 ^b	0.22 ± 1.41 ^b
27	0.40 ± 0.71 ^b	0.96 ± 2.45 ^b
30	0.48 ± 0.51 ^a	2.40 ± 3.17 ^a
ms	0.26	5.70
total	35.20	765.15
cv (%)	0.74	0.74

ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.05)

การทดลองที่ 3.2 ผลของความเข้มข้นของ casein hydrolysate และอายุครรภ์ต่อการงอกของคัพพะและการเจริญของต้นกล้า

การทดลองนี้ได้ผสมเกสรคู่ผสมระหว่าง C-28 × CMP จากนั้นนำเอาคัพพะจากเมล็ดคู่ผสมที่มีอายุ 24 27 และ 30 วันหลังการผสม มาเลี้ยงบนอาหารวุ้น สูตร MS ที่มีน้ำตาล และวุ้นความเข้มข้น 3 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเติม casein hydrolysate ความเข้มข้น 0 250 500 หรือ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ผลดังนี้

3.2.1 เปอร์เซ็นต์การรอดตาย

พบว่าคัพพะสามารถเจริญได้ในอาหารที่เติม casein hydrolysate เกือบทุกกรณี ดังที่แสดงในตารางที่ 17 ยกเว้นเมื่อเลี้ยงคัพพะที่มีอายุ 24 วัน บนอาหารที่เติม casein hydrolysate 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร คัพพะไม่รอดตายเลย และเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate 0 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพียง 30-40 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่คัพพะที่มีอายุ 27 และ 30 วัน เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate ทุกความเข้มข้น ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของคัพพะ 50-80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 17)

3.2.2 จำนวนวันที่เกิดราก

เมื่อเลี้ยงคัพพะที่มีอายุ 24 วัน บนอาหารที่เติม casein hydrolysate 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบการเกิดรากเลย เพราะคัพพะตายหมด แต่เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม casein

hydrolysate 0 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนวันเฉลี่ยที่เกิดรากใกล้เคียงกันคือ 35.0-36.8 วัน

สำหรับคัพภะที่มีอายุ 27 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate 0 250 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนวันเฉลี่ยที่เกิดรากเป็น 25.6-34.8 วัน และคัพภะที่มีอายุ 30 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate 0 250 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนวันเฉลี่ยที่เกิดรากเป็น 22.6-29.0 โดยภาพรวมคัพภะที่มีอายุมากกว่าสามารถออกรากได้เร็วกว่าคัพภะที่มีอายุน้อย (ตารางที่ 17)

3.2.3 จำนวนรากต่อต้น

เมื่อเลี้ยงคัพภะที่มีอายุ 24 วันหลังผสมเกสร บนอาหารที่เติม casein hydrolysate 0 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเป็น 0.5 0.4 และ 1.5 ราก ตามลำดับ และคัพภะที่มีอายุ 27 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate 0 250 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 3.4 2.8 6.1 และ 1.5 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 17)

คัพภะที่มีอายุ 30 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate 0 250 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นมากขึ้นอีกเป็น 6.7 6.1 6.7 และ 5.9 ราก ตามลำดับ เมื่อนำค่าเฉลี่ยของรากไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอายุของคัพภะให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่มีคัพภะอายุ 30 วันให้จำนวนรากต่อต้นมากกว่าคัพภะที่อายุน้อยกว่า (ตารางที่ 18) แต่ระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยิ่งไปกว่านั้นอายุของคัพภะ และความเข้มข้นของ casein hydrolysate ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 17 และตารางภาคผนวกที่ 6)

ตารางที่ 17 ผลของความเข้มข้นของ casein hydrolysate และอายุคัพภะต่อค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนวันที่เริ่มเกิดราก และจำนวนรากต่อต้น

อายุคัพภะ (วัน)	Casein hydrolysate (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)	การรอดชีวิต ¹ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนวันที่เริ่ม เกิดราก ¹	จำนวนรากต่อต้น (เซนติเมตร)
24	0	30	35.0	0.5
	250	40	35.3	0.4
	500	40	36.8	1.5
	1000	0	-	-
27	0	50	26.0	3.4
	250	80	34.8	2.8
	500	70	25.6	6.1
	1000	70	26.9	1.5
30	0	80	27.5	6.7
	250	60	24.0	6.1
	500	80	22.6	6.7
	1000	50	29.0	5.9
ปัจจัย				
อายุคัพภะ (1)	-	-	-	*
casein hydrolysate (2)	-	-	-	ns
(1) × (2)	-	-	-	ns

¹ หมายถึง ไม่ได้นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.05)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.05)

ตารางที่ 18 อายุคัพพะต่อจำนวนรกเฉลี่ยต่อต้น

อายุคัพพะ (วัน)	จำนวนรกเฉลี่ยต่อต้น
24	0.58 ± 1.80 ^c
27	3.45 ± 5.76 ^b
30	6.60 ± 7.36 ^a
ms	30.18
total	42577.79
cv (%)	0.71

ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.05)

3.2.4 จำนวนวันที่เกิดยอด

เมื่อเลี้ยงคัพพะที่มีอายุ 24 วัน บนอาหารที่เติม casein hydrolysate ส่วนใหญ่ ไม่พบการเกิดยอด ยกเว้นที่ระดับ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้เวลาเกิดยอดเฉลี่ย 68.0 วัน (ตารางที่ 19) สำหรับคัพพะที่มีอายุ 27 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate 0 250 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนวันเฉลี่ยที่เกิดยอดน้อยลงเป็น 55.4-60.0 วัน โดยคัพพะที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate ทุกความเข้มข้นเกิดยอดได้เร็วกว่าอาหารที่ไม่ได้เติม casein hydrolysate

คัพพะที่มีอายุ 30 วัน เมื่อนำไปเลี้ยงมีจำนวนวันเฉลี่ยที่เกิดยอดเป็น 44.3-57.3 วัน โดยอาหารที่เติม casein hydrolysate 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอดโดยภาพรวมได้เร็วกว่าอาหารที่ไม่ได้เติม casein hydrolysate และที่เติม casein hydrolysate 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 19)

3.2.5 จำนวนยอดเฉลี่ยต่อต้น

เมื่อเลี้ยงคัพพะที่มีอายุ 24 วันเมื่อเติม casein hydrolysate 250 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยต่อต้นเป็น 0.3 ยอดส่วนที่ความเข้มข้นอื่นไม่เกิดยอดเลย ส่วนคัพพะที่มีอายุ 27 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate 0 250 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยต่อต้นใกล้เคียงกันคือ 0.3 0.7 0.4 และ 0.4 ยอด ตามลำดับ

ส่วนคัพพะที่มีอายุ 30 วัน เมื่อเลี้ยงบนอาหาร ที่เติม casein hydrolysate 0 250 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยต่อต้นใกล้เคียงกับยอดจากคัพพะอายุ 27 วัน คือ 0.4

0.5 0.6 และ 0.5 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 19) เมื่อนำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าอายุของคัพภะที่ใช้เพาะเลี้ยงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญต่อจำนวนยอดเฉลี่ย โดยคัพภะที่มีอายุ 27 และ 30 วัน ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อต้นมากกว่าคัพภะที่มีอายุ 24 วัน (ตารางที่ 19 และ ตารางภาคผนวกที่ 7) แต่ความเข้มข้นของ casein hydrolysate ไม่ให้ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวกที่ 7) ยิ่งไปกว่านั้นอายุของคัพภะ และความเข้มข้นของ casein hydrolysate ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวกที่ 7)

3.2.6 ความสูงของยอด

เมื่อเลี้ยงคัพภะที่มีอายุ 24 วัน บนอาหารที่เติม casein hydrolysate 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ยอดมีความสูงเฉลี่ยเป็น 0.4 เซนติเมตร ส่วนคัพภะที่มีอายุ 27 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate 0 250 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงเฉลี่ยโดยรวมมากกว่าคือ 0.5 1.4 1.7 และ 1.8 เซนติเมตร ตามลำดับ

สำหรับคัพภะที่มีอายุ 30 วัน เลี้ยงบนอาหารที่เติม casein hydrolysate 0 250 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงของยอดเป็น 1.3 1.8 0.5 และ 1.0 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 19) และต้นกล้าที่เกิดขึ้นสามารถเจริญเติบโตได้ดี (ภาพที่ 23) เมื่อนำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอายุของคัพภะที่ใช้เพาะเลี้ยงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญต่อความสูงของยอด โดยคัพภะที่มีอายุ 27 และ 30 วัน มีความสูงของยอดสูงกว่าคัพภะที่มีอายุ 24 วัน (ตารางที่ 20) แต่ระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate ไม่ให้ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ยิ่งไปกว่านั้นอายุของคัพภะ และระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวกที่ 8)

ตารางที่ 19 ผลของความเข้มข้นของ casein hydrolysate และอายุครรภ์ต่อค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่เริ่มเกิดยอด จำนวนยอดต่อต้น และความสูงของยอด

อายุครรภ์ (วัน)	Casein hydrolysate (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)	วันที่เกิดยอด ¹	จำนวนวันที่เริ่ม เกิดยอด	ความสูงของยอด (เซนติเมตร)
24	0	-	-	-
	250	68.0	0.3	0.4
	500	-	-	-
	1000	-	-	-
27	0	55.4	0.3	0.5
	250	60.0	0.7	1.4
	500	60.0	0.4	1.7
	1000	60.0	0.4	1.8
30	0	53.6	0.4	1.3
	250	45.8	0.5	1.8
	500	44.3	0.6	0.5
	1000	57.3	0.5	1.0
ปัจจัย				
อายุครรภ์ (1)	-	-	*	*
Casein hydrolysate (2)	-	-	ns	ns
(1) × (2)	-	-	ns	ns

¹ หมายถึง ไม่ได้นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.05$)

ตารางที่ 20 ผลของอายุคัพภะต่อจำนวนยอดต่อต้น และความสูงของยอด

อายุคัพภะ (วัน)	จำนวนยอดต่อต้น	ความสูงของยอด (เซนติเมตร)
24	0.10 ± 0.30^b	0.05 ± 0.15^b
27	0.45 ± 0.60^a	1.17 ± 2.34^a
30	0.50 ± 0.51^a	1.19 ± 1.71^a
ms	0.24	2.79
total	31.30	360.04
cv (%)	0.77	0.77

ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.05$)



ภาพที่ 23 ต้นกล้าปทุมมา เมื่อเลี้ยงในสภาพปอดเขื่อนาน 120 วัน

การทดลองที่ 3.3 ความเข้มข้นของซูโครส และอายุคัพภะที่มีรกดติดอยู่ต่อการงอกและเจริญเติบโตของคัพภะ

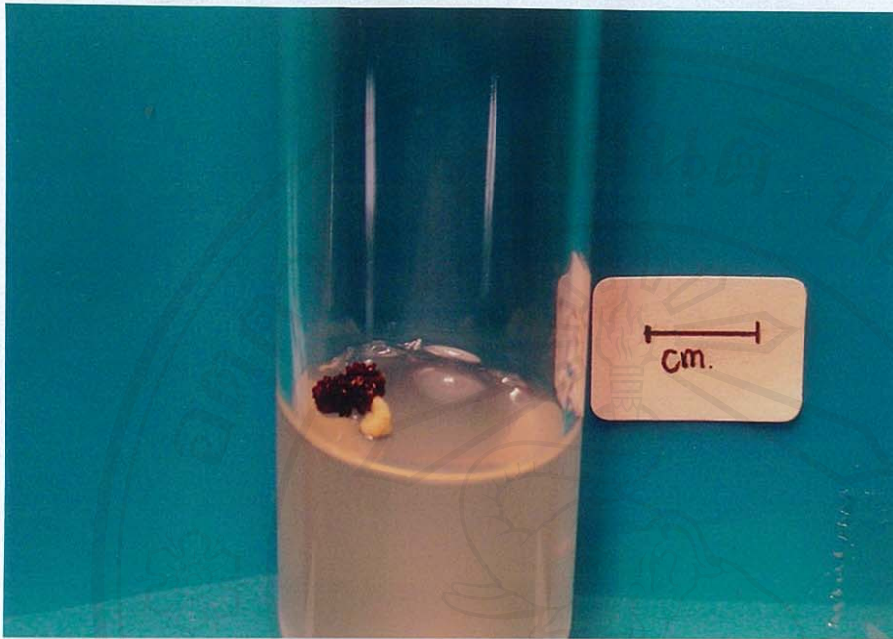
การทดลองนี้ได้ผสมเกสรคู่ผสมระหว่าง C-28 × CMP จากนั้นนำเอา ฝัก และ เมล็ดอ่อนที่ได้รับการผสมเกสรแล้วอายุ 3 6 9 และ 12 วันหลังจากการผสมมาเลี้ยงบนอาหาร ที่เติม casein hydrolysate 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และวุ้นความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ โดยที่เติมระดับความเข้มข้นซูโครสต่างกัน 3 ระดับ รวมด้วยกันคือ 3 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ไม่มีการรอดชีวิตของคัพภะเลย

ในการศึกษาต่อมาจึงทำการแกะเอาผนังของรังไข่ออก เหลือแต่กลุ่มของออวูล หลังการผสมเกสรแล้วที่มีรกดติดอยู่ด้วย แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร พบว่า กลุ่มของเมล็ดอ่อนสามารถเกิดเป็นแคลลัสได้บางกรณี (ตารางที่ 21) เมื่อนำกลุ่มของเมล็ดอ่อน 9 วันมาเลี้ยงบนอาหารที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 6 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด คือ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยสามารถเกิดแคลลัสได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และมีวันเฉลี่ยที่เกิดแคลลัสเป็น 56.7 วัน (ภาพที่ 24ก) สำหรับกลุ่มของเมล็ดอ่อนที่มีอายุ 12 วันหลังผสมเกสรเกิดการพัฒนา โดยมีการขยายขนาด และเปลี่ยนจากเมล็ดสีขาวไปเป็นเขียวอ่อน แต่เมื่อเลี้ยงต่อไปเกิดการปนเปื้อนในทุกกรรมวิธี โดยเริ่มเกิดจากตัวเนื้อเยื่อเอง (ภาพที่ 24ข)

ตารางที่ 21 ความเข้มข้นของซูโครส และอายุคัพภะที่มีรกติดอยู่ต่อวันเฉลี่ยที่เกิดแคลลัสและเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส

อายุออวุล (วัน)	ความเข้มข้นของ ซูโครส (เปอร์เซ็นต์)	การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนวันเฉลี่ย เมื่อเริ่มเกิด แคลลัส	การเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)
3	3	20	61.0	100
	6	0	-	0
	9	20	-	0
6	3	20	-	0
	6	40	59.0	50
	9	0	-	0
9	3	20	-	0
	6	60	56.7	100
	9	20	-	0
12	3	*	-	-
	6	*	-	-
	9	*	-	-

* หมายถึง เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์



ก.



ข.

ภาพที่ 24 แคลลัส และการปนเปื้อน

ก. แคลลัสจากการเพาะเลี้ยงอวูลอายุ 9 วันหลังจากผสมเกสร

ข. ตักษณะการเกิดการปนเปื้อน ของอวูลอายุ 12 วันหลังจากผสมเกสร
ในสภาพปลอดเชื้อ