

บทที่ 4

ผลการศึกษา

4.1 ศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดยอดของผักตบ

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้อง และชิ้นส่วนใบของผักตบ พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงตรงบริเวณรอยตัดทั้งสองข้างของชิ้นส่วนปล้องที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 mg/L โดยเกิดยอดขนาดเล็กจำนวนมากติดกันเป็นกลุ่มก้อน ส่วนชุดการทดลองอื่นเกิดยอดใหม่ได้เล็กน้อย เมื่อครบ 6 สัปดาห์ ชิ้นส่วนปล้องที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด คือ 2.83 ± 0.28 ยอดต่อชิ้นส่วนปล้อง ซึ่งต่างกับชุดควบคุม และชุดการทดลองอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 11 และภาพที่ 4)

ส่วนน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของยอด พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.25 mg/L ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของยอดได้ดีที่สุด คือ 51.56 ± 13.29 และ 13.41 ± 3.77 mg ตามลำดับ รองลงมา คือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของยอด คือ 36.29 ± 8.76 และ 10.79 ± 2.63 mg ตามลำดับ ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ทั้งสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 11)

ส่วนเปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนปล้องที่เกิดยอด พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ถึง 100 % แต่อย่างไรก็ตามในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.25 และ 1 mg/L หรือ kinetin ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/L รวมทั้งชุดควบคุมล้วนมีแนวโน้มว่าสามารถเกิดยอดได้ดีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 11)

ส่วนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบนั้นไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA หรือ kinetin รวมทั้งชุดควบคุมที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

4.2 ผลของออกซินและไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของผักตบ

จากผลการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้อง และชิ้นส่วนใบ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องเป็นเวลา 2 สัปดาห์ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เร็วกว่าชุดการทดลองอื่น เมื่อครบเวลา 6 สัปดาห์ ชิ้นส่วนปล้องที่เลี้ยงในอาหารสูตร

นี้สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำหนักรากและน้ำหนักแห้งได้มากที่สุด คือ 143.38 ± 11.39 และ 18.53 ± 0.82 mg ตามลำดับ (ตารางที่ 10) รองลงมา คือ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L ให้น้ำหนักรากและน้ำหนักแห้งของแคลลัสเฉลี่ย 118.27 ± 18.01 และ 16.93 ± 1.86 mg ตามลำดับ ซึ่งให้ผลแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่เกิดแคลลัส

นอกเหนือจากนี้พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีลักษณะเป็นเซลล์ที่เกาะกันแน่น (compact callus) สีเขียวอ่อน สีเขียว สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน และไม่มีสีอยู่ในก้อนเดียวกัน (ภาพที่ 5) โดยมีเปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนปล้องที่เกิดแคลลัส เท่ากับ 93.06 ± 3.94 ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผลที่ได้จากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 mg/L ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนปล้องที่เกิดแคลลัสมากที่สุด คือ 94.12 ± 3.41 อนึ่ง ยังพบว่าชิ้นส่วนปล้องที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดังต่อไปนี้ ได้แก่ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 mg/L หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/L หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 mg/L ล้วนสามารถให้เปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนปล้องที่เกิดแคลลัสได้ดีเช่นกัน (ตารางที่ 10)

ส่วนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 mg/L ให้แคลลัสที่มีน้ำหนักรากและน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ 44.07 ± 3.00 และ 8.92 ± 0.56 mg ตามลำดับ (ตารางที่ 11) รองลงมา คือ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/L ให้น้ำหนักรากและน้ำหนักแห้งของแคลลัสเฉลี่ย 41.37 ± 2.48 และ 8.23 ± 0.43 mg ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในชุดควบคุมไม่เกิดแคลลัส ส่วนชิ้นส่วนใบที่เกิดแคลลัสได้ 100 % นั้นพบได้ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/L หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/L หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/L นอกจากนี้สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/L หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 mg/L สามารถให้ผลเปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนใบที่เกิดแคลลัสไม่ต่างกับสูตรอาหารกลุ่มแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้นเป็นเซลล์ที่เกาะกันแน่น (compact callus) สีน้ำตาลอ่อน สีเหลืองอ่อน และสีเขียวอ่อนพบได้ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 mg/L (ภาพที่ 6)

ตารางที่ 9 ผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดยอดของผักตบชวาจากชิ้นส่วนปล้อง หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอดต่อชิ้นส่วนปล้อง)*	น้ำหนักสดของยอดเฉลี่ย (มิลลิกรัม)*	น้ำหนักแห้งของยอดเฉลี่ย (มิลลิกรัม)*	เปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนปล้องที่เกิดยอด*
ชุดควบคุม	2.00±0.15 ^b	5.12±0.57 ^c	1.59±0.22 ^c	91.18±4.77 ^a
BA 0.25 mg/L	1.45±0.23 ^b	51.56±13.29 ^a	13.41±3.77 ^a	85.71±6.27 ^{ab}
BA 0.5 mg/L	2.83±0.28 ^a	36.29±8.76 ^{ab}	10.79±2.63 ^{ab}	100.00±0.00 ^a
BA 1 mg/L	2.00±0.23 ^b	28.99±7.68 ^b	6.16±1.10 ^{bc}	92.31±5.21 ^a
BA 2 mg/L	2.11±0.31 ^b	10.55±2.60 ^c	4.00±1.41 ^c	63.64±7.04 ^c
BA 3 mg/L	1.80±0.24 ^b	7.21±2.13 ^c	2.33±0.66 ^c	70.00±8.17 ^c
kinetin 0.25 mg/L	1.69±0.13 ^b	8.58±1.25 ^c	2.42±0.50 ^c	91.18±4.77 ^a
kinetin 0.5 mg/L	1.63±0.14 ^b	8.46±2.15 ^c	3.08±0.76 ^c	90.00±4.59 ^a
kinetin 1 mg/L	1.76±0.15 ^b	8.63±2.03 ^c	2.62±0.55 ^c	70.59±6.15 ^c
kinetin 1.5 mg/L	2.18±0.19 ^b	9.39±3.09 ^c	1.75±0.34 ^c	73.08±7.20 ^{bc}
kinetin 2 mg/L	1.85±0.26 ^b	6.16±1.51 ^c	1.98±0.47 ^c	67.86±6.65 ^c

* ตัวเลขภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่กำกับตัวเลขในช่องแสดงความเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยในแนวดิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี DMPT ($P \leq 0.05$) โดยตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 10 ผลของออกซินและไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของผักตบชวาจากชิ้นส่วนปล้อง หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

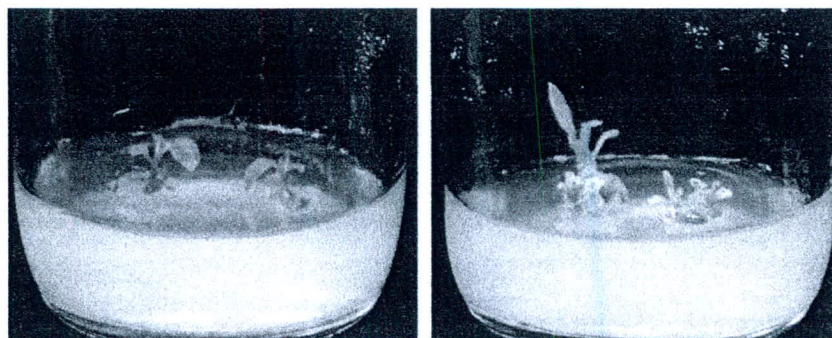
ชุดการทดลอง	น้ำหนักสดแคลลัส (มิลลิกรัม)*	น้ำหนักแห้งแคลลัส (มิลลิกรัม)*	เปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนปล้อง ที่เกิดแคลลัส*	ลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้น
ชุดควบคุม	ND**	ND**	ND**	ไม่เกิดแคลลัส
2,4-D 0.1 mg/L	143.38±11.39 ^a	18.53±0.82 ^a	93.06±3.94 ^a	สีเขียวอ่อน สีเขียว สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน ไม่มีสี
2,4-D 0.1 mg/L+BA 0.25 mg/L	92.33±11.99 ^b	14.28±1.27 ^b	94.12±3.41 ^a	สีเขียวอ่อน สีเขียว สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน
2,4-D 0.1 mg/L+BA 0.5 mg/L	118.27±18.01 ^{ab}	16.93±1.86 ^{ab}	80.88±6.26 ^{ab}	สีเขียวอ่อน สีเขียว สีเหลืองอ่อน
2,4-D 0.1 mg/L+BA 1 mg/L	57.22±10.27 ^c	9.45±1.46 ^c	52.63±6.31 ^{de}	สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน สีเขียวอ่อน สีเขียว
2,4-D 1 mg/L	33.92±3.18 ^{cde}	5.51±0.42 ^{def}	67.50±6.04 ^{bcd}	สีเขียวอ่อน สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน ไม่มีสี
2,4-D 1 mg/L+BA 0.25 mg/L	49.04±4.14 ^{cd}	9.44±0.77 ^c	84.21±5.48 ^{ab}	สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน
2,4-D 1 mg/L+BA 0.5 mg/L	33.99±4.96 ^{cde}	7.13±0.93 ^{cde}	65.91±5.08 ^{bcd}	สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน สีเขียวอ่อน
2,4-D 1 mg/L+BA 1 mg/L	23.20±3.38 ^{de}	4.70±0.57 ^{def}	44.23±5.03 ^e	สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน
2,4-D 2 mg/L	25.04±2.87 ^{de}	3.82±0.37 ^{ef}	85.42±8.40 ^{ab}	สีน้ำตาลอ่อน สีเหลืองอ่อน
2,4-D 2 mg/L+BA 0.25 mg/L	32.64±3.38 ^{cde}	6.54±0.42 ^{cdef}	78.57±5.78 ^{abc}	สีน้ำตาลอ่อน สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน ไม่มีสี
2,4-D 2 mg/L+BA 0.5 mg/L	29.50±4.96 ^{cde}	6.06±0.76 ^{cdef}	70.45±7.40 ^{bcd}	สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน
2,4-D 2 mg/L+BA 1 mg/L	14.87±1.56 ^e	3.42±0.42 ^f	71.43±13.83 ^{bcd}	สีน้ำตาลอ่อน สีเหลืองอ่อน
2,4-D 0.1 mg/L+BA 0.25 mg/L+NAA 1 mg/L	53.75±8.26 ^{cd}	9.42±1.25 ^c	59.72±6.11 ^{cde}	สีเขียวอ่อน สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน
2,4-D 0.1 mg/L+BA 0.5 mg/L+NAA 1 mg/L	40.66±4.06 ^{cde}	7.34±0.70 ^{cd}	58.42±9.36 ^{cde}	สีเหลืองอ่อน สีเขียวอ่อน สีเขียว สีน้ำตาลอ่อน

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่กำกับตัวเลขในช่องแสดงความเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี DMRT ($P \leq 0.05$) โดยตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ; ** ND หมายถึง ไม่เกิดแคลลัส หมายถึง สีของแคลลัสเรียงลำดับตามการเกิดสีของแคลลัสจากมากไปหาน้อย

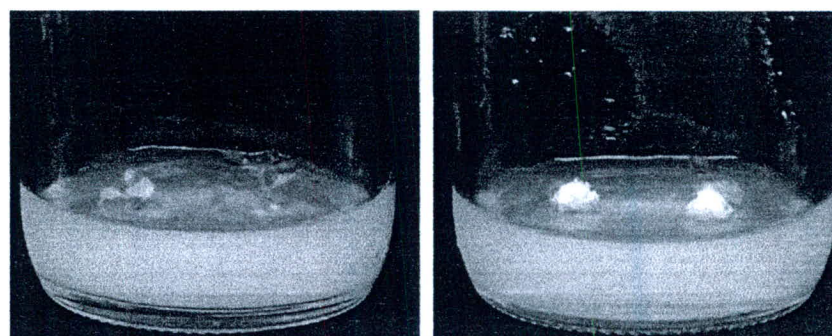
ตารางที่ 11 ผลของออกซินและไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของผักตบชวาจากชิ้นส่วนใบ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	น้ำหนักสดแคลลัส (มิลลิกรัม)*	น้ำหนักแห้งแคลลัส (มิลลิกรัม)*	เปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วน ใบที่เกิดแคลลัส*	ลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้น
ชุดควบคุม	ND**	ND**	ND**	ไม่เกิดแคลลัส
2,4-D 0.1 mg/L	12.16±2.17 ^f	2.82±0.15 ^g	41.67±5.27 ^e	สีน้ำตาลอ่อน
2,4-D 0.1 mg/L+BA 0.25 mg/L	26.98±2.70 ^{cd}	5.83±0.53 ^{bcde}	69.23±7.57 ^d	สีเขียวอ่อน สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน
2,4-D 0.1 mg/L+BA 0.5 mg/L	20.71±1.68 ^{de}	4.50±0.35 ^{ef}	71.88±8.76 ^d	สีน้ำตาลอ่อน สีเหลืองอ่อน สีเขียวอ่อน
2,4-D 0.1 mg/L+BA 1 mg/L	16.89±1.00 ^{ef}	3.46±0.21 ^{fg}	52.78±7.73 ^e	สีเขียวอ่อน สีเหลืองอ่อน
2,4-D 1 mg/L	41.37±2.48 ^a	8.23±0.43 ^a	92.50±3.67 ^{abc}	สีเขียวอ่อน สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน ไม่มีสี
2,4-D 1 mg/L+BA 0.25 mg/L	44.07±3.00 ^a	8.92±0.56 ^a	100.00±0.00 ^a	สีน้ำตาลอ่อน สีเหลืองอ่อน สีเขียวอ่อน
2,4-D 1 mg/L+BA 0.5 mg/L	26.55±1.86 ^{cd}	5.68±0.33 ^{bcde}	100.00±0.00 ^a	สีน้ำตาลอ่อน สีเหลืองอ่อน สีเขียวอ่อน
2,4-D 1 mg/L+BA 1 mg/L	22.40±1.12 ^{de}	5.11±0.27 ^{de}	83.75±4.54 ^{bc}	สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน สีเขียวอ่อน
2,4-D 2 mg/L	34.31±2.52 ^b	6.84±0.49 ^b	100.00±0.00 ^a	สีเขียวอ่อน สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน ไม่มีสี
2,4-D 2 mg/L+BA 0.25 mg/L	33.76±1.61 ^b	6.65±0.27 ^{bc}	100.00±0.00 ^a	สีน้ำตาลอ่อน สีเหลืองอ่อน สีเขียวอ่อน
2,4-D 2 mg/L+BA 0.5 mg/L	28.28±1.66 ^{bcd}	5.92±0.32 ^{bcd}	100.00±0.00 ^a	สีน้ำตาลอ่อน สีเหลืองอ่อน สีเขียวอ่อน
2,4-D 2 mg/L+BA 1 mg/L	25.92±1.88 ^{cd}	5.62±0.37 ^{bcde}	94.74±2.40 ^{ab}	สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน สีเขียวอ่อน
2,4-D 0.1 mg/L+BA 0.25 mg/L+NAA 1 mg/L	24.64±1.54 ^{cd}	5.45±0.32 ^{cde}	85.53±5.17 ^{bc}	สีเขียวอ่อน สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน
2,4-D 0.1 mg/L+BA 0.5 mg/L+NAA 1 mg/L	21.15±0.94 ^{cde}	4.48±0.22 ^{ef}	80.56±4.31 ^{cd}	สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน สีเขียวอ่อน

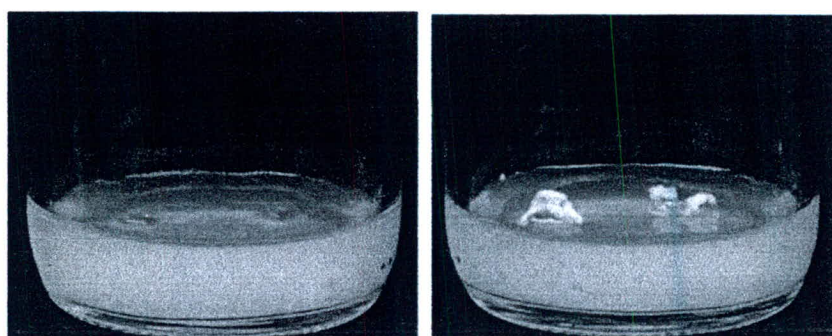
* ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่กำกับตัวเลขในช่องแสดงความเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี DMRT ($P \leq 0.05$) โดยตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ; ** ND หมายถึง ไม่เกิดแคลลัส หมายถึง สีของแคลลัสเรียงลำดับตามการเกิดสีของแคลลัสจากมากไปหาน้อย



ภาพที่ 4 การชักนำให้เกิดยอดของผักตบชวาจากชิ้นส่วนปล้องในอาหารสูตร MS ที่ได้รับ BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L (ขวา) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ซ้าย) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์



ภาพที่ 5 การชักนำให้เกิดแคลลัสของผักตบชวาจากชิ้นส่วนปล้องในอาหารสูตร MS ที่ได้รับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/L (ขวา) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ซ้าย) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

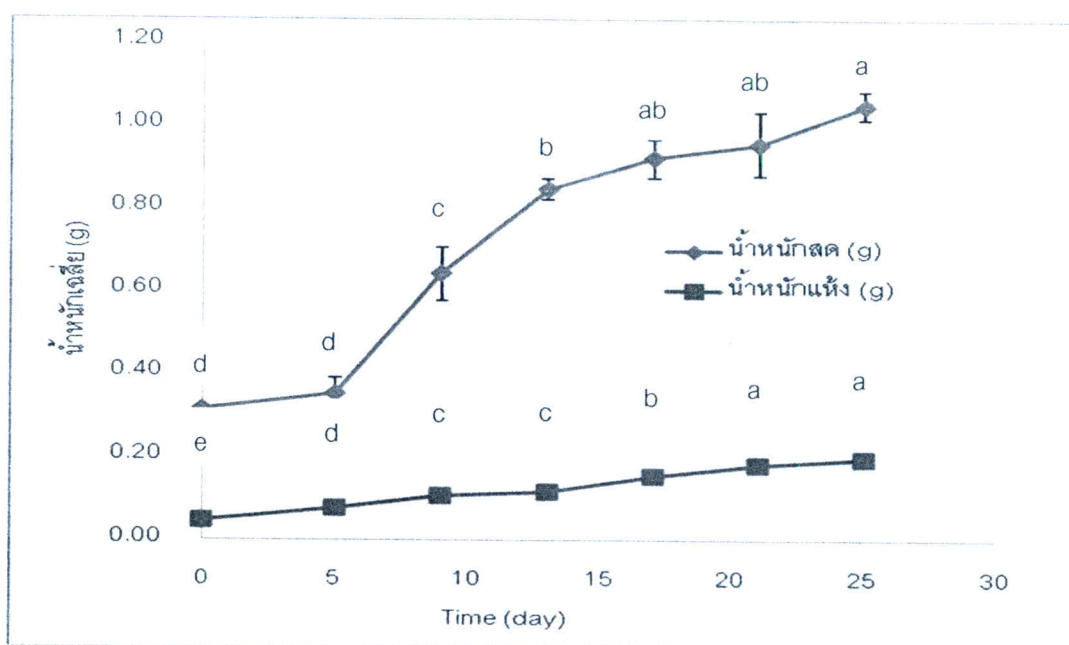


ภาพที่ 6 การชักนำให้เกิดแคลลัสของผักตบชวาจากชิ้นส่วนใบในอาหารสูตร MS ที่ได้รับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.25 mg/L (ขวา) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ซ้าย) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

4.3 เพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของผักตบเพื่อศึกษาการเติบโต และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

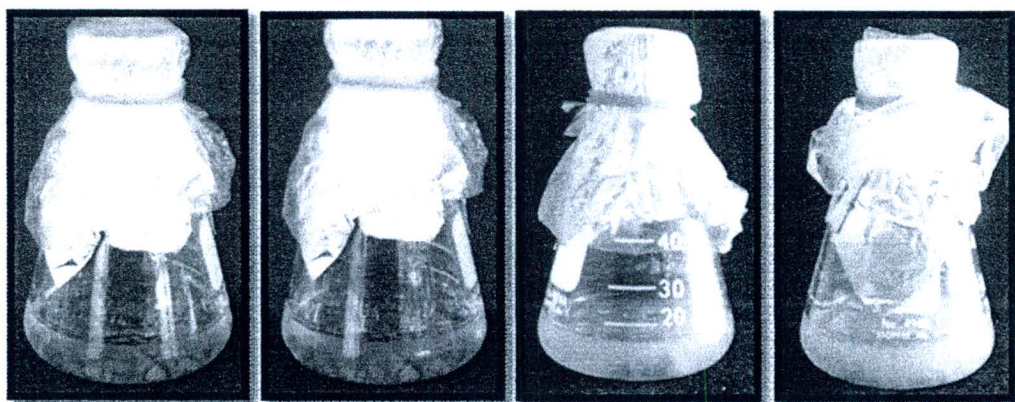
4.3.1 การเติบโตของเซลล์แขวนลอยของผักตบ

เมื่อนำแคลล์จากชิ้นส่วนปล้องมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L และวัดการเติบโตด้วยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง (g) ของวันที่ 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 พบว่า กลุ่มเซลล์เริ่มเติบโตมากขึ้น โดยสังเกตจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดตั้งแต่หลังวันที่ 5 ถึง วันที่ 9 จากนั้นเซลล์เติบโตขึ้นเรื่อยๆ จนมีน้ำหนักสดสูงสุดในวันที่ 17, 21 และ 25 ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนน้ำหนักแห้งสูงสุด คือ ในวันที่ 21 และ 25 ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 การเติบโตของเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L ในช่วงเวลาการเติบโตของวันที่ 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 ตามลำดับ

ส่วนลักษณะของเซลล์แขวนลอยเป็นกลุ่มก้อนที่เกาะติดกัน และก้อนเซลล์ขนาดเล็กที่แยกออกมาหลังจากเลี้ยงในอาหารเหลว รวมทั้งเกิดเป็นตะกอนสีน้ำตาลอ่อน ในระยะเริ่มต้นกลุ่มเซลล์แคลลัสส่วนใหญ่มีสีเขียว และหลังจากวันที่ 21 วันจนถึงวันที่ 25 ของการเลี้ยงเซลล์แขวนลอยเซลล์ส่วนใหญ่มีสีคล้ำ และเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 8)

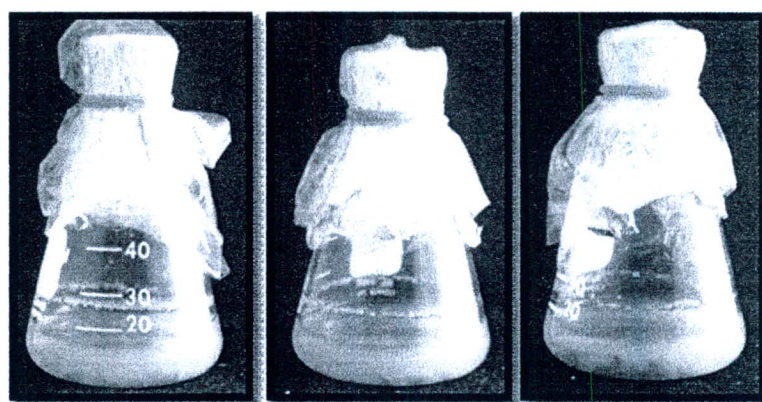


วันที่ 0

วันที่ 5

วันที่ 9

วันที่ 13



วันที่ 17

วันที่ 21

วันที่ 25

ภาพที่ 8 เซลล์แขวนลอยของแคลลัสจากชิ้นส่วนปล้องในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L ในช่วงเวลาการเติบโตของวันที่ 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 ตามลำดับ

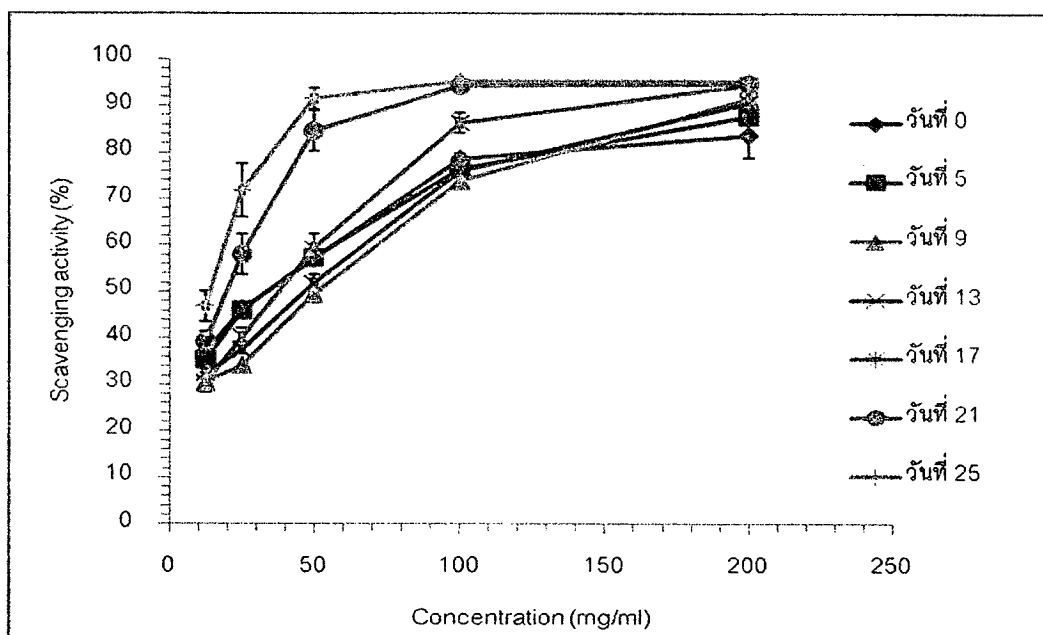
4.3.2 การตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของเซลล์แขวนลอยของผักตด

4.3.2.1 การตรวจสอบความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH

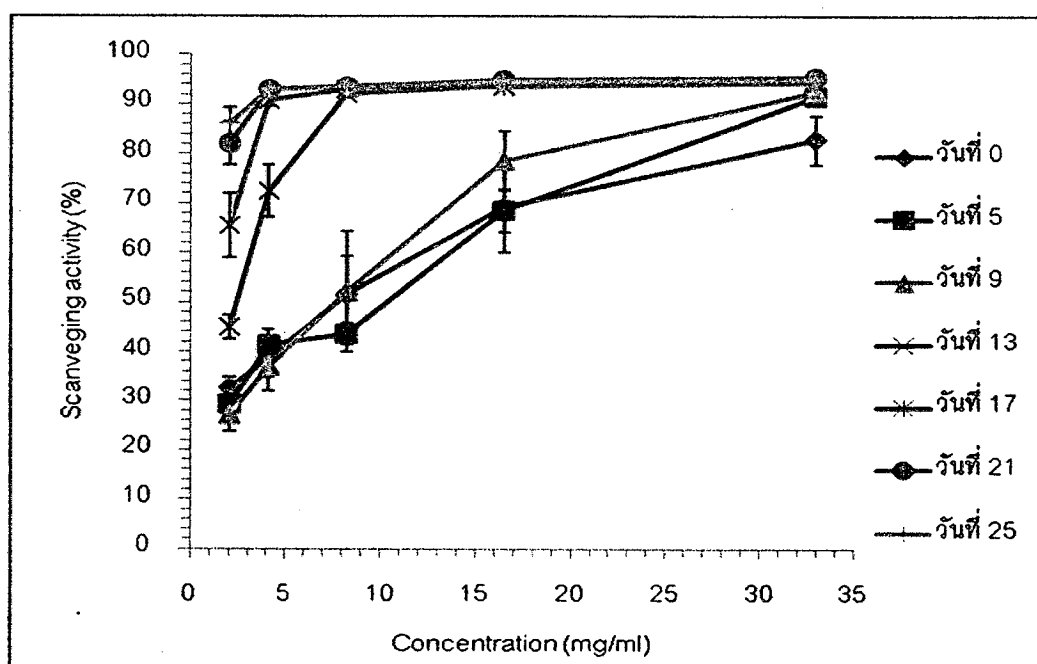
จากการตรวจสอบความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดตัวอย่างสดและแห้งจากเซลล์แขวนลอยที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L เป็นเวลา 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 พบว่า สารสกัดตัวอย่างสดของเซลล์แขวนลอยในช่วงวันที่ 25 มีเปอร์เซ็นต์ของความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ได้สูงที่สุด รองลงมา คือ เซลล์แขวนลอยของวันที่ 21 ซึ่งที่ความเข้มข้น 25 mg/ml ของสารสกัดเซลล์แขวนลอยสามารถขจัดอนุมูล DPPH ได้มากกว่า 50% และสูงขึ้นเกือบ 100% ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 mg/ml (ภาพที่ 9) ในขณะที่เซลล์แขวนลอยของช่วงวันอื่นที่ความเข้มข้น 50 mg/ml ของสารสกัดเซลล์แขวนลอยสามารถขจัดอนุมูล DPPH ได้มากกว่า 50% และเพิ่มมากขึ้นเกือบ 100% ที่ความเข้มข้น 100 และ 200 mg/ml (ภาคผนวก ข ตารางที่ 12)

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ระหว่างเซลล์แขวนลอยของผักตดและตัวอย่างสดใบ และลำต้นของผักตดจากการเพาะเลี้ยง และใบของผักตดจากธรรมชาติ รวมทั้งผักเศรษฐกิจ คือ ผักกาดขาว พบว่า ทั้งเซลล์แขวนลอยของผักตด และผักตดจากการเพาะเลี้ยง และใบผักตดจากธรรมชาติ มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ได้สูงกว่าผักกาดขาว (ภาคผนวก ข ตารางที่ 14, 15 และ 16)

ส่วนสารสกัดตัวอย่างแห้งของเซลล์แขวนลอยของวันที่ 25, 21 และ 17 มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ได้สูงกว่า 50% ที่ความเข้มข้น 2.06 mg/ml ของสารสกัดเซลล์แขวนลอย และสูงเพิ่มขึ้นเกือบ 100% ที่ความเข้มข้น 4.13, 8.25, 16.50 และ 33.00 mg/ml (ภาพที่ 10) ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า เซลล์แขวนลอยของวันที่ 25, 21 และ 17 มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงมากเกือบ 100% ส่วนเซลล์แขวนลอยของวันที่ 13 สามารถขจัดอนุมูล DPPH ได้สูงมากกว่า 70% ที่ความเข้มข้น 4.13 mg/ml ในขณะที่เซลล์แขวนลอยของวันที่ 9, 5 และ 0 สามารถขจัดอนุมูล DPPH ได้เกือบ 50% ที่ความเข้มข้น 8.25 mg/ml (ภาคผนวก ข ตารางที่ 13)



ภาพที่ 9 ค่า Scavenging activity (%) ของสารสกัดจากตัวอย่างสดเซลล์แขวนลอยของผักตบชวาที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L ในช่วงเวลาการเติบโตของวันที่ 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 ตามลำดับ



ภาพที่ 10 ค่า Scavenging activity (%) ของสารสกัดจากตัวอย่างแห้งเซลล์แขวนลอยของผักตบชวาที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L ในช่วงเวลาการเติบโตของวันที่ 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 ตามลำดับ

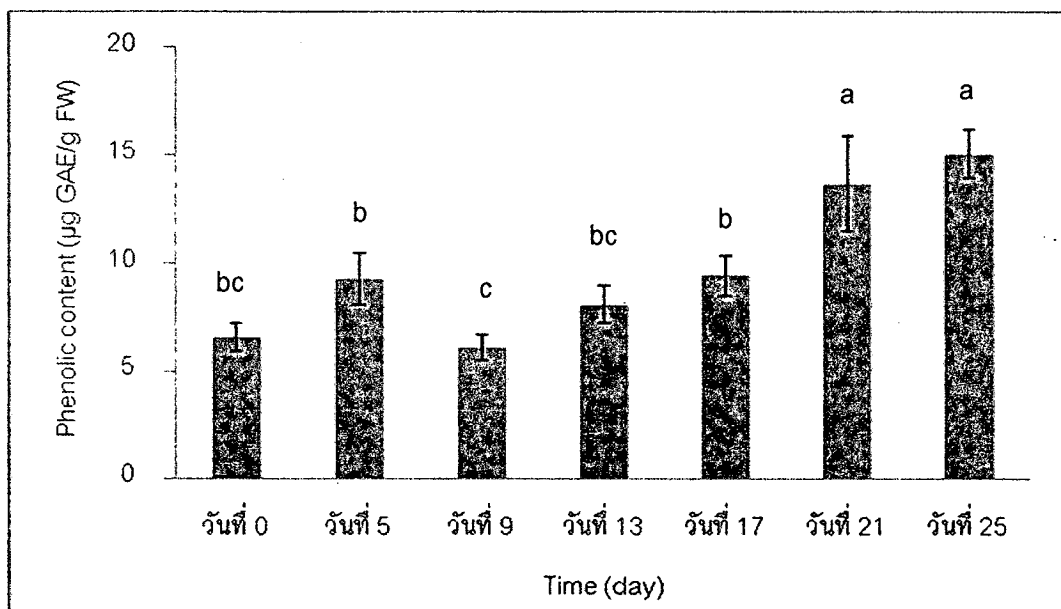
เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ของเซลล์แขวนลอยแห้งกับใบ และลำต้นแห้งของผักตบชวาจากการเพาะเลี้ยง และใบแห้งของผักตบชวาจากธรรมชาติ รวมทั้งผักเศรษฐกิจ คือ ผักกาดขาวแห้ง พบว่า เซลล์แขวนลอยแห้งมีเปอร์เซ็นต์ของความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH สูงกว่าผักกาดขาวแห้ง อีกทั้งยังมีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ได้สูงกว่าใบ และลำต้นแห้งของผักตบชวาจากการเพาะเลี้ยง และใบแห้งของผักตบชวาจากธรรมชาติ (ภาคผนวก ข ตารางที่ 14, 15 และ 16)

4.3.2.2 ปริมาณฟีนอลิก

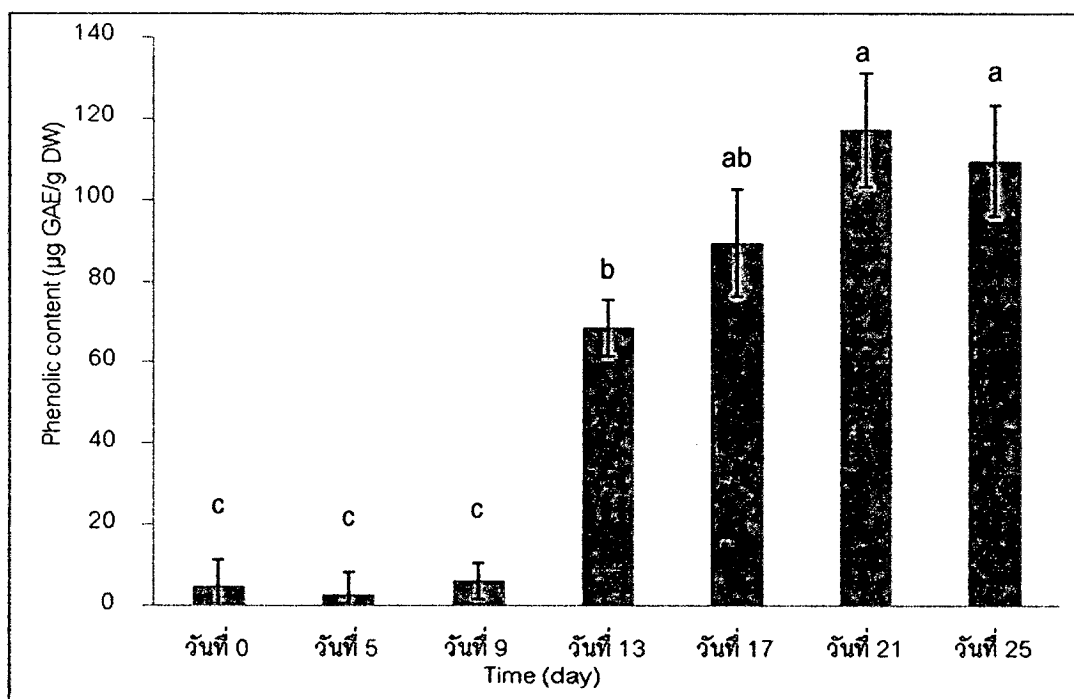
จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดตัวอย่างเซลล์แขวนลอยของผักตบชวาแห้งและแห้งที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L เป็นเวลา 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 พบว่า สารสกัดตัวอย่างสดของเซลล์แขวนลอยในช่วงวันที่ 25 ของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณฟีนอลิกสูงสุด คือ $15.08 \pm 1.11 \mu\text{g GAE/g FW}$ รองลงมาคือ ในวันที่ 21 เท่ากับ $13.69 \pm 2.21 \mu\text{g GAE/g FW}$ ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกมากกว่าเซลล์แขวนลอยในช่วงวันอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 11)

ส่วนสารสกัดตัวอย่างแห้งของเซลล์แขวนลอยจะเห็นว่าเริ่มมีการสะสมปริมาณฟีนอลิกตั้งแต่ในช่วงวันที่ 17 ถึง วันที่ 25 โดยเซลล์แขวนลอยในวันที่ 21 มีปริมาณฟีนอลิกสูงสุด เท่ากับ $117.11 \pm 13.98 \mu\text{g GAE/g DW}$ รองลงมา คือ ในวันที่ 25 เท่ากับ $109.57 \pm 13.61 \mu\text{g GAE/g DW}$ และในช่วงวันที่ 17 ให้ปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ $89.53 \pm 13.19 \mu\text{g GAE/g DW}$ ซึ่งมีแนวโน้มว่าจะสามารถสะสมสารฟีนอลิกได้ดีเช่นกัน (ภาพที่ 12)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกในเซลล์แขวนลอยทั้งตัวอย่างสดและแห้งกับสารสกัดตัวอย่างของใบ และลำต้นผักตบชวาจากการเพาะเลี้ยง และใบผักตบชวาจากธรรมชาติ รวมทั้งผักเศรษฐกิจ คือ ผักกาดขาว พบว่า เซลล์แขวนลอยทั้งตัวอย่างสดและแห้งมีการสะสมปริมาณสารฟีนอลิกได้มากกว่าสารสกัดจากตัวอย่างอื่น (ภาคผนวก ข ตารางที่ 18)



ภาพที่ 11 ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดจากตัวอย่างสดเซลล์แขวนลอยของผักตบชวาที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L ในช่วงเวลาการเติบโตของวันที่ 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 ตามลำดับ



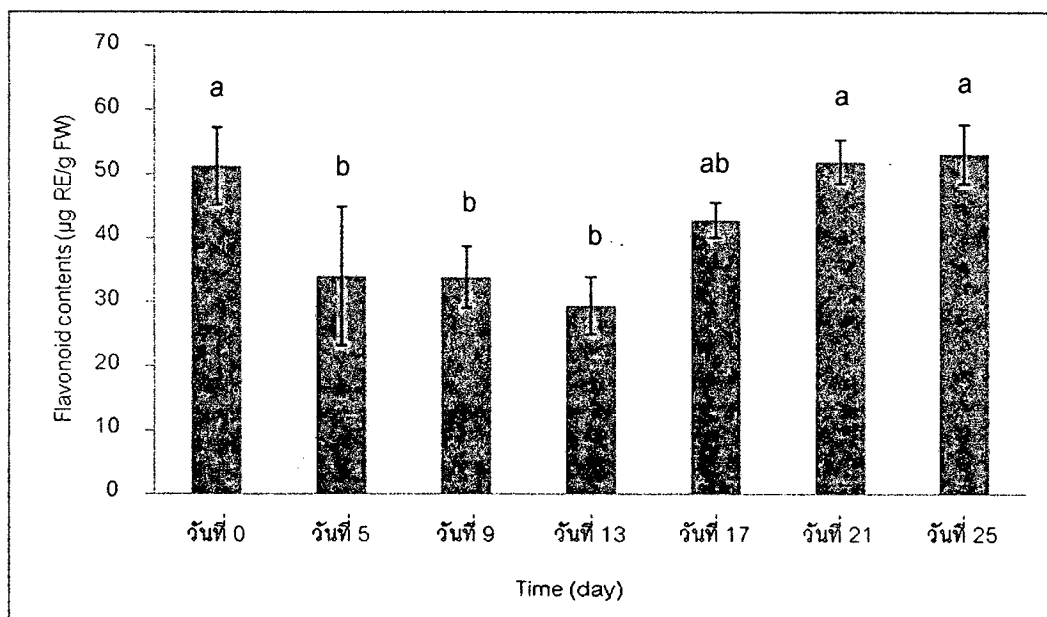
ภาพที่ 12 ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดจากตัวอย่างแห้งเซลล์แขวนลอยของผักตบชวาที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L ในช่วงเวลาการเติบโตของวันที่ 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 ตามลำดับ

4.3.2.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์

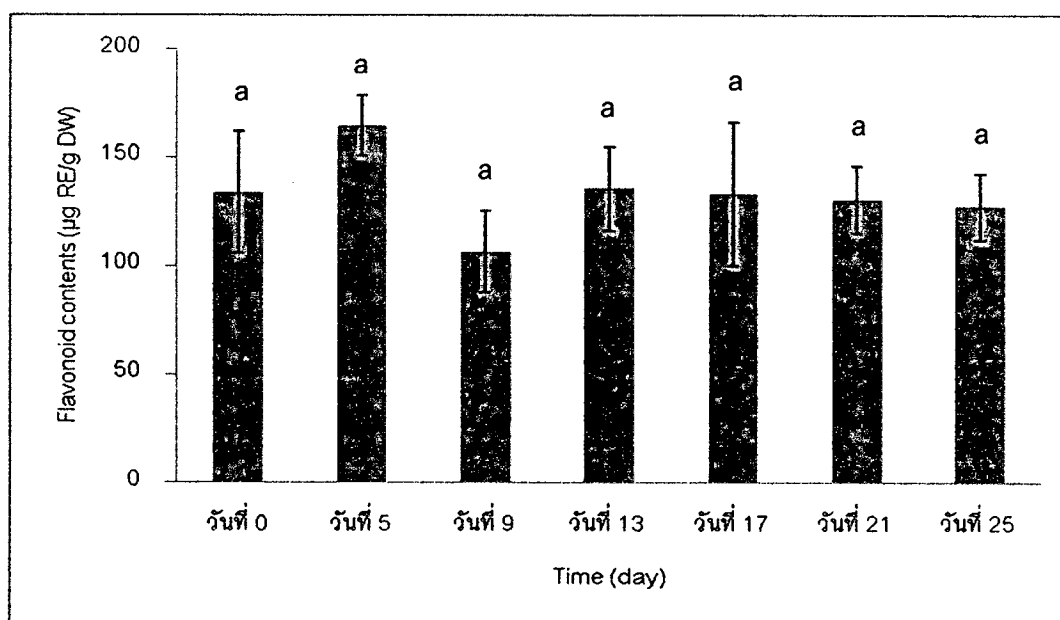
จากภาพที่ 13 จะเห็นได้ว่า ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดตัวอย่างเซลล์แขวนลอย ตัวอย่างสดของผักตบชวาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L มีการสะสมปริมาณฟลาโวนอยด์สูงตั้งแต่ในช่วงวันที่ 17 จนถึงวันที่ 25 ของการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ซึ่งในช่วงวันที่ 25 มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด เท่ากับ $53.06 \pm 4.65 \mu\text{g RE/g FW}$ รองลงมา คือ วันที่ 21 เท่ากับ $51.94 \pm 3.39 \mu\text{g RE/g FW}$ ในขณะที่ช่วงวันที่ 0 มีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ $51.26 \pm 5.98 \mu\text{g RE/g FW}$ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามเซลล์แขวนลอยที่เลี้ยงเป็นเวลา 17 วันมีแนวโน้มว่าจะสามารถสะสมฟลาโวนอยด์ได้ดีเช่นกัน

ส่วนสารสกัดตัวอย่างเซลล์แขวนลอยแห้งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ในแต่ละช่วงอายุไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเซลล์แขวนลอยแห้งในวันที่ 5 มีแนวโน้มของการสะสมฟลาโวนอยด์มากที่สุด เท่ากับ $164.557 \pm 13.939 \mu\text{g RE/g DW}$ (ภาพที่ 14)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์ของเซลล์แขวนลอยทั้งตัวอย่างสดและแห้ง และสารสกัดตัวอย่างของใบ และลำต้นผักตบชวาจากการเพาะเลี้ยง และใบผักตบชวาธรรมชาติ รวมทั้งผักเศรษฐกิจ คือ ผักกาดขาว พบว่า เซลล์แขวนลอยจากสารสกัดตัวอย่างสดและแห้งในทุกช่วงเวลาของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงกว่าใบและลำต้นผักตบชวาจากการเพาะเลี้ยง ใบผักตบชวาธรรมชาติ และผักกาดขาว (ภาคผนวก ข ตารางที่ 20)



ภาพที่ 13 ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากตัวอย่างสดเซลล์แขวนลอยของผักตดที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L ในช่วงเวลาการเติบโตของวันที่ 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 ตามลำดับ



ภาพที่ 14 ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากตัวอย่างแห้งเซลล์แขวนลอยของผักตดที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.05 mg/L ในช่วงเวลาการเติบโตของวันที่ 0, 5, 9, 13, 17, 21 และ 25 ตามลำดับ