

ผลการทดลอง

1. การศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บชิ้นส่วนข้อมาฟอกมาเชื้อ

การฟอกมาเชื้อชิ้นส่วนของพืชทั้ง 3 ชนิดที่เก็บในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ได้แก่ ฤดูร้อน (เดือนมีนาคม-พฤษภาคม) ฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม-กันยายน) ฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน-มกราคม) พบว่า ชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน พืพวนน้อย และกล้วยหมูสัง ที่เก็บในฤดูร้อนมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุด 5.8 10.8 และ 28.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือชิ้นส่วนของที่เก็บในฤดูหนาวมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 45.8 52.5 และ 58.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และชิ้นส่วนของที่เก็บในฤดูฝนมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุด 83.3 88.3 และ 91.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

สำหรับเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน กล้วยหมูสัง และพืพวนน้อย พบว่า ชิ้นส่วนของที่เก็บในฤดูร้อนแล้วนำมาฟอกมาเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 98.2 95.5 และ 91.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือชิ้นส่วนของที่เก็บในฤดูหนาว มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 93.9 93.0 และ 87.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และชิ้นส่วนของที่เก็บในฤดูฝนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุด 83.8 83.3 และ 46.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนและการรอดชีวิต เมื่อฟอกชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอน
กล้วยหมุ่สัง และพิพวนน้อยที่เก็บใน 3 ช่วงฤดู

พืช	ฤดูกาลที่เก็บชิ้นส่วน	การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (เปอร์เซ็นต์)	การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)
กล้วยไ้พอน	ฤดูร้อน (มี.ค.-พ.ค.)	5.8	98.2
	ฤดูฝน (ก.ค.-ก.ย.)	83.3	83.8
	ฤดูหนาว (พ.ย.-ม.ค.)	48.3	93.9
	เฉลี่ย	45.8	92.0
กล้วยหมุ่สัง	ฤดูร้อน (มี.ค.-พ.ค.)	28.3	95.5
	ฤดูฝน (ก.ค.-ก.ย.)	91.7	83.3
	ฤดูหนาว (พ.ย.-ม.ค.)	58.3	93.0
	เฉลี่ย	59.4	90.6
พิพวนน้อย	ฤดูร้อน (มี.ค.-พ.ค.)	10.8	91.6
	ฤดูฝน (ก.ค.-ก.ย.)	88.3	46.8
	ฤดูหนาว (พ.ย.-ม.ค.)	52.5	87.8
	เฉลี่ย	50.5	75.4

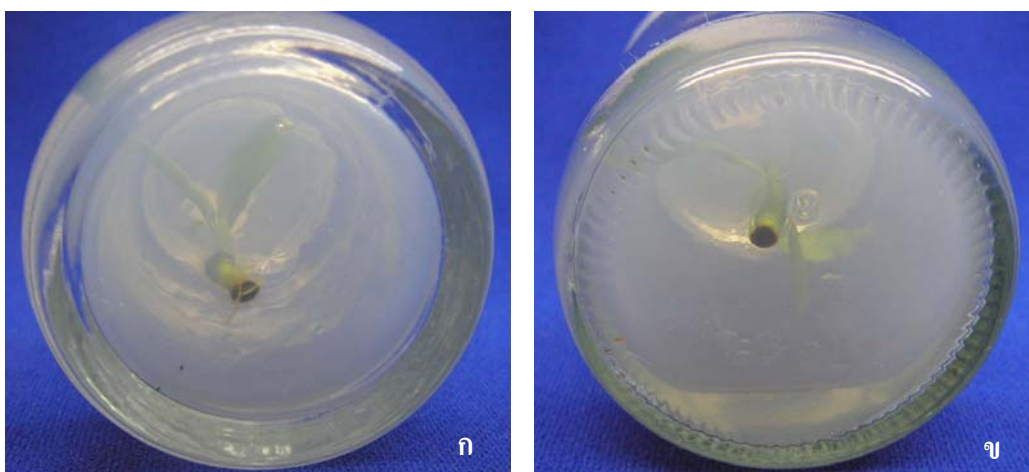
2. การศึกษาผลของยาปฏิชีวนะในการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงของชิ้นส่วน

การใช้ยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียง พบว่า การแช่ชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนในสารละลาย rifampicin หลังการฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ทดสอบ rifampicin ทับบนอาหารกึ่งแข็งสามารถลดการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงได้สูงสุด มีการปนเปื้อน 6.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าการแช่ชิ้นส่วนในสารละลาย rifampicin หลังการฟอกฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว ทำให้ชิ้นส่วนมีการปนเปื้อน 13.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ tetracycline ที่ทำให้ชิ้นส่วนมีการปนเปื้อน 26.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วน penocep และ streptomycin มีประสิทธิภาพลดการปนเปื้อนได้ต่ำสุด มีการปนเปื้อน 40.0 และ 43.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ลักษณะการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงที่พบเป็นการปนเปื้อนเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียมีลักษณะเป็นของเหลวสีขาวขุ่นซึมออกมาจากชิ้นส่วนบริเวณรอยตัดที่สัมผัสอาหาร (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงของชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอน

ชนิดของยา ปฏิชีวนะ	วิธีการ		การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ที่เจริญอยู่ในชิ้นส่วน (เปอร์เซ็นต์)
	แช่ชิ้นส่วนใน สารละลายปฏิชีวนะ ^{1/}	ทดสอบอาหาร ทับบนอาหาร	
control			46.7
streptomycin	/		43.3
penocep	/		40.0
tetracycline	/		26.7
rifampicin	/		13.3
rifampicin	/	/	6.7

^{1/} แช่ชิ้นส่วนในสารละลายปฏิชีวนะหลังจากฟอกฆ่าเชื้อแล้ว



ภาพที่ 2 ชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์

- ก. ชิ้นส่วนมีการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ภายในท่อลำเลียงของชิ้นส่วน
- ข. ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงโดยเทสารละลาย rifampicin ที่บนอาหารกึ่งแข็งไม่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

3. การศึกษาผลของ BA ร่วมกับ AgNO_3 ในการชักนำให้ขึ้นส่วนข้อเกิดยอด และการป้องกันการหลุดร่วงของใบ

3.1 กล้วยไฉ่พอนและกล้วยหมูสัง

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไฉ่พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ พบว่า เมื่อไม่เติม AgNO_3 มีการหลุดร่วงของใบถึง 87.3 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเติม AgNO_3 สามารถลดการหลุดร่วงของใบให้เหลือเพียง 7.3 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

ในส่วนของการขึ้นยอด พบว่า การเติมและไม่เติม AgNO_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยงไม่ทำให้จำนวนยอดแตกต่างกันทางสถิติ ความเข้มข้นของ BA มีผลทำให้จำนวนยอดแตกต่างกัน BA ความเข้มข้น 5-20 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนข้อมีการแตกยอดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA โดยอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดสูงสุด 2.3 และ 2.1 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 4 ตารางผนวกที่ 2) เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปัจจัยร่วมกัน พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน สำหรับความยาวยอด พบว่า การเติมและไม่เติม AgNO_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยง ไม่ทำให้ความยาวยอดแตกต่างกัน แต่ความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความยาวยอดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย BA ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ยอดมีความยาวสูงสุด 0.84 เซนติเมตร เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปัจจัยร่วมกัน พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน (ตารางที่ 4 ตารางผนวกที่ 3)

สำหรับจำนวนข้อของยอดหลัก พบว่า การเติมและไม่เติม AgNO_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยงไม่ทำให้จำนวนข้อของยอดหลักแตกต่างกัน ส่วนความเข้มข้นของ BA ที่แตกต่างกันมีผลทำให้จำนวนข้อของยอดหลักแตกต่างกัน โดย BA ความเข้มข้น 0-15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ยอดหลักเกิดข้อจำนวนมาก มีจำนวนข้อ 2.5-2.8 ข้อ แต่เมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นเป็น 20 ไมโครโมลาร์ พบว่า จำนวนข้อของยอดหลักมีจำนวนลดลง (ตารางที่ 5 ตารางผนวกที่ 4) เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปัจจัย พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน ซึ่งแม้ว่าการเติม AgNO_3 จะไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดและจำนวนข้อของยอดหลัก และไม่ทำให้ยอดใหม่มีความยาวเพิ่มขึ้น แต่มีผลทำให้ยอดที่เกิดขึ้นใหม่สามารถพัฒนาได้อย่างปกติ แตกต่างจากยอดที่ไม่ได้รับ AgNO_3 อย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 3)

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยหมั่งบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมและไม่เติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ พบว่า เมื่อไม่เติม AgNO_3 มีการหลุดร่วงของใบ ถึง 88.0 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเติม AgNO_3 สามารถลดการหลุดร่วงของใบให้เหลือเพียง 6.7 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

ในส่วนของการขยายยอด พบว่า การเติมและไม่เติม AgNO_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยง ไม่ทำให้จำนวนยอดแตกต่างกัน แต่ความเข้มข้นของ BA ที่แตกต่างกันมีผลทำให้จำนวนยอดแตกต่างกัน BA ความเข้มข้น 5-20 ไมโครโมลาร์ ชิ้นส่วนข้อมีการแตกยอดเพิ่มได้แตกต่างจากที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA โดยอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 4.2 ยอด เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปัจจัยร่วมกัน พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน (ตารางที่ 7 ตารางผนวกที่ 5)

สำหรับความยาวยอด พบว่า การเติมและไม่เติม AgNO_3 ลงในอาหารเพาะเลี้ยง มีผลทำให้ความยาวยอดแตกต่างกัน โดยการเติม AgNO_3 ทำให้ยอดมีความยาว 1.00 เซนติเมตร สูงกว่าการไม่เติม AgNO_3 ซึ่งทำให้ยอดมีความยาวเพียง 0.62 เซนติเมตร (ตารางที่ 7 ตารางผนวกที่ 6) เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของ BA พบว่าไม่ทำให้ความยาวยอดแตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มว่า BA ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ทำให้ความยาวยอดสูงสุด เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปัจจัยร่วมกัน พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน จากการสังเกตลักษณะยอดใหม่ที่ได้จากการชักนำ พบว่า เมื่อไม่เติม AgNO_3 ยอดที่ได้จะสั้น ยอดมีลักษณะการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ ใบมีสีค่อนข้างเหลือง แตกต่างจากยอดที่ได้รับ AgNO_3 ที่มีความยาวมากกว่า ยอดใหม่มีการพัฒนาได้อย่างปกติอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 4)

สำหรับจำนวนข้อของยอดหลัก พบว่า การเติม AgNO_3 ทำให้ยอดหลักมีจำนวนข้อ 4.4 ข้อ ซึ่งมากกว่าการไม่เติม AgNO_3 ที่ทำให้ยอดหลักมีจำนวนข้อเพียง 2.8 ข้อ และความเข้มข้นของ BA มีผลทำให้จำนวนข้อของยอดหลักแตกต่างกัน โดย BA ที่ความเข้มข้น 10-15 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดหลักมีจำนวนข้อมากที่สุด 4.0 และ 4.2 ข้อ ตามลำดับ (ตารางที่ 8 ตารางผนวกที่ 7) เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปัจจัยร่วมกัน พบว่ามีปฏิสัมพันธ์กัน โดยการเติม AgNO_3 ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดหลักมีจำนวนข้อมากที่สุด 4.9 และ 5.2 ข้อ ตามลำดับ

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	การหลุดร่วงของใบ (เปอร์เซ็นต์)	
	- AgNO_3	+ AgNO_3
0	76.7	0.0
5	90.0	10.0
10	86.7	10.0
15	93.3	10.0
20	90.0	6.7
เฉลี่ย	87.3	7.3

ตารางที่ 4 จำนวนยอดและความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

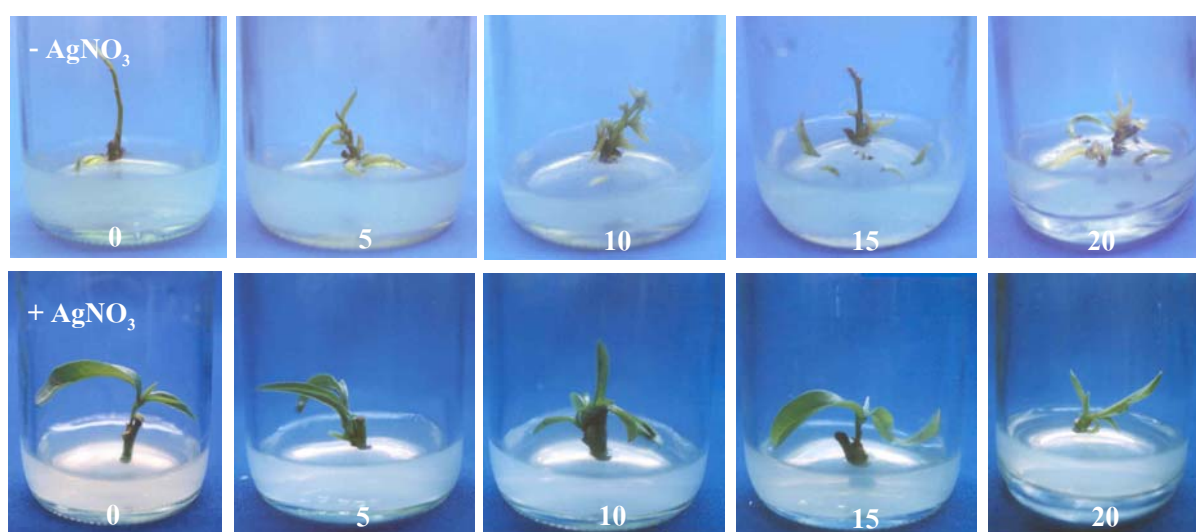
ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด		เฉลี่ย	ความยาวยอด (เซนติเมตร)		เฉลี่ย
	- AgNO_3	+ AgNO_3		- AgNO_3	+ AgNO_3	
0	1.0	1.0	1.0 d ^{1/}	0.83	0.86	0.84 a ^{1/}
5	1.8	1.9	1.8 b	0.64	0.62	0.63 b
10	2.3	2.3	2.3 a	0.61	0.59	0.60 bc
15	2.0	2.2	2.1 a	0.55	0.53	0.54 cd
20	1.6	1.6	1.6 c	0.48	0.48	0.48 d
เฉลี่ย	1.7	1.8		0.62	0.62	
CV (%)	34.9			38.9		

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test

ตารางที่ 5 จำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนข้อของยอดหลัก		เฉลี่ย
	- AgNO_3	+ AgNO_3	
0	2.4	2.7	2.5 ab ^{1/}
5	2.7	2.8	2.8 a
10	2.8	2.8	2.8 a
15	2.7	2.7	2.7 a
20	2.1	2.4	2.2 b
เฉลี่ย	2.5	2.7	
CV (%)	33.4		

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอง แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test



ภาพที่ 3 ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอน เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยหมูสับบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	การหลุดร่วงของใบ (เปอร์เซ็นต์)	
	- AgNO_3	+ AgNO_3
0	93.3	13.3
5	80.0	6.7
10	100.0	6.7
15	86.7	0.0
20	80.0	6.7
เฉลี่ย	88.0	6.7

ตารางที่ 7 จำนวนยอดและความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยหมูสับบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

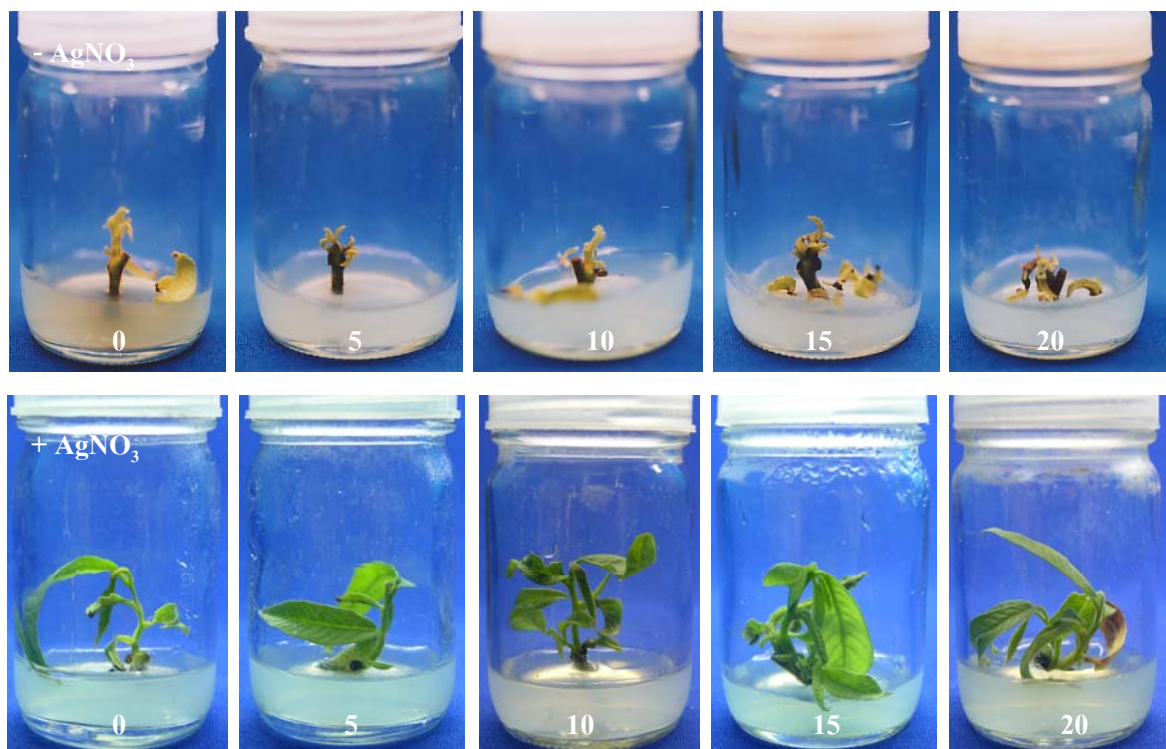
ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด		เฉลี่ย	ความยาวยอด (เซนติเมตร)		เฉลี่ย
	- AgNO_3	+ AgNO_3		- AgNO_3	+ AgNO_3	
0	1.1	1.0	1.0 d ^{1/}	0.78	1.16	0.97
5	2.5	2.7	2.6 c	0.59	1.04	0.81
10	3.5	3.3	3.4 b	0.56	1.00	0.78
15	4.1	4.3	4.2 a	0.59	1.02	0.81
20	3.1	2.4	2.7 c	0.60	0.79	0.69
เฉลี่ย	2.9	2.7		0.62 B ^{1/}	1.00 A	
CV (%)	34.7			43.3		

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในระดับเดียวกัน (a, b, c,...; A, B) แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test

ตารางที่ 8 จำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยหมูลังบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนข้อของยอดหลัก ^{1/}		เฉลี่ย
	- AgNO_3	+ AgNO_3	
0	2.8 ef	3.2 d	3.0 z
5	2.7 f	4.6 b	3.6 y
10	3.0 def	4.9 ab	4.0 x
15	3.1 de	5.2 a	4.2 x
20	2.7 f	3.9 c	3.3 yz
เฉลี่ย	2.8 B	4.4 A	
CV (%)	32.7		

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในระดับเดียวกัน (a, b, c,...; x, y, z; A, B) แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test



ภาพที่ 4 ลักษณะยอดของกล้วยหมูสั้ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ (+ AgNO_3) และไม่เติม (- AgNO_3) นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

3.2 พืพวนน้อย

จากการศึกษาในกล้วยไ้พอน และกล้วยพมูถ้ง พบว่า การเติม AgNO_3 สามารถลดการหลุดร่วงของใบได้แตกต่างจากการไม่เติมอย่างเห็นได้ชัด โดยการเติมและไม่เติม AgNO_3 ไม่มีปฏิสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ BA ดังนั้น ในพืพวนน้อยจึงทำการทดลองเฉพาะการเติม AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA 5 ระดับความเข้มข้น

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของพืพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนยอด โดย BA ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ ทำให้ชิ้นส่วนข้อมีการแตกยอดเพิ่มขึ้นได้ มีจำนวนยอด 1.8 และ 2.1 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 9 ตารางผนวกที่ 8) แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA และที่เติม BA ความเข้มข้น 5 และ 20 ไมโครโมลาร์ ในส่วนของความยาวยอด พบว่า การเติม BA ทำให้ยอดมีความยาวลดลงในทุกความเข้มข้นของ BA ขณะที่การไม่เติม BA ทำให้ยอดมีความยาวสูงสุด 0.64 เซนติเมตร (ตารางที่ 9 ตารางผนวกที่ 9) สำหรับจำนวนข้อของยอดหลัก พบว่า ความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนข้อของยอดหลัก โดย BA ที่ระดับความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ยอดหลักมีจำนวนข้อลดลง และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 10 ไมโครโมลาร์ มีแนวโน้มทำให้ยอดหลักเกิดข้อจำนวนมากที่สุด มีจำนวนข้อ 2.4 ข้อ (ตารางที่ 9 ตารางผนวกที่ 10)

ในการทดลองครั้งนี้แม้ว่าจะไม่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของการเติมและไม่เติม AgNO_3 แต่จากการศึกษาเบื้องต้น โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของพืพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม AgNO_3 พบว่า ยอดที่เกิดขึ้นมีการหลุดร่วงของใบ (ภาพที่ 5) แตกต่างจากยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารที่เติม BA ร่วมกับการเติม AgNO_3 อย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 6) แสดงให้เห็นว่าการเติม AgNO_3 มีผลป้องกันการหลุดร่วงของใบพืพวนน้อยได้

ในการศึกษาผลของ BA ต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของพืพวนน้อยเกิดยอดจำนวนมาก ร่วมกับการเติม AgNO_3 เพื่อลดการหลุดร่วงของใบในครั้งนี้ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่ได้ต่อไปอีกระยะหนึ่งหรือตัดยอดไปเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำราก ยอดมักเปลี่ยนเป็นสีดำ โดยเริ่มเกิดสีดำจากบริเวณใกล้ปลายยอด จนกระทั่งยอดเปลี่ยนเป็นสีดำ และตายในที่สุด (ภาพที่ 7)

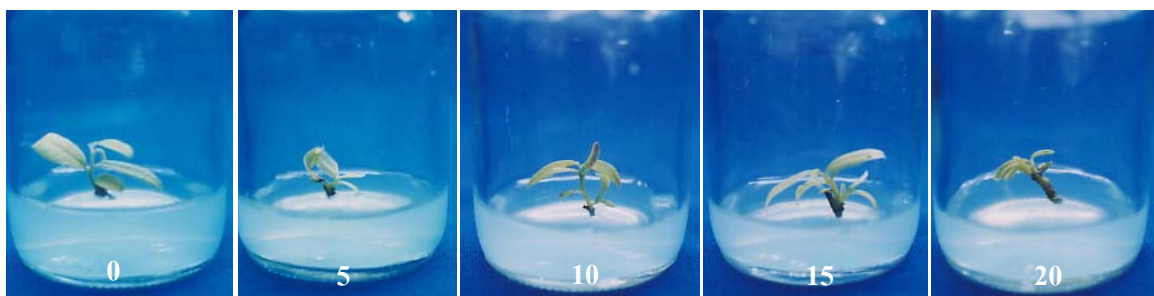
ตารางที่ 9 จำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนข้อของ ยอดหลัก
0	1.0 b ^{1/}	0.64 a ^{1/}	2.4 a ^{1/}
5	1.3 b	0.38 b	1.9 ab
10	1.8 a	0.45 b	2.4 a
15	2.1 a	0.37 b	2.2 ab
20	1.3 b	0.34 b	1.8 b
เฉลี่ย	1.5	0.44	2.1
CV (%)	41.1	51.2	40.2

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test



ภาพที่ 5 ลักษณะยอดของพีพวนน้อยที่มีการหลุดร่วงของใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม AgNO_3 นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์



ภาพที่ 6 ลักษณะยอดของพีพวนน้อย เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์



ภาพที่ 7 ลักษณะการเกิดสีดำ เมื่อเพาะเลี้ยงยอดที่ได้จากการชักนำต่อไปอีกระยะหนึ่ง โดยเริ่มเกิดสีดำจากบริเวณใกล้ปลายยอด (ศรชี้) จนกระทั่งยอดเปลี่ยนเป็นสีดำ และตายในที่สุด

4. การศึกษาผลของ GA₃ ต่อการยืดยาวของยอด

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO₃ ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ และเติม GA₃ ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของ GA₃ มีผลต่อความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก โดย GA₃ ที่ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดมีความยาวสูงสุด 1.37 เซนติเมตร และยอดหลักมีจำนวนข้อมากที่สุด 4.3 ข้อ ยอดที่ไม่ได้รับ GA₃ มีความยาวต่ำสุด 0.58 เซนติเมตร และยอดหลักมีจำนวนข้อน้อยที่สุด 2.7 ข้อ (ตารางที่ 10 ตารางผนวกที่ 11 และ 12) ยอดที่ได้รับ GA₃ มีความยาวและจำนวนข้อของยอดหลักมากกว่ายอดที่ไม่ได้รับ GA₃ อย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 8)

ตารางที่ 10 ความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO₃ ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ และเติม GA₃ ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ GA ₃ (ไมโครโมลาร์)	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนข้อของ ยอดหลัก
0	0.58 d ^{1/}	2.7 c ^{1/}
1	0.88 c	3.4 b
3	1.37 a	4.3 a
5	1.11 b	3.8 ab
เฉลี่ย	0.98	3.5
CV (%)	46.8	29.6

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test



ภาพที่ 8 ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอน เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ และเติม GA_3 ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

5. การศึกษาผลของ TDZ ในการชักนำให้ขึ้นส่วนข้อเกิดยอด

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์ พบว่า TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 5-20 ไมโครโมลาร์ ทำให้ชิ้นส่วนข้อมีการแตกยอดเพิ่มขึ้นแตกต่างจากชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม TDZ โดย TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดยอดได้สูงสุด 2.6 ยอด (ตารางที่ 11 ตารางผนวกที่ 13)

ในส่วนของความยาวยอด พบว่า TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดมีความยาวไม่แตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้น 5-15 ไมโครโมลาร์ แต่แตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 11 ตารางผนวกที่ 14) โดย TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 10 ไมโครโมลาร์ มีแนวโน้มทำให้ความยาวยอดสูงสุด ยอดมีความยาว 0.84 เซนติเมตร และเมื่อความเข้มข้นของ TDZ สูง 20 ไมโครโมลาร์ ความยาวยอดมีแนวโน้มลดลง

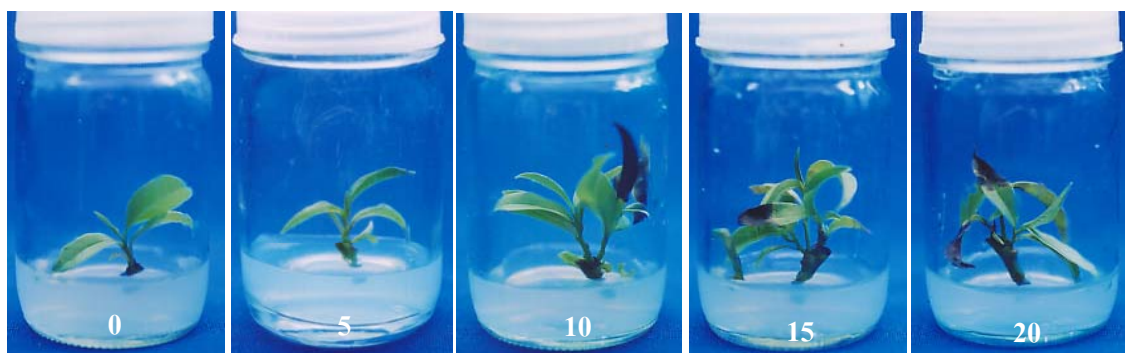
สำหรับจำนวนข้อของยอดหลัก พบว่า ความเข้มข้นของ TDZ ที่แตกต่างกันมีผลทำให้จำนวนข้อของยอดหลักแตกต่างกัน โดย TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดหลักเกิดข้อจำนวนมากที่สุด 4.1 ข้อ (ตารางที่ 11 ตารางผนวกที่ 15)

ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอนที่ได้จากการชักนำด้วย TDZ (ภาพที่ 9) มีความยาวยอดและจำนวนข้อของยอดหลักมากกว่ายอดที่ได้จากการชักนำด้วย BA (ภาพที่ 3) มีการเกิดข้อค่อนข้างถี่ และสังเกตพบว่าที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ มักเกิดสีด้าที่บริเวณปลายใบ

ตารางที่ 11 จำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนข้อของยอดหลัก เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO_3 ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ TDZ (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอด	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนข้อของ ยอดหลัก
0	1.0 c ^{1/}	0.84 a ^{1/}	2.7 c ^{1/}
5	1.8 b	0.76 ab	3.5 b
10	2.1 b	0.84 a	4.1 a
15	2.6 a	0.68 ab	3.7 ab
20	1.8 b	0.55 b	2.8 c
เฉลี่ย	1.9	0.73	3.4
CV (%)	36.8	56.8	36.6

^{1/} ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี least significant different test



ภาพที่ 9 ลักษณะยอดของกล้วยไ้พอน เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ AgNO₃ ความเข้มข้น 29.4 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร basal-MS นาน 4 สัปดาห์

6. การศึกษาผลของ IBA และ NAA ในการชักนำให้ยอดเกิดราก

6.1 ทดลองในสภาพปลอดเชื้อ

การชักนำให้ยอดของกล้วยไ้พอนและกล้วยหมุ้สั้เกิดรากด้วยวิธีการต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อ ยังไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ โดยภายหลังการชักนำรากด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ นาน 4 สัปดาห์ ไม่พบการเกิดราก แม้ว่าจะเพาะเลี้ยงต่อไปจนครบ 8 สัปดาห์ ก็ไม่พบการเกิดราก และพบว่าชิ้นส่วนยอดบางส่วนเริ่มเกิดสีด้าและตายในที่สุด

6.2 ทดลองในสภาพธรรมชาติ

การชักนำให้ยอดกล้วยไ้พอนเกิดรากที่ทดลองในสภาพธรรมชาติ พบว่าหลังจากนำยอดกล้วยไ้พอนจุ่มโคนยอดในสารละลายออกซิน ได้แก่ IBA และ NAA ความเข้มข้น 2,500-10,000 ไมโครโมลาร์ นาน 1-2 นาที แล้วนำไปย้ายปลูกในวัสดุผสมแกลบเผาและขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1 : 1 รดน้ำให้ชุ่ม ให้ความชื้นสูงในระยะแรก ๆ โดยคลุมด้วยถุงพลาสติกนาน 3 สัปดาห์ จากนั้นจึงค่อย ๆ เปิดปากถุงออก หลังย้ายปลูกนาน 35 วัน พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตสูง 60-100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12 ภาพที่ 10ก) และพบว่ามีเฉพาะ IBA ความเข้มข้น 8,000 ไมโครโมลาร์ เท่านั้นที่สามารถชักนำให้ยอดของกล้วยไ้พอนเกิดรากได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 20 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนราก 1 ราก ความยาว 1.4 เซนติเมตร (ตารางที่ 12 ภาพที่ 10ข) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเวลาการย้ายปลูกนานขึ้นยอดมีแนวโน้มเกิดรากได้เพิ่มขึ้น โดยหลังย้ายปลูกนาน 60 วัน พบการเกิดรากจากยอดที่กระตุ้นด้วย NAA ความเข้มข้น 8,000 ไมโครโมลาร์ และ IBA ความเข้มข้น 10,000 ไมโครโมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 20 เปอร์เซ็นต์และจำนวนราก 1 รากเท่ากัน รากมีความยาว 0.2 และ 0.6 เซนติเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเกิดราก จำนวนรากและความยาวรากของกล้วยไ้พอนเมื่อครบ 35 วันหลังย้ายปลูกและกระตุ้นให้เกิดรากในสภาพธรรมชาติ

ชนิดของ ออกซิน	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ระยะเวลา การแช่ (นาทึ)	การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	การเกิดราก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนราก	ความยาวราก (เซนติเมตร)
IBA	2,500	1	80	-	-	-
	5,000	1	80	-	-	-
	5,000	2	80	-	-	-
	8,000	2	100	20	1	1.4
	10,000	2	60	- ^{1/}	-	-
NAA	2,500	1	100	-	-	-
	5,000	1	80	-	-	-
	5,000	2	60	-	-	-
	8,000	2	100	- ^{1/}	-	-
	10,000	2	80	-	-	-

หมายเหตุ - หมายถึงไม่มีการเกิดรากเมื่อครบ 35 วัน

^{1/} เกิดรากเมื่อครบ 60 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 20 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 10 การชักนำให้ยอดกล้วยไ้พอนเกิดรากในสภาพธรรมชาติ

ก. ยอดกล้วยไ้พอนเมื่อครบ 35 วันหลังย้ายปลูกและกระตุ้นให้เกิดราก

ข. ยอดกล้วยไ้พอนสามารถเกิดรากได้ เมื่อจุ่มโคนยอดในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 8,000 ไมโครโมลาร์ นาน 2 นาทีก่อนย้ายปลูก

7. การศึกษาการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของชิ้นส่วนใบเมื่อกระตุ้นด้วย BA ร่วมกับ NAA

7.1 กล้วยไอ้พอน

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกล้วยไอ้พอนบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.50 และ 2.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 1-12 ตามตารางที่ 13) พบว่า ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 5-12 เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยลักษณะการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานที่เกิดขึ้นคือเกิดเป็นแคลลัส อาหารสูตรที่ 11 มีจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนการเกิดแคลลัส 2.0 คะแนน และอาหารสูตรที่ 10 มีจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสรองลงมา คือ 90 เปอร์เซ็นต์ แต่มีคะแนนการเกิดแคลลัสสูงสุด 2.4 คะแนน ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตรมีการปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร 100 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 6 7 และ 11 มีจำนวนชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชิ้นสูงสุด 40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 13 ภาพที่ 11)

ลักษณะแคลลัสที่เกิดบนชิ้นส่วนใบของกล้วยไอ้พอนมักเป็นชนิด friable callus ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 8 จะเกิดแคลลัสชนิด compact callus รวมอยู่ด้วย นอกจากนี้แคลลัสที่เกิดขึ้นในอาหารสูตรที่ 7 10 และ 12 จะมีลักษณะน้ำน้ำ (vitrification) เล็กน้อย (ตารางที่ 13)

7.2 พืพวนน้อย

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืพวนน้อยบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 1-12 ตามตารางที่ 14) พบว่า ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตรเกิดการเปลี่ยนแปลง อาหารสูตรที่ 4 10 และ 11 มีจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ โดยสูตรที่ 11 มีคะแนนการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงสูงสุด 2.6 คะแนน และพบว่า ลักษณะการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานที่เกิดขึ้นของชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 1 5 และ 9 คือ เกิดแคลลัสชนิด friable callus สีขาว ส่วนชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ เกิดโครงสร้างที่เป็นรูปกลม (nodule) บนแผ่นใบ 100 เปอร์เซ็นต์ การเพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตร ชิ้นส่วนใบมีการปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร 100 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 3 5 8 และ 9 มี

จำนวนการเปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชั้นสูงสุด 60 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 14 และ 15 ภาพที่ 12)

จากการติดตามการพัฒนาของ nodule พบว่า โครงสร้างที่เกิดขึ้นบนแผ่นใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA เพียงอย่างเดียว (อาหารสูตรที่ 2-4) มีแนวโน้มเกิดการพัฒนายอดได้สูง มีการขยายขนาด และยืดยาวขึ้นมากกว่าในอาหารสูตรอื่น ๆ แม้ว่าจำนวนโครงสร้างที่เกิดขึ้นน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA (ภาพที่ 12) และสามารถพบโครงสร้างชั้นที่ 2 (secondary structure) ซึ่งมีลักษณะคล้ายโซมาติกเอ็มบริโอ (somatic embryo like structure) ระยะ globular เกิดอยู่บน nodule (ภาพที่ 13) นอกจากนี้ยังพบว่า nodule ที่เกิดบนแผ่นใบสามารถพัฒนาต่อจนเกิดเป็นยอดได้ เมื่อย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ (ภาพที่ 14) ในระยะแรก nodule ที่เห็นมีลักษณะคล้ายโซมาติกเอ็มบริโอ ระยะ globular คือมีลักษณะกลม เกือบ ผิวมีความวาว และเปลี่ยนแปลงไปเป็นลักษณะคล้ายรูปหัวใจ แต่เมื่อติดตามดูการพัฒนาการจนกระทั่งขึ้นส่วนพัฒนาเป็นยอด พบว่า โครงสร้างดังกล่าวไม่ใช่โซมาติกเอ็มบริโอ เนื่องจากมีการพัฒนาเป็นยอดจากส่วนที่คล้าย cotyledon ทั้ง 2 ด้านของโครงสร้างรูปหัวใจนั้น (ภาพที่ 14)

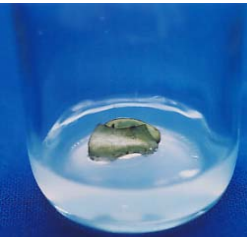
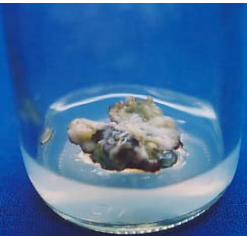
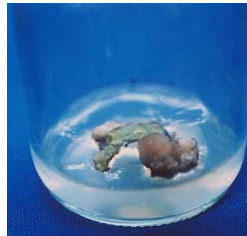
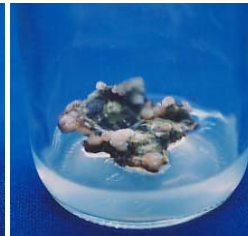
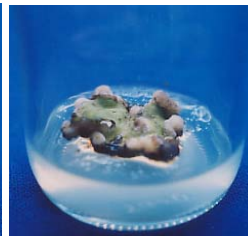
จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนใบที่พบน้อย โดยนำมาศึกษาลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) (ภาพที่ 15 และ 16) และศึกษาจากสไลด์ถาวรที่ทำด้วยวิธี paraffin technique ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเชิงประกอบ (compound microscope) (ภาพที่ 17 และ 18) เพื่อตรวจสอบการพัฒนาของโครงสร้างดังกล่าว พบว่า โครงสร้างที่เกิดขึ้นมี 2 ลักษณะ คือ nodule ที่มีการพัฒนาต่อไปเป็นยอดเพียงอย่างเดียวเนื่องจากพบการพัฒนาของท่อลำเลียงภายในโครงสร้างเชื่อมต่อกับท่อลำเลียงของชิ้นส่วนใบ ซึ่งเกิดโดยตรงจากชิ้นส่วนใบจัดเป็น direct organogenesis มักพบว่าเกิดการพัฒนาจากเนื้อเยื่อบริเวณใกล้ท่อลำเลียง (ภาพที่ 17) ซึ่งพบได้มากกว่าลักษณะที่ 2 คือ โซมาติกเอ็มบริโอที่เกิดโดยตรงจากชิ้นส่วนใบ (direct embryogenesis) เนื่องจากมีการเจริญของปมกำเนิดราก และมีท่อลำเลียงภายในโครงสร้างแยกจากชิ้นส่วนใบที่นำมาเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 18) มักพบว่าเกิดจากเนื้อเยื่อชั้นอีพิเดอร์มิสและชั้นได้อิพิเดอร์มิส โดยสามารถพบโครงสร้างทั้งสองแบบเกิดร่วมกันบนชิ้นส่วนใบชิ้นเดียวกัน

ตารางที่ 13 จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลง และคะแนนการเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน จำนวนชิ้นส่วนที่ปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร และจำนวนชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชิ้น เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกล้วยไผ่พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.50 และ 2.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ นาน 8 สัปดาห์

สูตรที่	NAA (ไมโครโมลาร์)	BA	จำนวนชิ้นส่วน ที่เกิดการ เปลี่ยนแปลง ^{1/} (เปอร์เซ็นต์)	คะแนนการ เกิดการ เปลี่ยนแปลง	ลักษณะ ^{2/}	จำนวนชิ้นส่วน ที่ปล่อย phenolic compounds (เปอร์เซ็นต์)	จำนวน ชิ้นส่วนที่ เปลี่ยนเป็น สีดำ (เปอร์เซ็นต์)
1	0	0	0	0.0	-	100	0
2		10	0	0.0	-	100	0
3		20	0	0.0	-	100	0
4		30	0	0.0	-	100	0
5	0.50	0	10	0.1	f	100	0
6		10	60	0.9	f	100	40
7		20	60	0.9	f, v	100	40
8		30	50	1.0	f, c	100	20
9	2.50	0	10	0.1	f	100	0
10		10	90	2.4	f, v	100	30
11		20	100	2.0	f	100	40
12		30	60	1.3	f, v	100	20
เฉลี่ย			36.7	0.7		100.0	15.8

หมายเหตุ ^{1/} การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานที่เกิดขึ้นคือเกิดเป็นแคลลัสเพียงอย่างเดียว

^{2/} f = friable callus c = compact callus v = vitrification

NAA (μ M)	BA (μ M)				
		0	10	20	30
0					
		สูตรที่ 1	2	3	4
0.50					
		สูตรที่ 5	6	7	8
2.50					
		สูตรที่ 9	10	11	12

ภาพที่ 11 การเกิดแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของกล้วยไ้พอนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.50 และ 2.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ (รวม 12 สูตร) นาน 8 สัปดาห์

ตารางที่ 14 จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลง และคะแนนการเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน จำนวนชิ้นส่วนที่เกิด nodule จำนวนชิ้นส่วนที่ปล่อย phenolic compounds ลงสู่อาหาร และจำนวนชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีดำเกินกว่าครึ่งหนึ่งของชิ้น เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืชบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์นาน 8 สัปดาห์

สูตรที่	NAA (ไมโครโมลาร์)	BA	จำนวนชิ้นส่วน ที่เกิดการ เปลี่ยนแปลง ^{1/} (เปอร์เซ็นต์)	คะแนนการ เกิดการ เปลี่ยนแปลง	จำนวน ชิ้นส่วนที่ เกิด nodule ^{2/} (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนชิ้นส่วน ที่ปล่อย phenolic compounds (เปอร์เซ็นต์)	จำนวน ชิ้นส่วนที่ เปลี่ยนเป็น สีดำ (เปอร์เซ็นต์)
1	0	0	40	0.4	0	100	40
2		10	40	0.6	100	100	40
3		20	60	1.0	100	100	60
4		30	100	1.6	100	100	40
5	0.25	0	20	0.2	0	100	60
6		10	80	1.4	100	100	40
7		20	60	1.0	100	100	40
8		30	60	0.8	100	100	60
9	0.50	0	20	0.2	0	100	60
10		10	100	2.2	100	100	40
11		20	100	2.6	100	100	40
12		30	80	1.6	100	100	40
เฉลี่ย			63.3	11.3	75.0	100.0	46.7

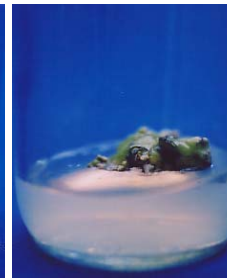
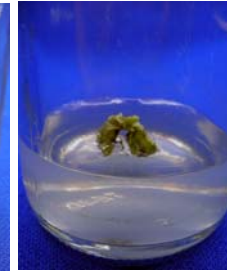
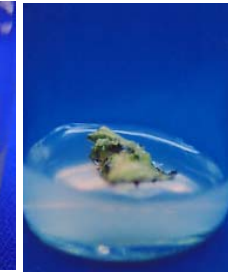
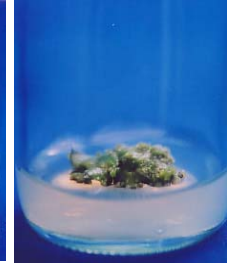
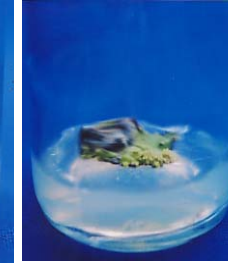
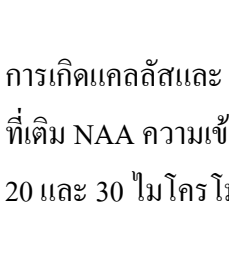
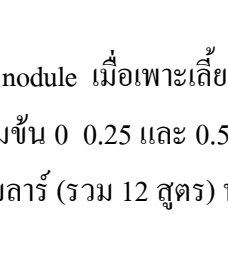
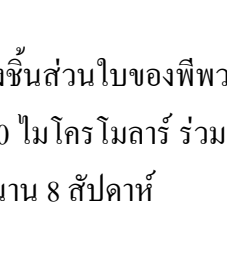
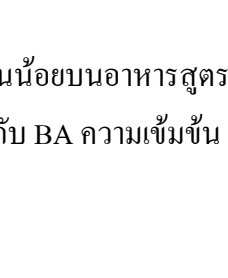
หมายเหตุ ^{1/} การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานที่เกิดขึ้นคือเกิดเป็นแคลลัส และ nodul

^{2/} nodule ที่เกิดขึ้นอาจพัฒนาเกิดเป็นยอดโดยตรง หรือเป็น โซมาติกอีมบริโอ ระยะ globular

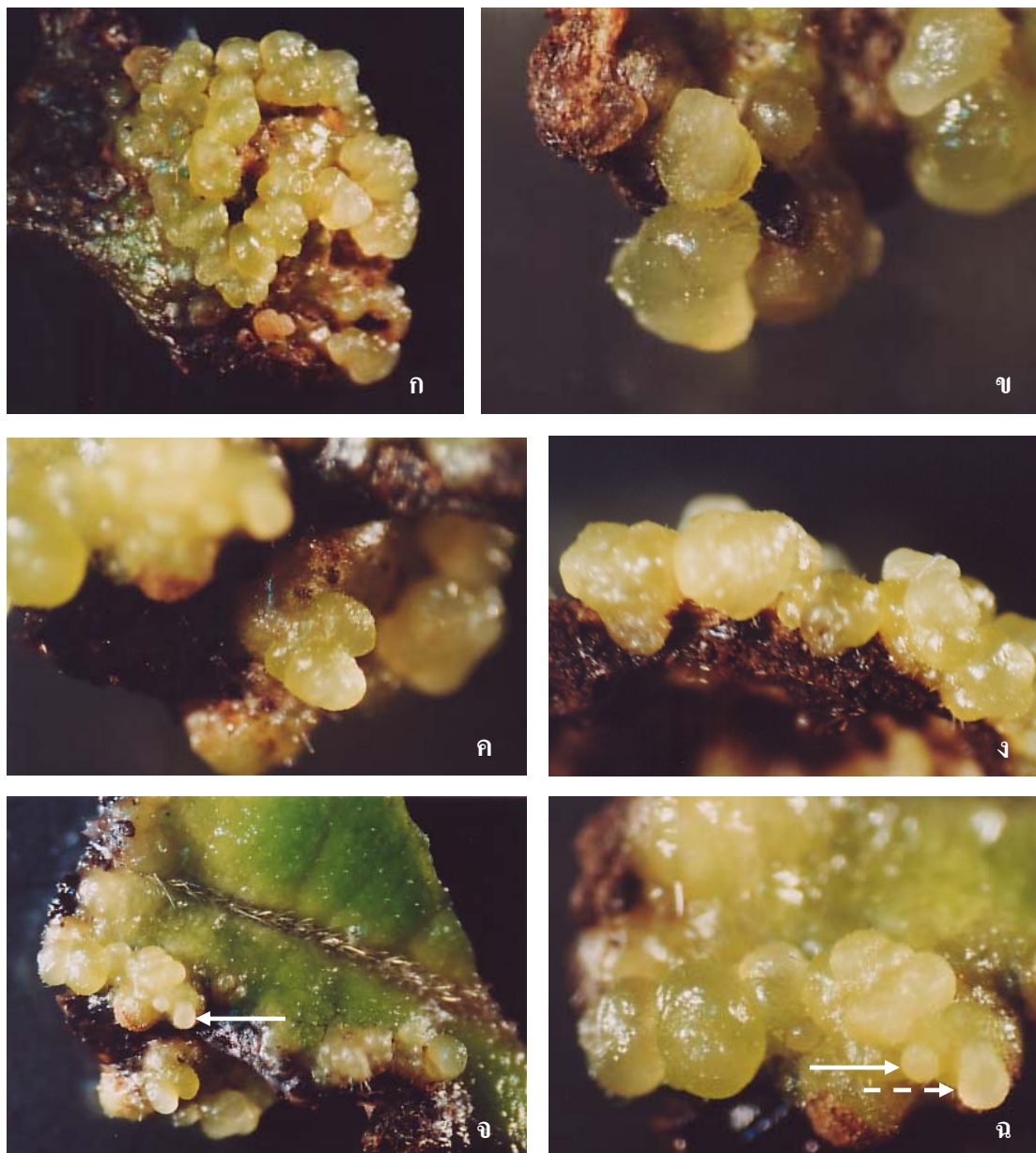
ตารางที่ 15 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนแผ่นใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพีพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ นาน 8 สัปดาห์

สูตรที่	NAA (ไมโครโมลาร์)	BA (ไมโครโมลาร์)	ลักษณะ
1	0	0	friable callus สีขาว มักเกิดที่เส้นกลางใบ บริเวณรอยตัด
2		10	เกิด nodule ประมาณ 1-10 อัน
3		20	เกิด nodule ประมาณ 10-15 อัน บางส่วนมีการขยายขนาดและยืดยาวขึ้นเล็กน้อย
4		30	เกิด nodule ประมาณ 25-30 อัน บางส่วนมีการขยายขนาดและยืดยาวขึ้นเล็กน้อย
5	0.25	0	friable callus สีขาว มักเกิดที่เส้นกลางใบ บริเวณรอยตัด
6		10	เกิด nodule ประมาณ 10-15 อัน
7		20	เกิด nodule ประมาณ 15-20 อัน
8		30	เกิด nodule ประมาณ 25-35 อัน
9	0.50	0	friable callus สีขาว มักเกิดที่เส้นกลางใบบริเวณรอยตัด
10		10	เกิด nodule ประมาณ 50-70 อัน
11		20	เกิด nodule ประมาณ 50-100 อัน
12		30	เกิด nodule ประมาณ 50 อัน

หมายเหตุ nodule ที่เกิดขึ้นอาจพัฒนาเกิดเป็นยอดโดยตรง หรือเป็น โซมาติกเอ็มบริโอ ระยะ globular

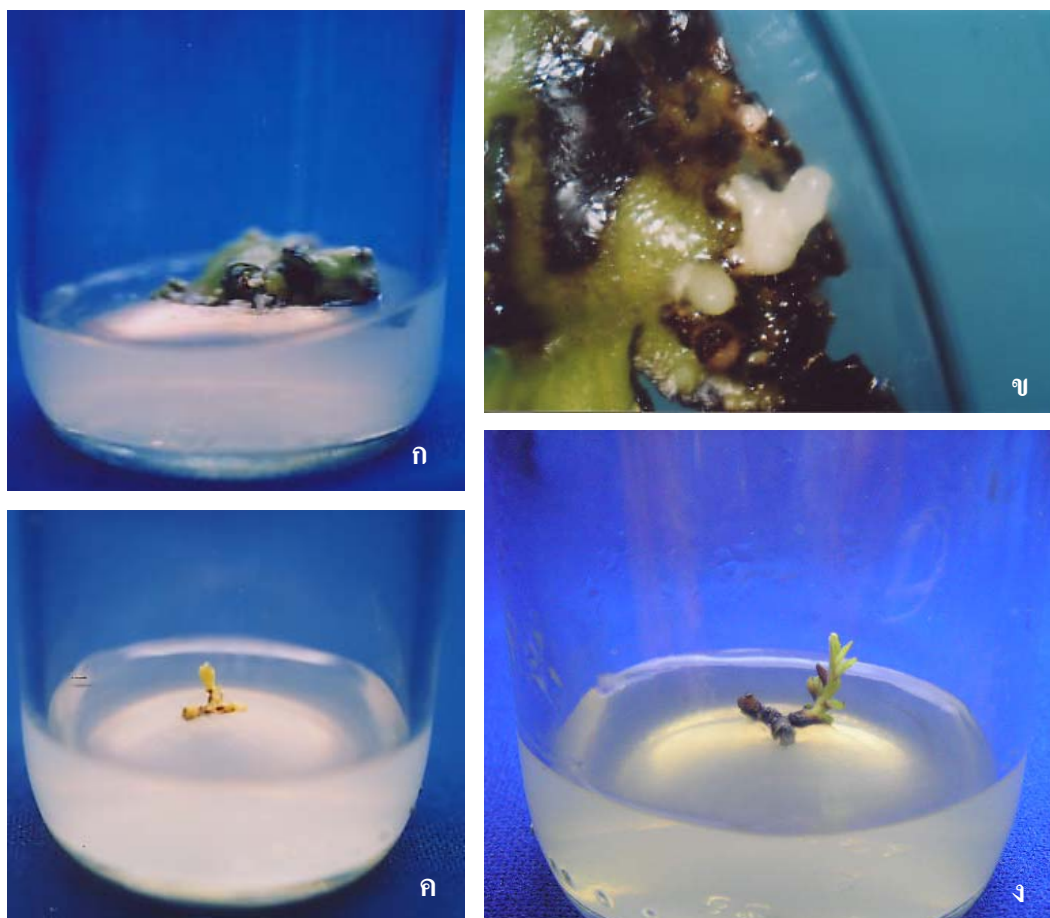
BA (μ M)	NAA (μ M)				
		0	10	20	30
0					
		สูตรที่ 1	2	3	4
					
		สูตรที่ 5	6	7	8
0.25					
		สูตรที่ 9	10	11	12
0.50					

ภาพที่ 12 การเกิดแคลลัสและ nodule เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืชบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.50 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ (รวม 12 สูตร) นาน 8 สัปดาห์



ภาพที่ 13 ลักษณะของ nodule ที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืชบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 4) นาน 8 สัปดาห์

- ก.-ง. ลักษณะของ nodule ที่เกิดขึ้นที่อาจพัฒนาเป็นยอด หรือเป็นไซมาติกเอ็มบริโอ, ภาพ ก. กำลังขยาย $\times 0.8$, ภาพ ข.-ง. กำลังขยาย $\times 2.5$
- จ. โครงสร้างชั้นที่ 2 (secondary structure) ที่เกิดอยู่บน nodule (สรชี้)
- ฉ. ขยายภาพ จ. แสดงโครงสร้างชั้นที่ 2 ที่มีลักษณะคล้ายไซมาติกเอ็มบริโอระยะ globular ($\longrightarrow$) และ late globular ($- \longrightarrow$), ภาพ จ. กำลังขยาย $\times 1.2$, ภาพ ฉ. กำลังขยาย $\times 1.5$

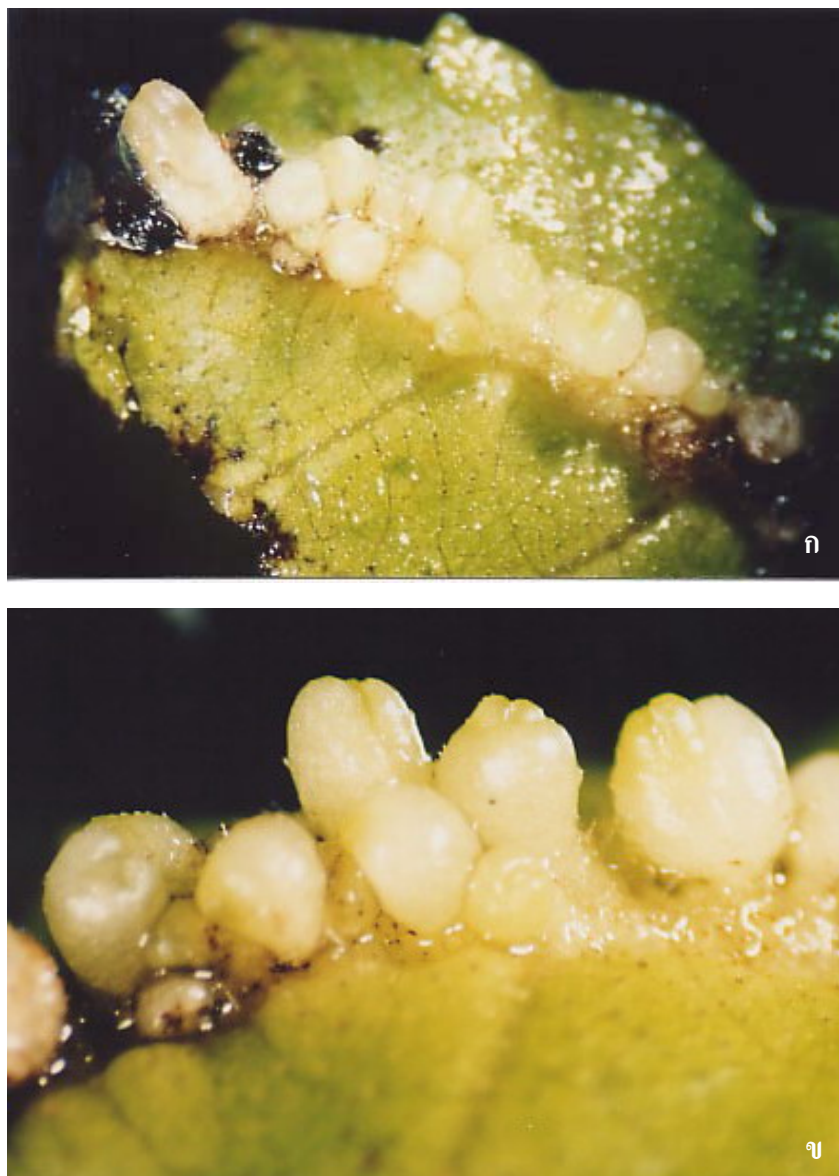


ภาพที่ 14 การพัฒนาของ nodule เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืชบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 3) นาน 8 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ก.-ข. ระยะเวลา 2 สัปดาห์ nodule มีการพัฒนาจนมีลักษณะคล้ายรูปหัวใจ, ภาพ ข. ขยาย

ภาพ ก. เฉพาะส่วนโครงสร้างคล้ายรูปหัวใจ, กำลังขยาย $\times 0.67$

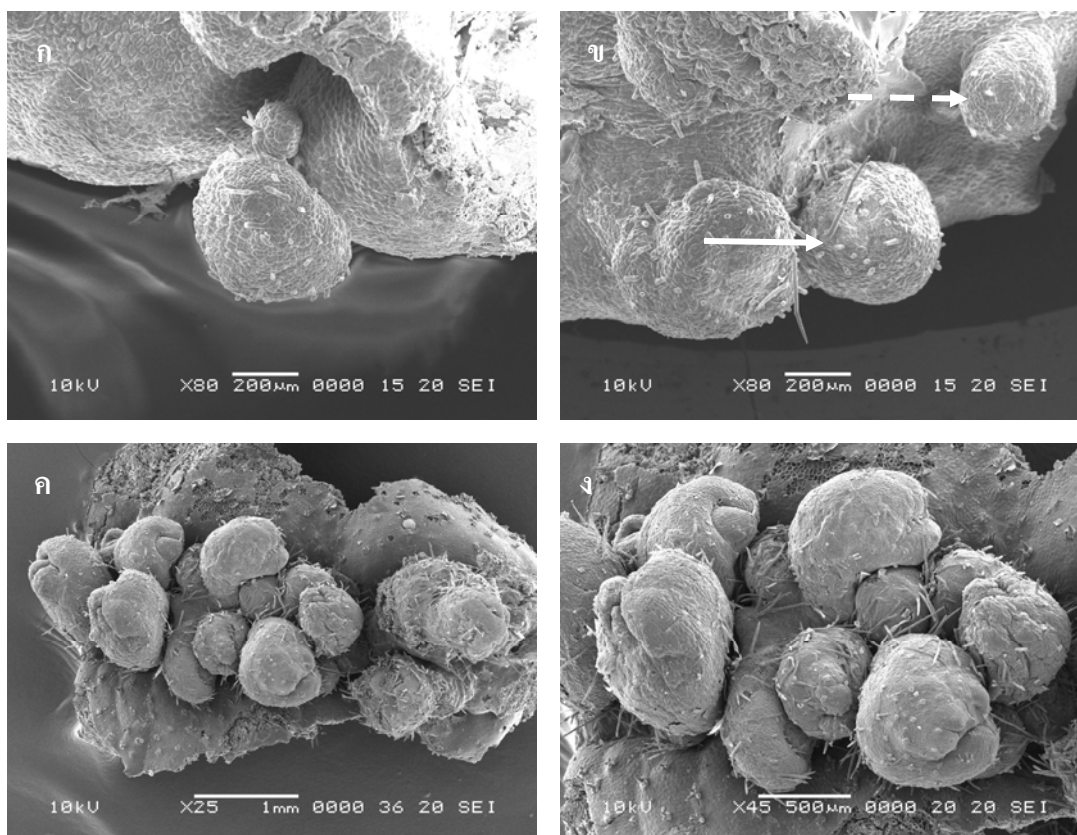
ค.-ง. ระยะเวลา 8 (ค.) และ 12 (ง.) สัปดาห์ nodule พัฒนาเป็นยอดขนาดเล็ก



ภาพที่ 15 การพัฒนาของ nodule ที่เกิดบนแผ่นใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพืชบนอาหาร
สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน 12 สัปดาห์

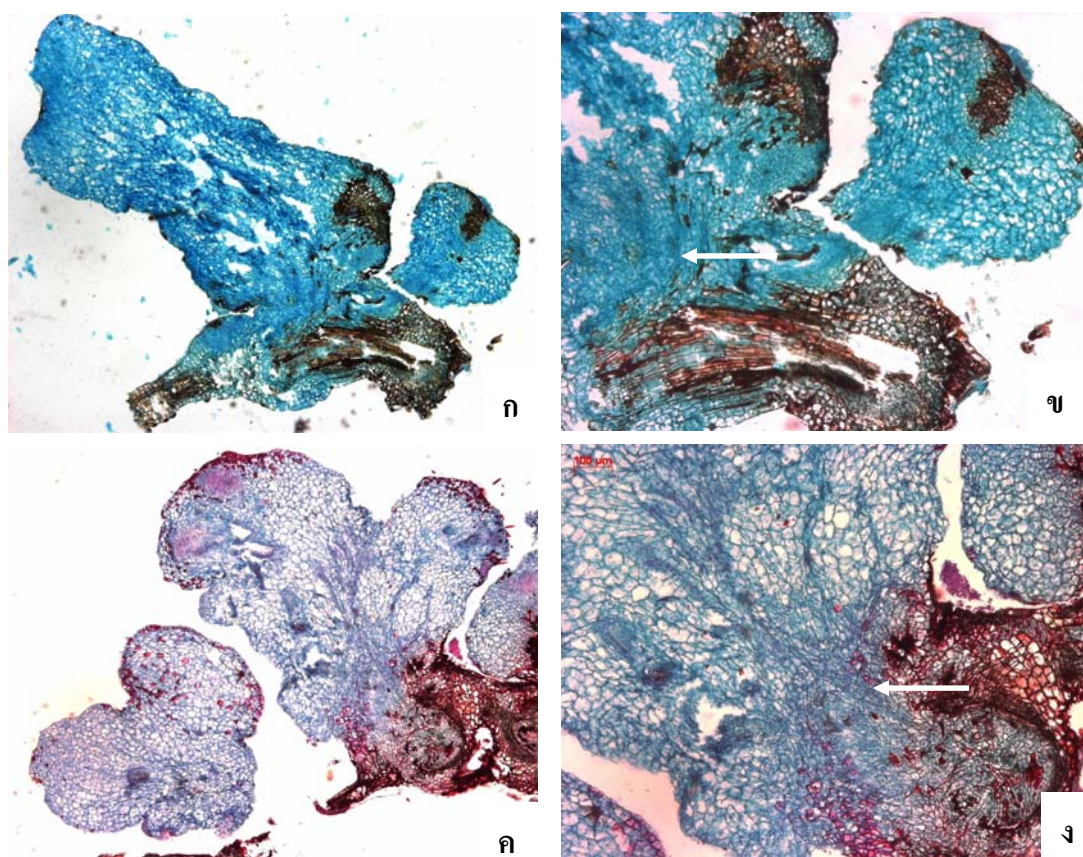
ก. ลักษณะการพัฒนาของ nodule ที่เกิดบนแผ่นใบ, กำลังขยาย $\times 0.67$

ข. ขยายภาพ ก, กำลังขยาย $\times 1.9$



ภาพที่ 16 การพัฒนาของ nodule ที่เกิดบนแผ่นใบ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพืชบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน 12 สัปดาห์ ถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

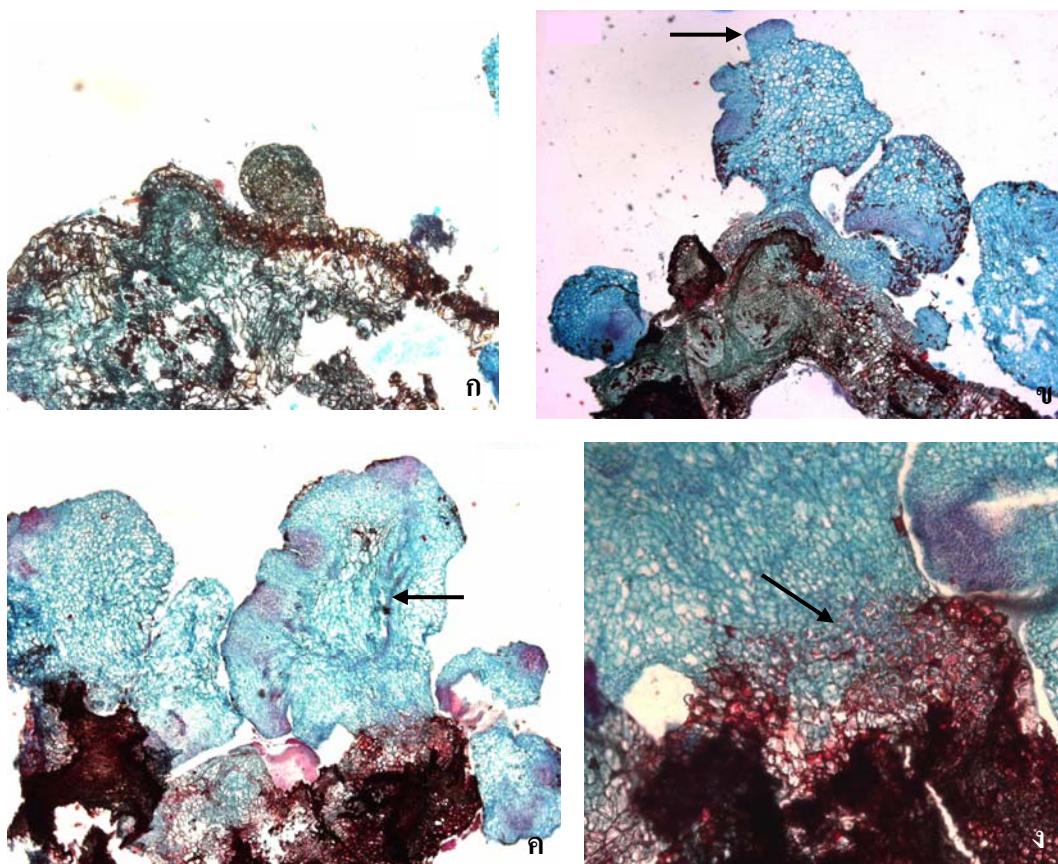
- ก. โชมatickเอ็มบริโอ ระยะ globular stage
- ข. โชมatickเอ็มบริโอ ระยะ globular stage (—→) และ nodule (- - →)
- ค.-ง. ลักษณะการพัฒนาของโครงสร้างรูปกลมที่เกิดบนแผ่นใบ



ภาพที่ 17 กระบวนการเกิดอวัยวะโดยตรงจากชิ้นส่วนใบ (direct organogenesis) เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบฟิพวนน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน 8 สัปดาห์ ตัดชิ้นส่วนตามขวางแสดงโครงสร้างภายในได้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเชิงประกอบ

ก. และ ค. ยอดขนาดเล็กที่พัฒนาจาก nodule มีท่อลำเลียงเชื่อมต่อกับท่อลำเลียงของชิ้นส่วนใบ, กำลังขยาย $\times 5$

ข. และ ง. ขยายภาพ ก. และ ค. แสดงให้เห็นการเชื่อมต่อของท่อลำเลียงของยอดที่พัฒนาจาก nodule กับของชิ้นส่วนใบ (ศรีชัย), กำลังขยาย $\times 10$



ภาพที่ 18 กระบวนการเกิดโซมาติกเอมบริโอ (embryogenesis) เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพิพวน
 น้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (อาหารสูตรที่ 2) นาน
 8 สัปดาห์ ตัดชิ้นส่วนตามขวางแสดงโครงสร้างภายในได้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเชิงประกอบ

- ก. โซมาติกเอมบริโอระยะ globular ที่เกิดจากเซลล์ชั้นอพิเคอร์มิส, กำลังขยาย $\times 10$
- ข. โซมาติกเอมบริโอขั้นที่ 2 (secondary somatic embryogenesis) (สรชี) เกิดบนโซมาติก
 เอมบริโอขั้นที่ 1 (primary somatic embryogenesis), กำลังขยาย $\times 5$
- ค. โซมาติกเอมบริโอที่มีการพัฒนาของท่อลำเลียงแล้ว (สรชี), กำลังขยาย $\times 5$
- ง. ขยายภาพ ค. แสดงปุ่มกำเนิดราก (root primordia) ของโซมาติกเอมบริโอ (สรชี),
 กำลังขยาย $\times 10$