

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### การทดลองที่ 1 ศึกษาเทคนิคในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาจากเหง้าขมิ้นชัน

จากการนำชิ้นส่วนตาจากเหง้าขมิ้นชันขนาดประมาณ 1 ซม. โดยนำเนื้อเยื่อไปแช่น้ำยาฆ่าเชื้อรา คาเบนดาซิม 0.2% เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปแช่ใน  $HgCl_2$  ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที รวม 9 ชุดการทดลอง จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วจึงนำไปจุ่มใน กรดซิดริก ความเข้มข้น 0.01% เป็นเวลา 5 นาที สุดท้ายนำไปเลี้ยงบนอาหารวุ้น MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย  $HgCl_2$  ความเข้มข้น 1.0% เป็นเวลา 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด 10% รองลงมาคือชุดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย  $HgCl_2$  ความเข้มข้น 1.0% เป็นเวลา 10 และ 5 นาที โดยมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเท่ากับ 15 และ 18 % ตามลำดับ ดังตาราง 4.1 แต่เมื่อดูเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อ พบว่าชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย  $HgCl_2$  ความเข้มข้น 1.0% เป็นเวลา 5 นาที มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อสูงที่สุดคือ 80% รองลงมาคือชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย  $HgCl_2$  ความเข้มข้น 1.0% เป็นเวลา 10 และ 5 นาที โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อสูง 67 และ 65% ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย  $HgCl_2$  ความเข้มข้น 0.5% เนื้อเยื่อเกิดการปนเปื้อนจนตายทั้งหมด และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย  $HgCl_2$  ความเข้มข้น 3.0% (ตาราง 4.2) เนื้อเยื่อทั้งหมดมีลักษณะไหม้กลายเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด (ภาพ 4.1) ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อแล้วพบว่าชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย  $HgCl_2$  ความเข้มข้น 1.0% เป็นเวลา 5 นาที จะมีความเหมาะสมในการใช้ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาจากเหง้าของขมิ้นชันมากที่สุด เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเพียง 18 % และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุดคือ 80 % จึงเป็นชุดที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

ตาราง 4.1 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนจากเหง้าขมิ้นชัน ภายหลังจากฟอกฆ่าเชื้อโดย HgCl<sub>2</sub> ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที เป็นเวลา 4 สัปดาห์

HgCl <sub>2</sub> (%)	เวลา (นาที)		
	5	10	15
0.5	100	97	92
1.0	18	15	10
3.0	0	0	0

ตาราง 4.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนจากเหง้าขมิ้นชัน ภายหลังจากฟอกฆ่าเชื้อโดย HgCl<sub>2</sub> ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที เป็นเวลา 4 สัปดาห์

HgCl <sub>2</sub> (%)	เวลา (นาที)		
	5	10	15
0.5	0	0	0
1.0	80	67	65
3.0	0	0	0

ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อใน HgCl<sub>2</sub> ความเข้มข้น 1.0% เป็นเวลา 5 นาที พบว่ามี เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเพียง 18 % และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุดคือ 80 % จึงเป็นชุดที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพ 4.1 ลักษณะของเนื้อเยื่อที่ตายที่มีลักษณะไหม้คายนภายหลังการฟอกฆ่าเชื้อด้วย  $HgCl_2$

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช BA (6-benzyl adenine) และ NAA (Naphthaleneacetic acid) ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนตาขมื่นชัน

จากการนำชิ้นส่วนตา ขนาดประมาณ 1 ซม. ฟอกฆ่าเชื้อใน  $HgCl_2$  ความเข้มข้น 1.0% เป็นเวลา 5 นาที (จากการทดลองที่ 1) แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารรุ่น MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2 และ 3 mg/l ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 mg/l รวม 25 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 18 ชิ้น แล้วนำไปเลี้ยงที่ อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และได้รับแสง 2,000-3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าทุกชุดการทดลองสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ในชุดการทดลอง ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/l สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยได้มากที่สุด คือ 9.7 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ความสูงของยอดเฉลี่ยสูงสุด คือ 6.2 ซม. และมีการเกิดราก 73.2% (ตาราง 4.3) (ภาพ 4.2) และเกิดแคลลัสบริเวณ โคนเนื้อเยื่อด้วย (ภาพ 4.3)

ชุดการทดลองที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยได้ต่ำที่สุด คือ 1.0 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ความสูงของยอดเฉลี่ย 3.0 ซม. แต่มีการเกิดรากได้ถึง 100% (ตาราง 4.3) จากตารางที่ 4.3 จะพบว่าในชุดที่มีการเติม BA ความเข้มข้นมากจะสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าชุดที่มี BA ความเข้มข้นน้อย และชุดที่เติม NAA

ส่วนในชุดการทดลองที่มีการเติม NAA ความเข้มข้นสูงจะสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าชุดที่มีความเข้มข้นของ NAA น้อยกว่า และในชุดที่เติม BA

ตาราง 4.3 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ย/ชิ้นเนื้อเยื่อ ความสูงของยอดเฉลี่ย และ เปอร์เซ็นต์การ เกิดราก ของชิ้นส่วนดาขมึนชั้นที่ไปเลี้ยงบนอาหารรุ่น MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2 และ 3 mg/l ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 mg/l เป็นเวลา 6 สัปดาห์

BA (mg/l)	NAA (mg/l)	%การเกิดยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย/ชิ้นเนื้อเยื่อ	ความสูงของยอดเฉลี่ย (ซม)	%การเกิดราก
0	0	100	1.6	3.5	20.4
0.5	0	100	3.5	3.8	35.3
1.0	0	100	6.2	5.8	52.2
2.0	0	100	9.7	6.2	73.2
3.0	0	100	6.1	4.1	36.1
0	0.1	100	1.4	3.4	38.7
0.5	0.1	100	2.3	3.5	35.3
1.0	0.1	100	5.5	3.7	39.5
2.0	0.1	100	6.5	5.0	54.3
3.0	0.1	100	4.6	4.3	42.6
0	0.2	100	1.3	3.3	93.5
0.5	0.2	100	1.5	3.5	82.7
1.0	0.2	100	6.4	4.5	73.3
2.0	0.2	100	6.9	6.1	72.8
3.0	0.2	100	4.1	4.4	65.4
0	0.5	100	1.1	3.3	100
0.5	0.5	100	1.2	3.1	100
1.0	0.5	100	6.3	4.2	100
2.0	0.5	100	5.3	5.1	100
3.0	0.5	100	3.5	3.6	100
0	1.0	100	1.0	3.0	100

0.5	1.0	100	1.0	2.8	100
1.0	1.0	100	6.3	5.4	100
2.0	1.0	100	5.4	4.4	100
3.0	1.0	100	2.7	3.2	100



ภาพ 4.2 ลักษณะต้นอ่อนขมิ้นชันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหาร รุ้น MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 mg/l



ภาพ 4.3 ลักษณะผลผลิตบริเวณ โคนของต้นอ่อนขมิ้นชันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหาร รุ้น MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/l

### การทดลองที่ 3 การศึกษาอัตราการรอดชีวิตภายหลังการย้ายดินอ่อนขมึนชั้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูก

จากการนำดินอ่อนขมึนชั้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากการทดลองที่ 2 อายุ 6 สัปดาห์ มาละลายฟากเกลียวทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วเปิดผ้าทิ้งไว้อีก 24 ชม แล้วแช่ดินอ่อนในน้ำยาฆ่าเชื้อราคาเบนดาซิม 0.2% เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นปลูกดินอ่อนในถาดหลุม โดยใช้วัสดุปลูกคือ ทรายหยาบ: ขุยมะพร้าว: ด่านกลบ อัตราส่วน 1:1:1 ซึ่งวัสดุปลูกดังกล่าวได้ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว รดน้ำให้ชุ่มแล้วคลุมถาดหลุมที่ปลูกดินอ่อนขมึนด้วยถุงพลาสติกใส (ภาพ 4.4) แล้วฉีดพ่นละอองน้ำก่อนปิดปากถุงพลาสติก นำไปวางในสภาพที่มีแสงปานกลางเป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยภายใน 3 สัปดาห์นี้ควรมีการเปิดปากถุงเพื่อฉีดพ่นละอองน้ำบ้าง เมื่อครบ 3 สัปดาห์ นำถุงพลาสติกใสที่คลุมดินอ่อนออก แล้วนำดินอ่อนไปไว้ในเรือนเพาะชำ รดน้ำทุกวัน วันละ 1 ครั้ง พบว่าในสัปดาห์แรกๆ หลังจากการนำดินอ่อนขมึนชั้นออกปลูกในเรือนเพาะชำ ดินอ่อนมีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า (ตาราง 4.4) ส่วนของใบและลำต้นยังไม่ค่อยแข็งแรง มีสีเขียวอ่อนปนเหลือง ใบมีลักษณะนุ่มบอบบาง ไม่มีความมัน (ภาพ 4.5) แต่ในสัปดาห์ที่ 2 เป็นต้นมา ใบจะมีลักษณะยาวเรียว ใหญ่มากขึ้นสีเขียวจะเข้มขึ้น ลำต้นมีลักษณะอืดยาว และหนาขึ้น ฐานค่อนข้างแข็งแรง และในสัปดาห์ที่ 8 ใบจะกลายเป็นสีเขียวเข้มมีความมันวาว ลำต้นแข็งแรง (ภาพ 4.6 และ 4.7) และดินอ่อนขมึนชั้นเมื่ออัตราการรอดชีวิตภายหลังการย้ายออกปลูก 100%

ตาราง 4.4 ความสูงของต้นเฉลี่ย และจำนวนใบ ของดินอ่อนขมึนชั้น ภายหลังการย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1-8

สัปดาห์ที่ออกปลูก	ความสูงของต้นเฉลี่ย (ซม)	จำนวนใบ (ใบ)
1	8.52	3.22
2	10.10	4.43
3	14.03	5.91
4	14.87	6.20
5	16.23	7.01
6	18.40	7.12
7	20.01	7.30
8	20.69	8.70