บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การผสมข้ามสกุลระหว่างว่านนางคุ้มกับไม้ดอกประเภทหัวสี่สกุล

การทดลองนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย

1.1 รูปแบบไอโซไซม์ของพืชทดลองโดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส

การศึกษานี้มีจุดประสงค์ที่จะศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ชนิดต่าง ๆ ที่เป็นเอกลักษณ์ของพืชทดลองแต่ละชนิด เพื่อใช้เป็นมาตรฐานการเปรียบเทียบรูปแบบแถบสี

เอนไซม์ที่ทำการศึกษาเพื่อหารูปแบบไอโซไซม์ในการทดลองนี้ คือ alcohol dehydrogenase (ADH), aldolase (ALD), diaphorase (DIA), esterase (EST), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) และ malate dehydrogenase (MDH) โดยใช้ใบอ่อนกับเทคนิค polyacrylamide gel electrophoresis

ผลการทดลองมีดังนี้

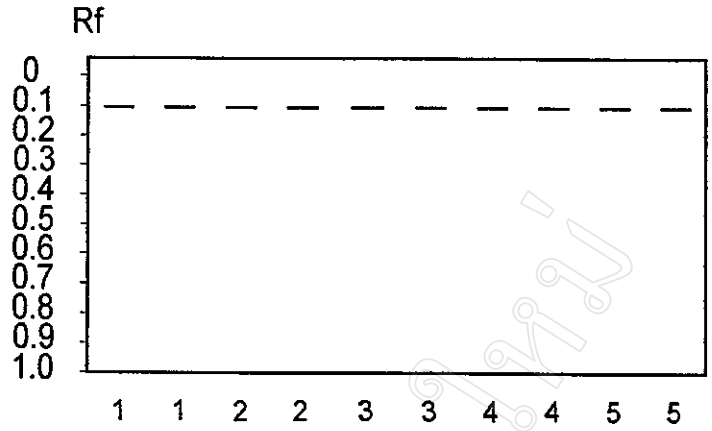
1.1.1 รูปแบบของไอโซไซม์จากใบอ่อนของว่านนางคุ้ม

1.1.1.1 รูปแบบไอโซไซม์ ADH

เอนไซม์ ADH ไม่ปรากฏแถบสี จึงไม่ได้แสดงภาพและภาพผนวก

1.1.1.2 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD

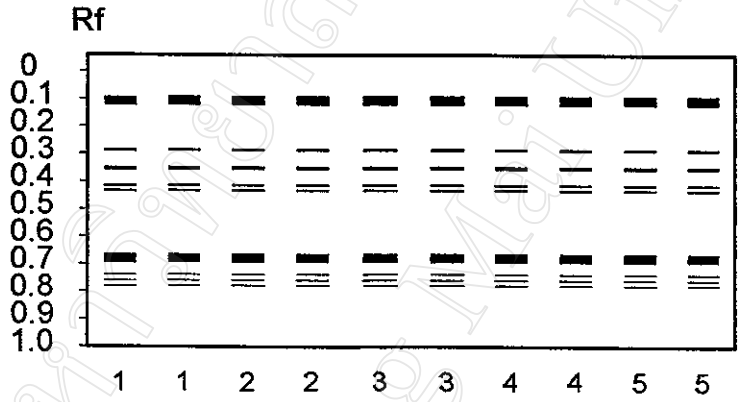
เอนไซม์ ALD ให้แถบสีที่ปรากฏ 1 แถบ บริเวณตอนบนของเจล ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์เท่ากับ 0.11 (ภาพ 11 และภาพผนวก 1)



ภาพ 11 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านนางคุ้ม

1.1.1.3 รูปแบบของไอโซไซม์ EST

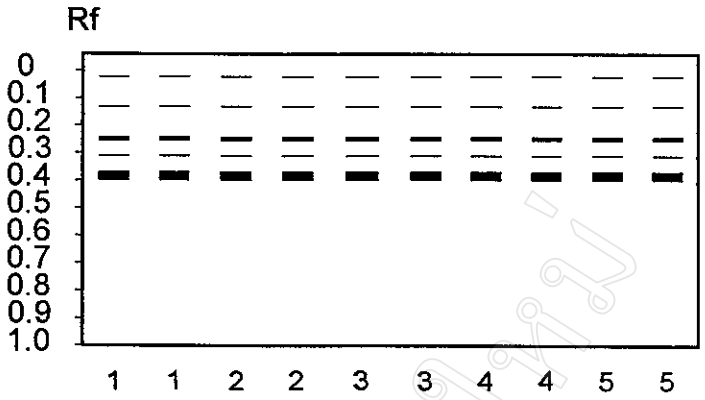
เอนไซม์ EST ให้แถบสีที่ปรากฏ 9 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์เท่ากับ 0.10, 0.28, 0.35, 0.41, 0.43, 0.68, 0.74, 0.76 และ 0.78 (ภาพ 12 และภาพผนวก 1)



ภาพ 12 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านนางคุ้ม

1.1.1.4 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA

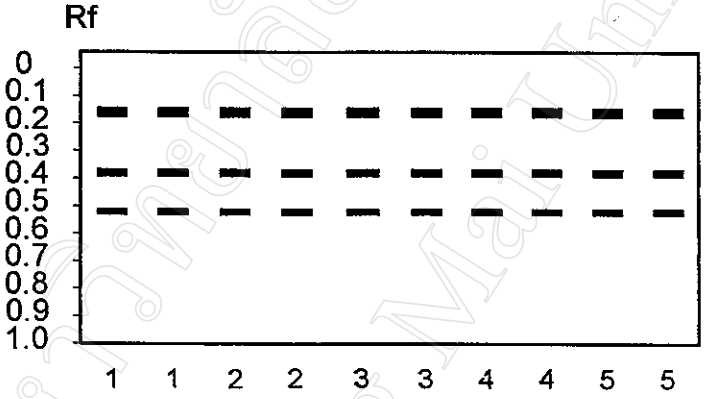
เอนไซม์ DIA ให้แถบสีที่ปรากฏ 5 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์เท่ากับ 0.04, 0.13, 0.24, 0.31 และ 0.39 (ภาพ 13 และภาพผนวก 1)



ภาพ 13 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านนางคุ้ม

1.1.1.5 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT

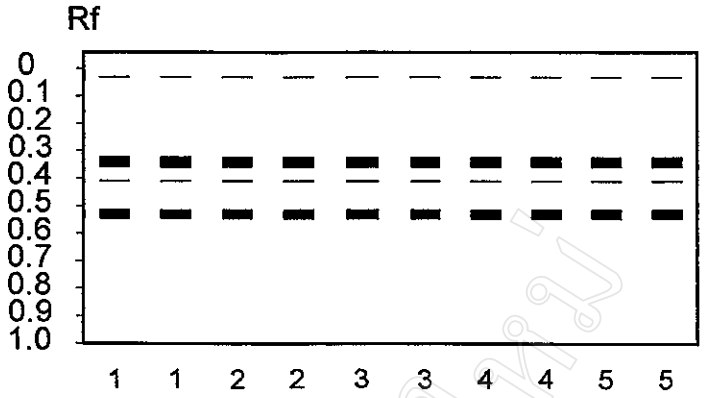
เอนไซม์ GOT ให้แถบสีที่ปรากฏ 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์เท่ากับ 0.16, 0.38 และ 0.52 (ภาพ 14 และภาพผนวก 1)



ภาพ 14 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านนางคุ้ม

1.1.1.6 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH

เอนไซม์ MDH ให้แถบสีที่ปรากฏ 4 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์เท่ากับ 0.03, 0.34, 0.41 และ 0.53 (ภาพ 15 และภาพผนวก 1)



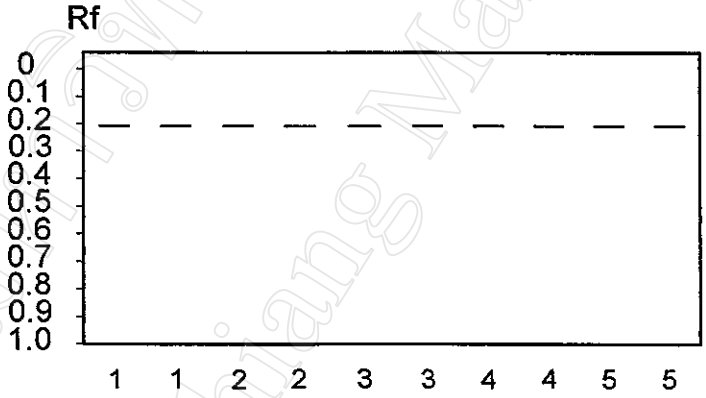
ภาพ 15 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านนางคุ้ม

1.1.2 รูปแบบของไอโซไซม์จากใบอ่อนของว่านมหาลาภ

1.1.2.1 เอนไซม์ ADH ไม่ปรากฏแถบสี จึงไม่ได้แสดงภาพและภาพผนวก

1.1.2.2 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD

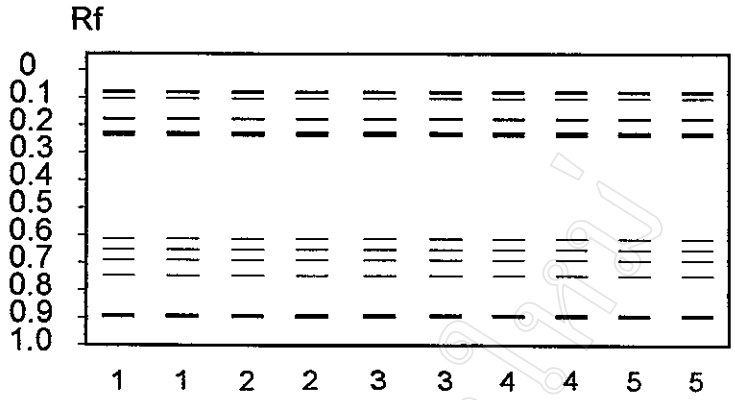
เอนไซม์ ALD ให้แถบสีที่ปรากฏ 1 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.21 (ภาพ 16 และภาพผนวก 2)



ภาพ 16 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านมหาลาภ

1.1.2.3 รูปแบบของไอโซไซม์ EST

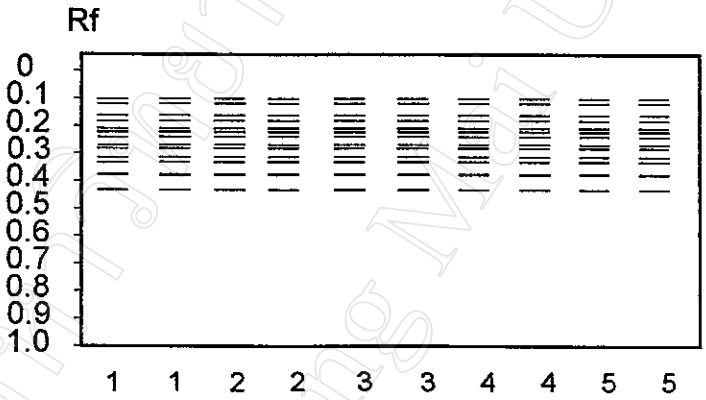
เอนไซม์ EST ให้แถบสีที่ปรากฏ 9 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.08, 0.10, 0.18, 0.23, 0.62, 0.65, 0.69, 0.74 และ 0.89 (ภาพ 17 และภาพผนวก 2)



ภาพ 17 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านมหาลาภ

1.1.2.4 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA

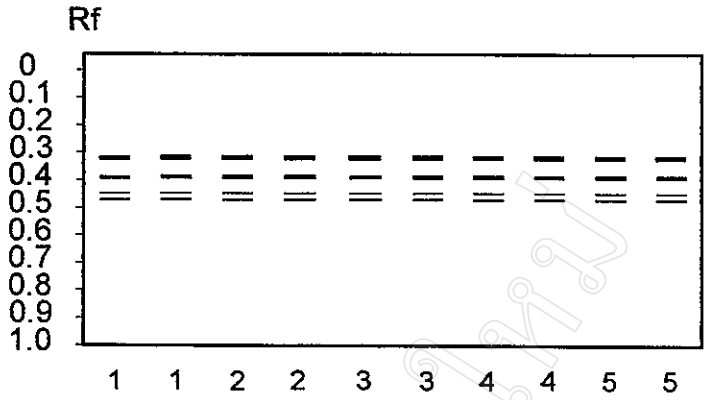
เอนไซม์ DIA ให้แถบสีที่ปรากฏ 13 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.10, 0.12, 0.16, 0.18, 0.22, 0.23, 0.25, 0.27, 0.28, 0.31, 0.35, 0.37 และ 0.43 (ภาพ 18 และภาพผนวก 2)



ภาพ 18 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านมหาลาภ

1.1.2.5 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT

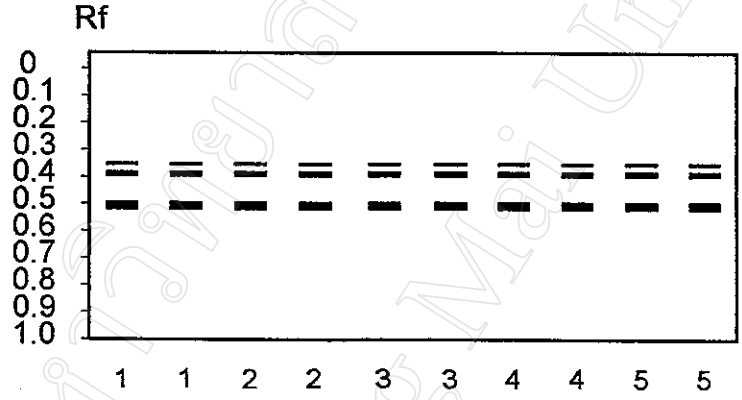
เอนไซม์ GOT ให้แถบสีที่ปรากฏ 4 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.33, 0.39, 0.44 และ 0.47 (ภาพ 19 และภาพผนวก 2)



ภาพ 19 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านมหาลาภ

1.1.2.6 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH

เอนไซม์ MDH ให้แถบสีที่ปรากฏ 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.35, 0.38 และ 0.51 (ภาพ 20 และภาพผนวก 2)

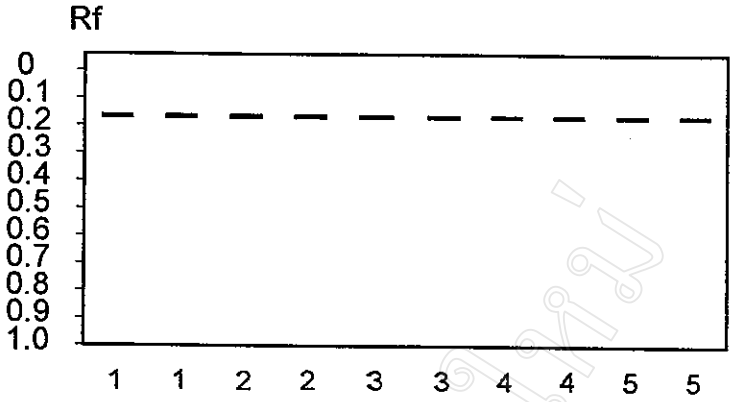


ภาพ 20 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านมหาลาภ

1.1.3 รูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนของว่านแสงอาทิตย์

1.1.3.1 รูปแบบของไอโซไซม์ ADH

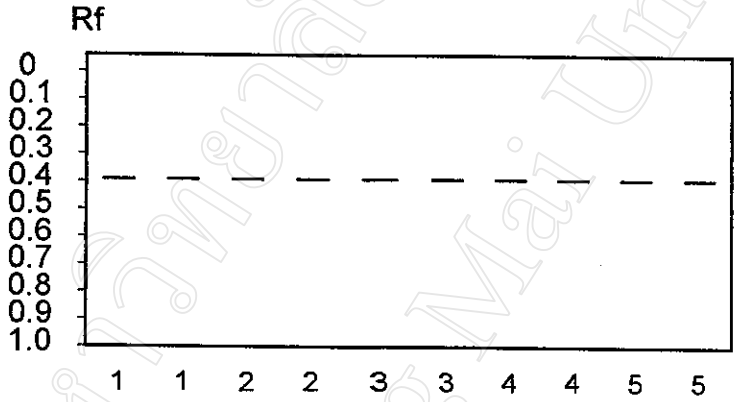
เอนไซม์ ADH ให้แถบสีที่ปรากฏ 1 แถบ บริเวณตอนบนของเจล ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.17 (ภาพ 21 และภาพผนวก 3)



ภาพ 21 รูปแบบของไอโซไซม์ ADH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านแสงอาทิตย์

1.1.3.2 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD

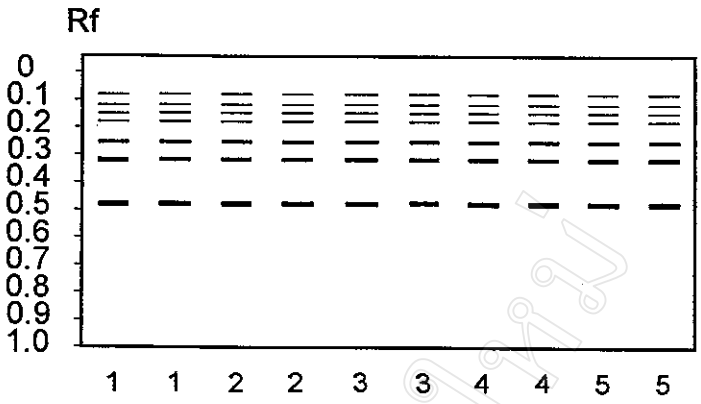
เอนไซม์ ALD ให้แถบสีที่ปรากฏ 1 แถบ บริเวณตอนกลางของเจล ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.39 (ภาพ 22 และภาพผนวก 3)



ภาพ 22 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านแสงอาทิตย์

1.1.3.3 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA

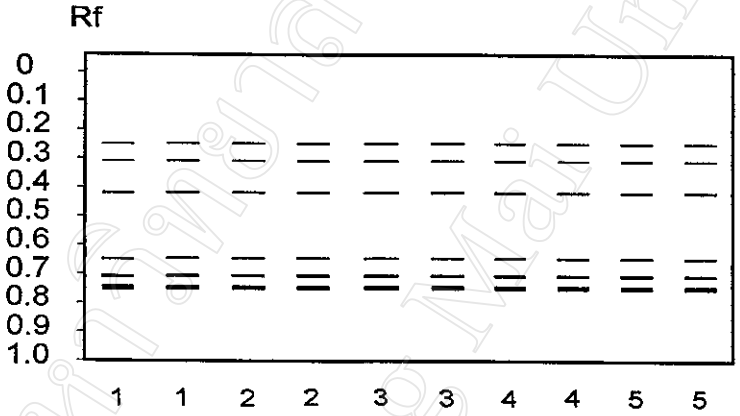
เอนไซม์ DIA ให้แถบสีที่ปรากฏ 7 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.08, 0.12, 0.15, 0.18, 0.24, 0.32 และ 0.48 (ภาพ 23 และภาพผนวก 3)



ภาพ 23 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านแสงอาทิตย์

1.1.3.4 รูปแบบของไอโซไซม์ EST

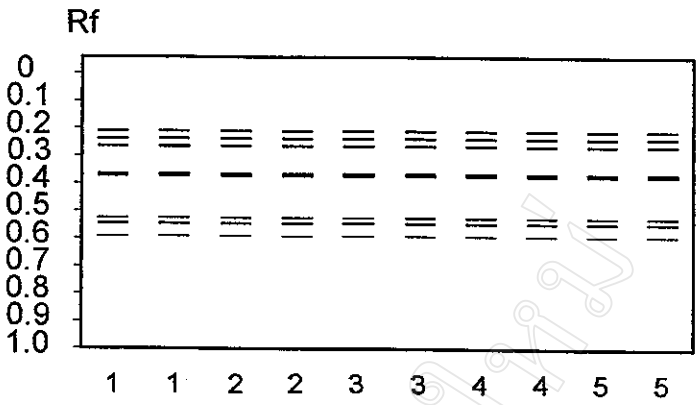
เอนไซม์ EST ให้แถบสีที่ปรากฏ 6 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.25, 0.31, 0.42, 0.65, 0.71 และ 0.75 (ภาพ 24 และภาพผนวก 3)



ภาพ 24 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านแสงอาทิตย์

1.1.3.5 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT

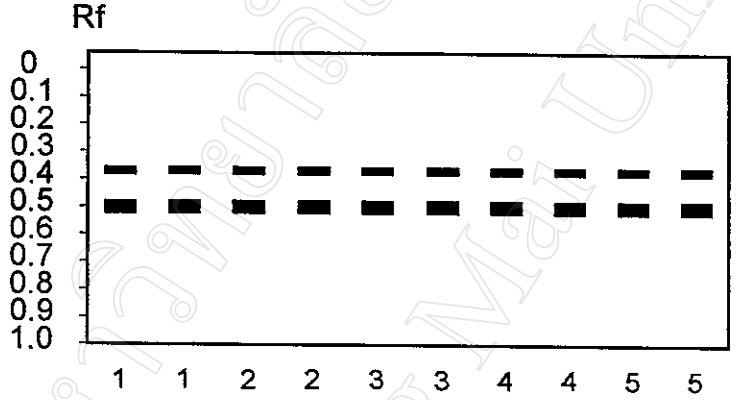
เอนไซม์ GOT ให้แถบสีที่ปรากฏ 7 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.21, 0.24, 0.28, 0.37, 0.52, 0.55 และ 0.59 (ภาพ 25 และภาพผนวก 3)



ภาพ 25 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านแสงอาทิตย์

1.1.3.6 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH

เอนไซม์ MDH ให้แถบสีที่ปรากฏ 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.37 และ 0.51 (ภาพ 26 และภาพผนวก 3)

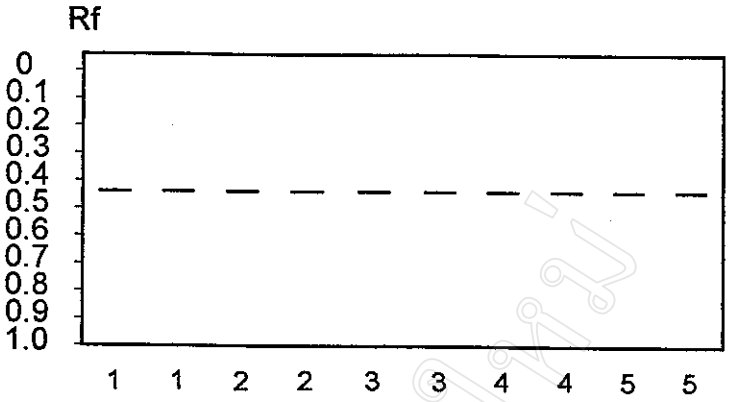


ภาพ 26 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านแสงอาทิตย์

1.1.4 รูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู

1.1.4.1 รูปแบบของไอโซไซม์ ADH

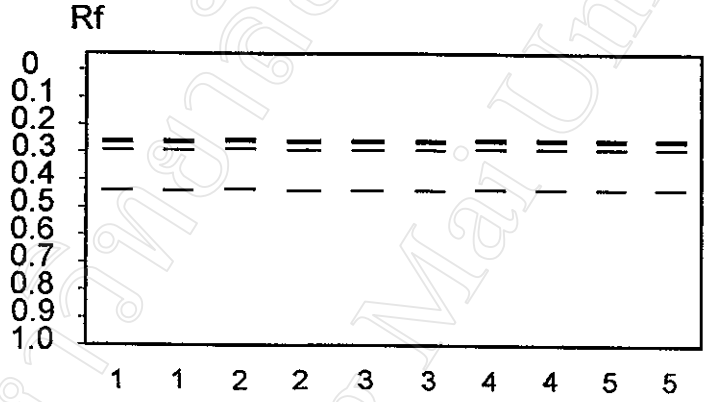
เอนไซม์ ADH ให้แถบสีที่ปรากฏ 1 แถบ บริเวณตอนบนของเจล ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.44 (ภาพ 27 และภาพผนวก 4)



ภาพ 27 รูปแบบของไอโซไซม์ ADH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู

1.1.4.2 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD

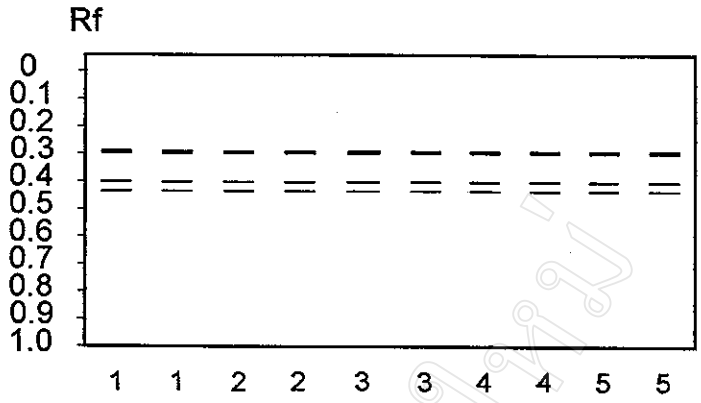
เอนไซม์ ALD ให้แถบสีที่ปรากฏ 3 แถบ บริเวณตอนบนของเจล ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.26, 0.29 และ 0.44 (ภาพ 28 และภาพผนวก 4)



ภาพ 28 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู

1.1.4.3 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA

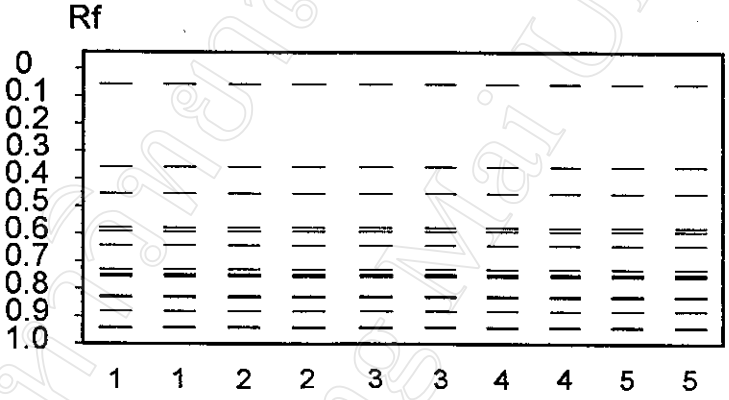
เอนไซม์ DIA ให้แถบสีที่ปรากฏ 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.29, 0.40 และ 0.43 (ภาพ 29 และภาพผนวก 4)



ภาพ 29 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู

1.1.4.4 รูปแบบของไอโซไซม์ EST

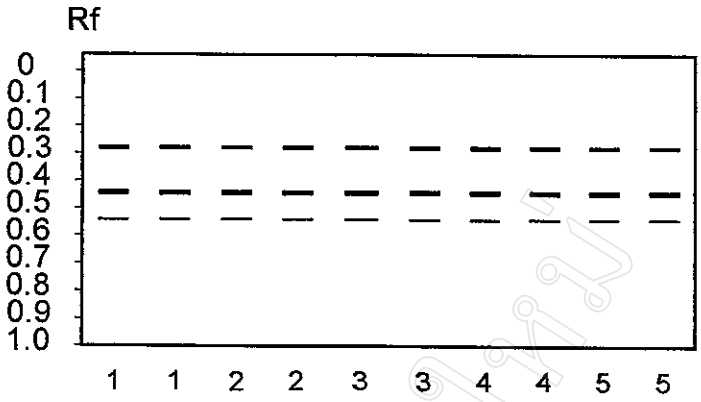
เอนไซม์ EST ให้แถบสีที่ปรากฏ 11 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.05, 0.35, 0.45, 0.58, 0.59, 0.64, 0.72, 0.75, 0.83, 0.88 และ 0.94 (ภาพ 30 และภาพผนวก 4)



ภาพ 30 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู

1.1.4.5 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT

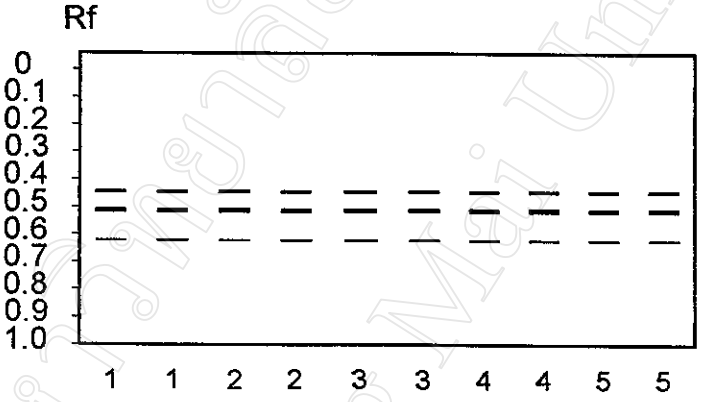
เอนไซม์ GOT ให้แถบสีที่ปรากฏ 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.28, 0.44 และ 0.54 (ภาพ 31 และภาพผนวก 4)



ภาพ 31 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู

1.1.4.6 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH

เอนไซม์ MDH ให้แถบสีที่ปรากฏ 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.44, 0.51 และ 0.62 (ภาพ 32 และภาพผนวก 4)



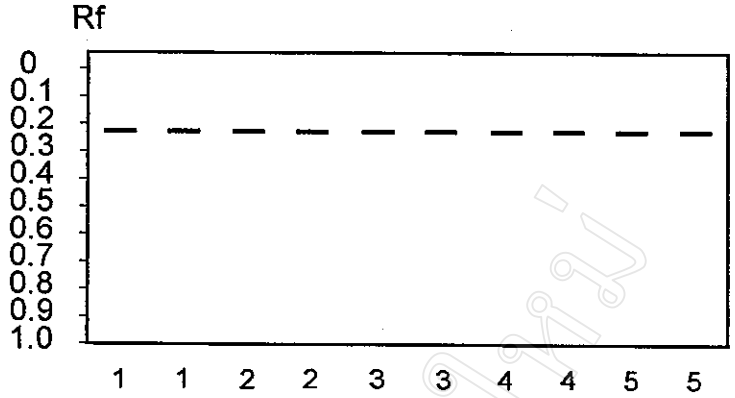
ภาพ 32 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู

1.1.5 รูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง

1.1.5.1 เอนไซม์ ADH ไม่ปรากฏแถบสี จึงไม่ได้แสดงภาพและภาพผนวก

1.1.5.2 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD

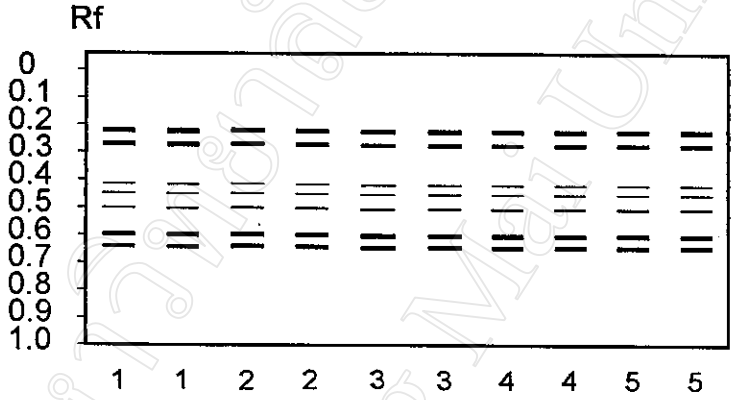
เอนไซม์ ALD ให้แถบสีที่ปรากฏ 1 แถบ บริเวณตอนบนของเจล ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.22 (ภาพ 33 และภาพผนวก 5)



ภาพ 33 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง

1.1.5.3 รูปแบบของไอโซไซม์ EST

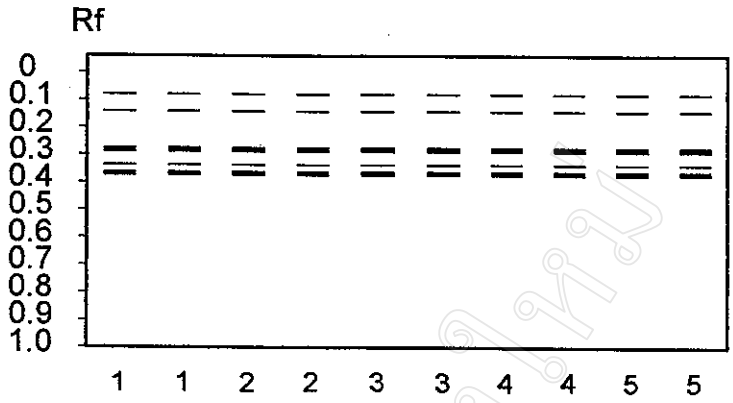
เอนไซม์ EST ให้แถบสีที่ปรากฏ 7 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.22, 0.27, 0.41, 0.44, 0.50, 0.61 และ 0.64 (ภาพ 34 และภาพผนวก 5)



ภาพ 34 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง

1.1.5.4 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA

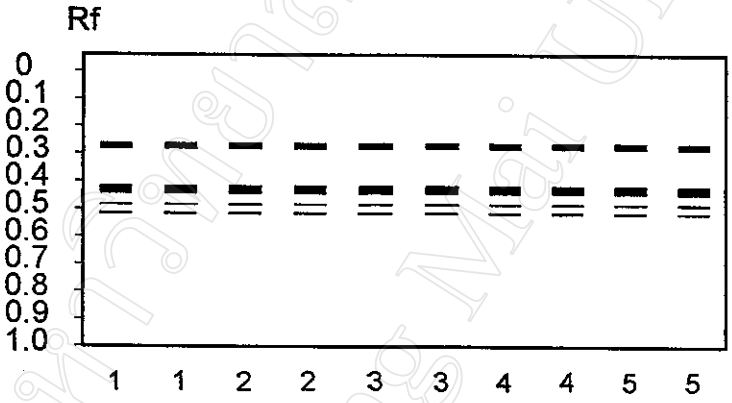
เอนไซม์ DIA ให้แถบสีที่ปรากฏ 5 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.08, 0.14, 0.28, 0.33 และ 0.37 (ภาพ 35 และภาพผนวก 5)



ภาพ 35 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง

1.1.5.5 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT

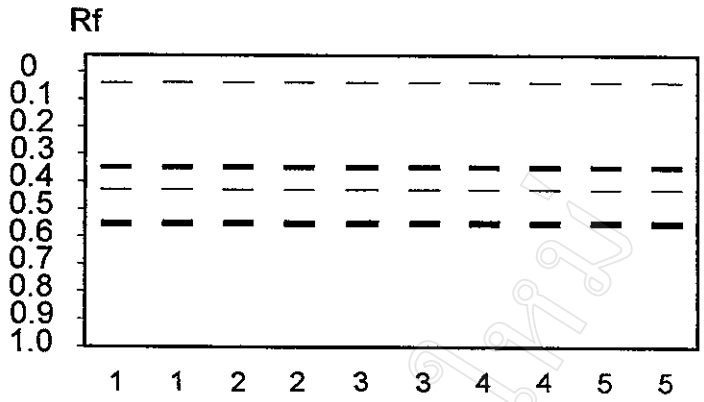
เอนไซม์ GOT ให้แถบสีที่ปรากฏ 4 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.27, 0.43, 0.48 และ 0.51 (ภาพ 36 และภาพผนวก 5)



ภาพ 36 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง

1.1.5.6 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH

เอนไซม์ MDH ให้แถบสีที่ปรากฏ 4 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.04, 0.35, 0.43 และ 0.55 (ภาพ 37 และภาพผนวก 5)

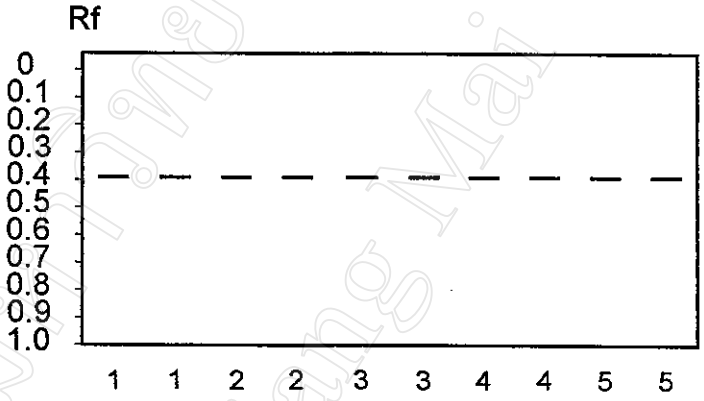


ภาพ 37 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง

1.1.6 รูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม

1.1.6.1 รูปแบบของไอโซไซม์ ADH

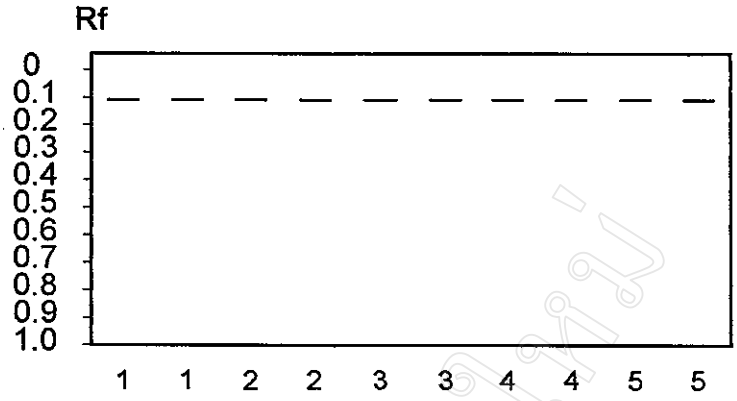
เอนไซม์ ADHแถบสีที่ปรากฏ 1 แถบ บริเวณตอนบนของเจล ค่าการเคลื่อนที่ของแถบสีเท่ากับ 0.39 (ภาพ 38 และภาพผนวก 6)



ภาพ 38 รูปแบบของไอโซไซม์ ADH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม

1.1.6.2 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD

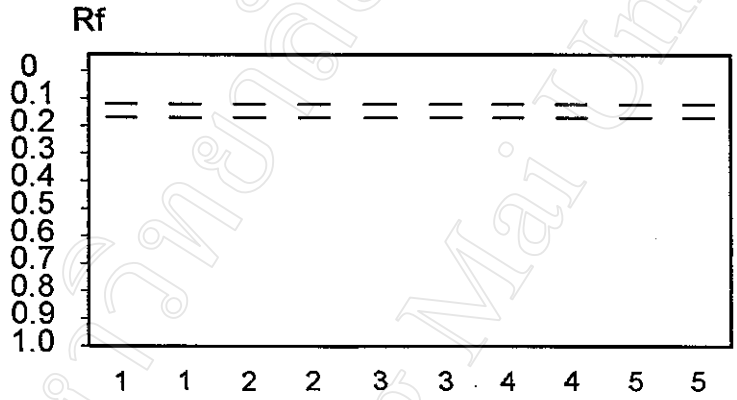
เอนไซม์ ALD ให้แถบสีที่ปรากฏ 1 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ0.11 (ภาพ 39 และภาพผนวก 6)



ภาพ 39 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม

1.1.6.3 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA

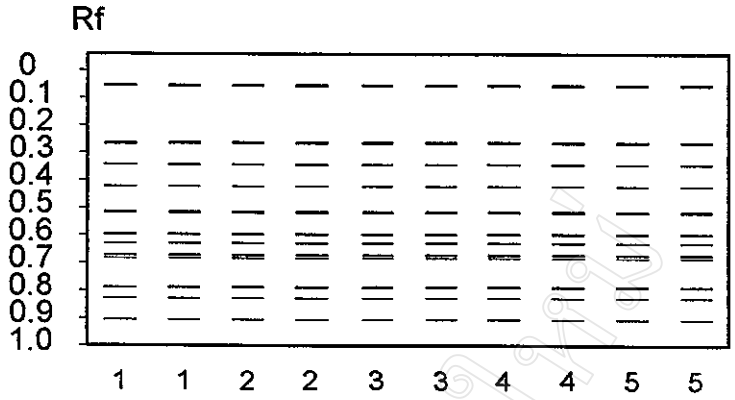
เอนไซม์ DIA ให้แถบสีที่ปรากฏ 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.12 และ 0.17 (ภาพ 40 และภาพผนวก 6)



ภาพ 40 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม

1.1.6.4 รูปแบบของไอโซไซม์ EST

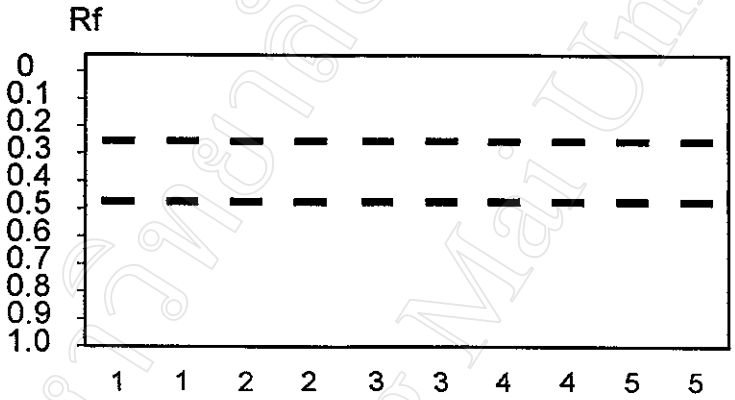
เอนไซม์ EST ให้แถบสีที่ปรากฏ 12 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.06, 0.28, 0.34, 0.42, 0.51, 0.59, 0.62, 0.67, 0.68, 0.79, 0.83 และ 0.91 (ภาพ 41 และภาพผนวก 6)



ภาพ 41 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม

1.1.6.5 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT

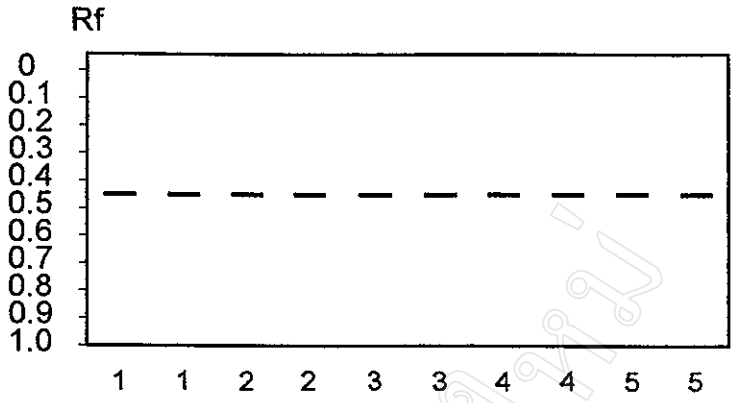
เอนไซม์ GOT ให้แถบสีที่ปรากฏ 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ0.26 และ 0.46 (ภาพ 42 และภาพผนวก 6)



ภาพ 42 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม

1.1.6.6 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH

เอนไซม์ MDH ให้แถบสีที่ปรากฏ 1 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.45 (ภาพ 43 และภาพผนวก 6)

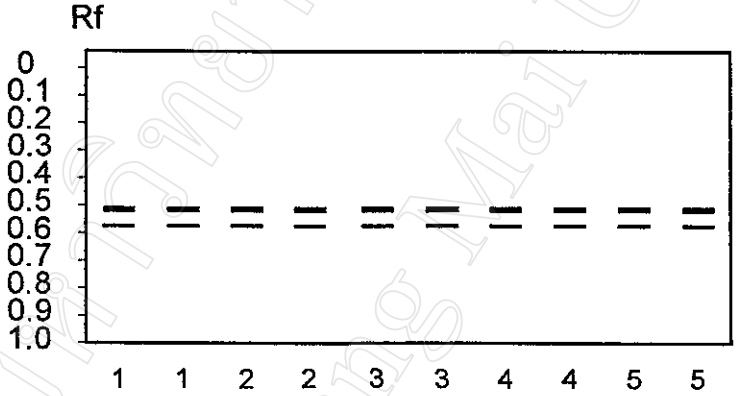


ภาพ 43 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม

1.1.7 รูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกใหญ่

1.1.7.1 รูปแบบของไอโซไซม์ ADH

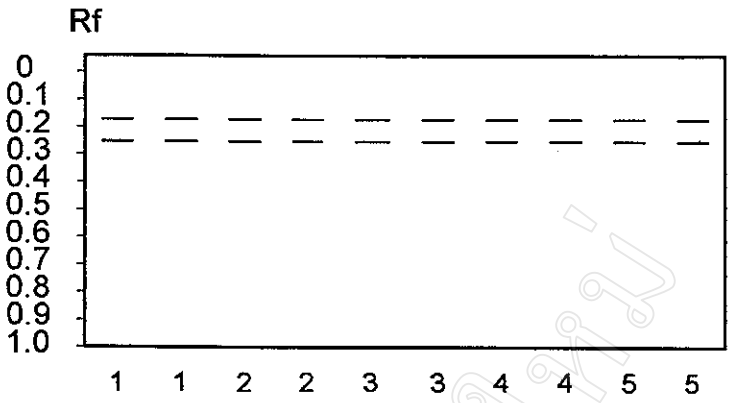
เอนไซม์ ADH ให้แถบสีที่ปรากฏ 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ0.52 และ 0.58 (ภาพ 44 และภาพผนวก 7)



ภาพ 44 รูปแบบของไอโซไซม์ ADH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกใหญ่

1.1.7.2 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD

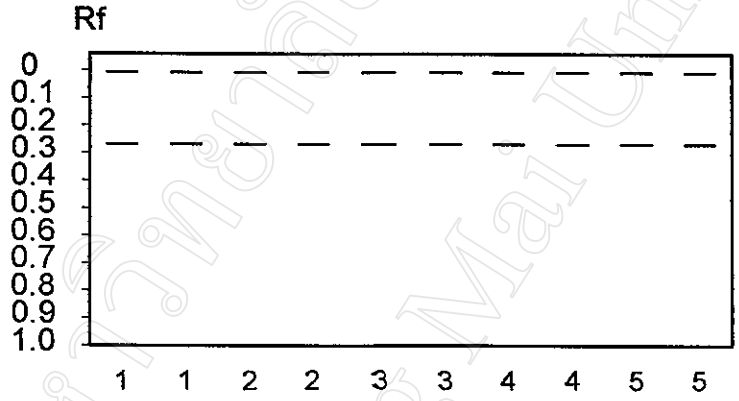
เอนไซม์ ALD ให้แถบสีที่ปรากฏ 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.17 และ 0.25 (ภาพ 45 และภาพผนวก 7)



ภาพ 45 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกใหญ่

1.1.7.3 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA

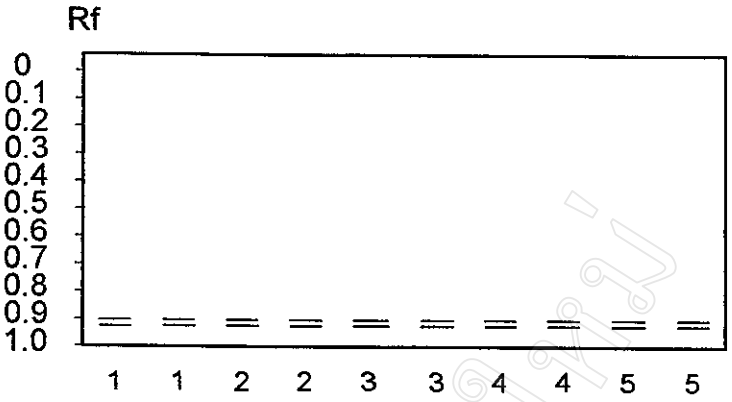
เอนไซม์ DIA ให้แถบสีที่ปรากฏ 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.06 และ 0.27 (ภาพ 46 และภาพผนวก 7)



ภาพ 46 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกใหญ่

1.1.7.4 รูปแบบของไอโซไซม์ EST

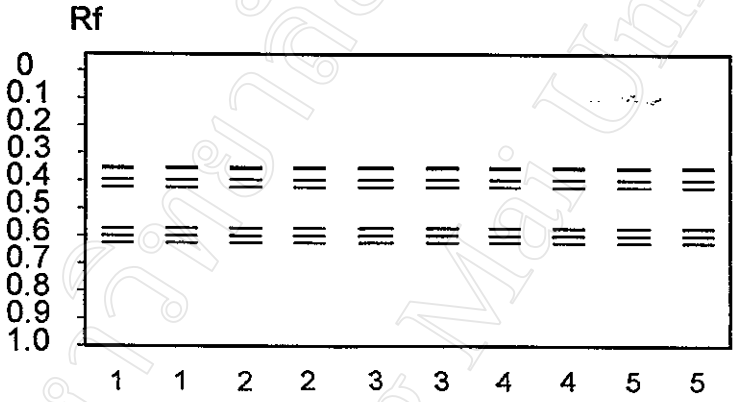
เอนไซม์ EST ให้แถบสีที่ปรากฏ 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.90 และ 0.92 (ภาพ 47 และภาพผนวก 7)



ภาพ 47 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกใหญ่

1.1.7.5 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT

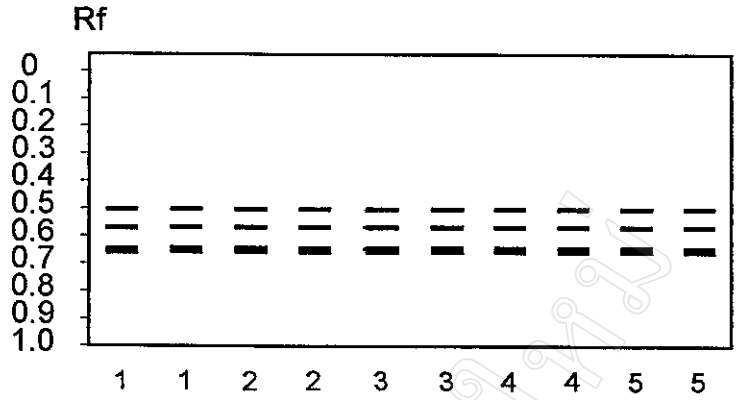
เอนไซม์ GOT ให้แถบสีที่ปรากฏ 6 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.36, 0.39, 0.42, 0.57, 0.60 และ 0.63 (ภาพ 48 และภาพผนวก 7)



ภาพ 48 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกใหญ่

1.1.7.6 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH

เอนไซม์ MDH ให้แถบสีที่ปรากฏ 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.51, 0.57 และ 0.65 (ภาพ 49 และภาพผนวก 7)



ภาพ 49 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกใหญ่

1.1.8. รูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกเล็ก

1.1.8.1 เอนไซม์ ADH ไม่ปรากฏแถบสี จึงไม่ได้แสดงภาพและภาพผนวก

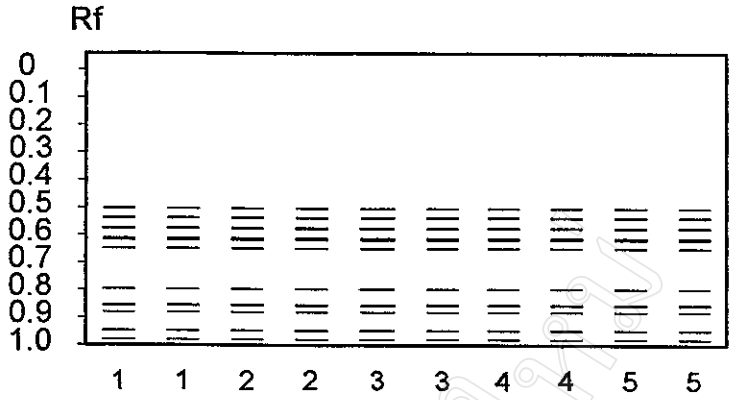
1.1.8.2 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD

เอนไซม์ ALD ให้แถบสีที่ปรากฏ 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.22 และ 0.67 (ภาพ 50 และภาพผนวก 8)

ภาพ 50 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกเล็ก

1.1.8.3 รูปแบบของไอโซไซม์ EST

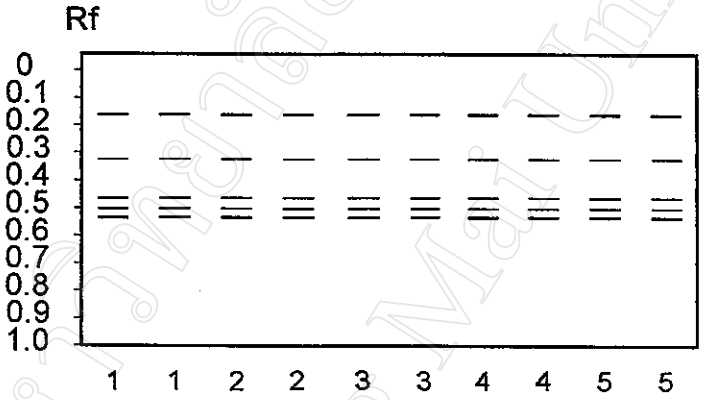
เอนไซม์ EST ให้แถบสีที่ปรากฏ 10 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.51, 0.54, 0.58, 0.62, 0.65, 0.79, 0.86, 0.88, 0.95 และ 0.98 (ภาพ 51 และภาพผนวก 8)



ภาพ 51 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกเล็ก

1.1.8.4 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA

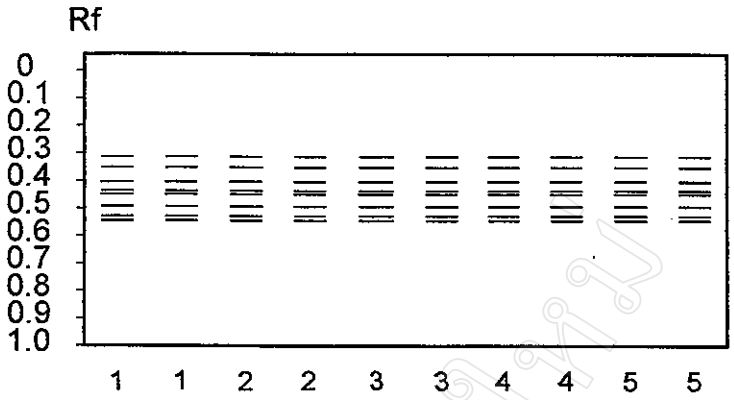
เอนไซม์ DIA ให้แถบสีที่ปรากฏ 5 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.16, 0.32, 0.46, 0.50 และ 0.54 (ภาพ 52 และภาพผนวก 8)



ภาพ 52 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกเล็ก

1.1.8.5 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT

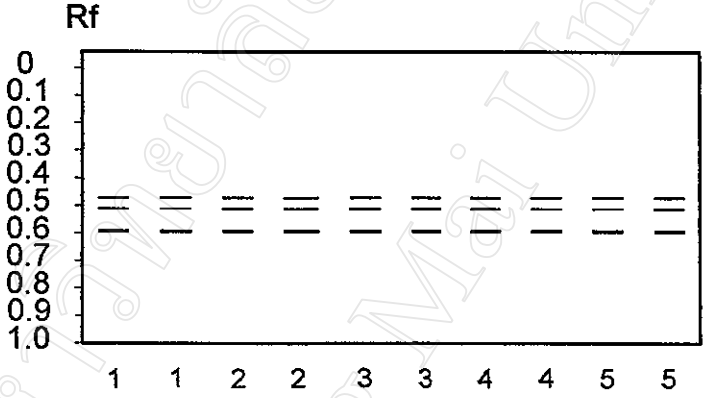
เอนไซม์ GOT ให้แถบสีที่ปรากฏ 8 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.32, 0.35, 0.40, 0.44, 0.46, 0.49, 0.52 และ 0.54 (ภาพ 53 และภาพผนวก 8)



ภาพ 53 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกเล็ก

1.1.8.6 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH

เอนไซม์ MDH ให้แถบสีที่ปรากฏ 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.47, 0.51 และ 0.59 (ภาพ 54 และภาพผนวก 8)



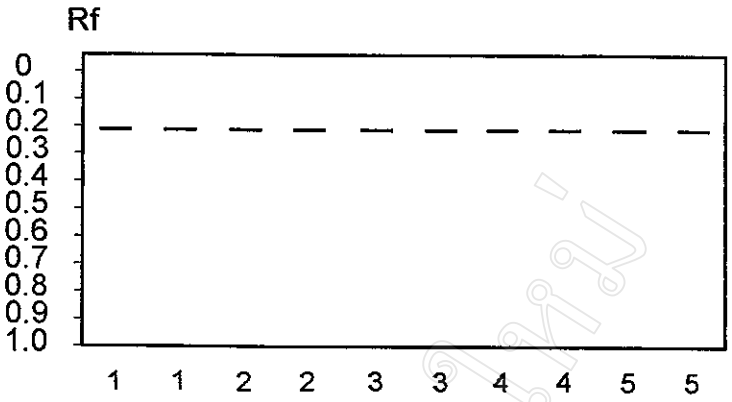
ภาพ 54 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีชมพูดอกเล็ก

1.1.9 รูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนของบัวดินสีเหลือง

1.1.9.1 เอนไซม์ ADH ไม่ปรากฏแถบสี จึงไม่ได้แสดงภาพและภาพผนวก

1.1.9.2 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD

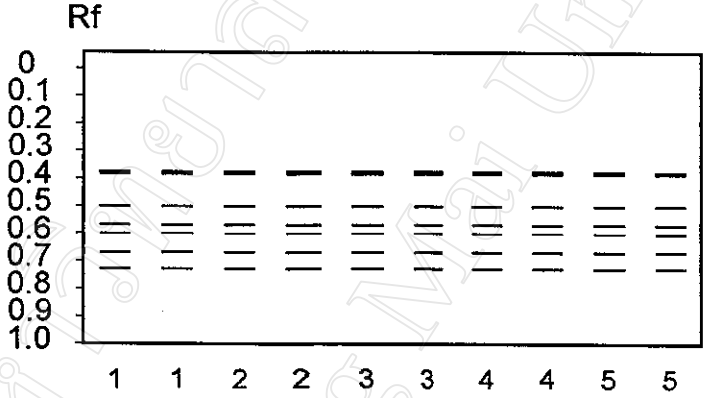
เอนไซม์ ALD ให้แถบสีที่ปรากฏ 1 แถบ บริเวณตอนบนของเจล ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.22 (ภาพ 55 และภาพผนวก 9)



ภาพ 55 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีเหลือง

1.1.9.3 รูปแบบของไอโซไซม์ EST

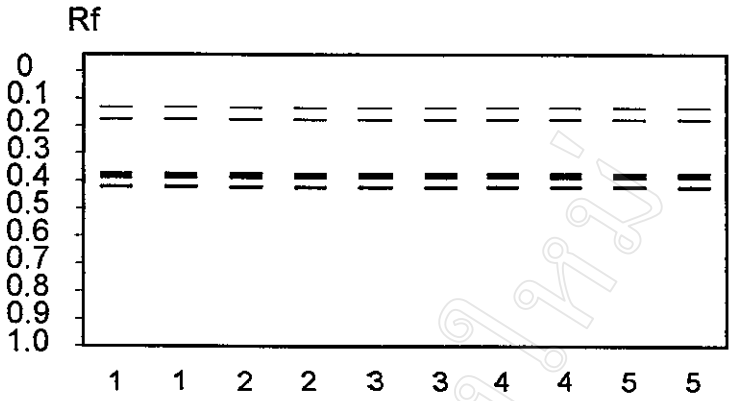
เอนไซม์ EST ให้แถบสีที่ปรากฏ 6 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.38, 0.50, 0.57, 0.60, .67 และ 0.73 (ภาพ 56 และภาพผนวก 9)



ภาพ 56 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีเหลือง

1.1.9.4 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA

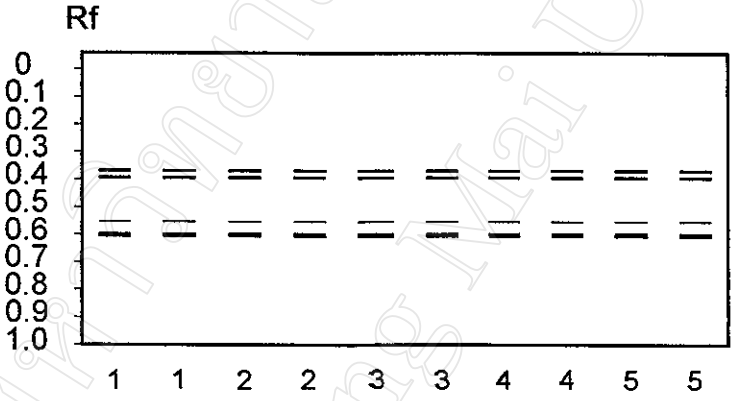
เอนไซม์ DIA ให้แถบสีที่ปรากฏ 4 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.13, 0.17, 0.38 และ 0.43 (ภาพ 57 และภาพผนวก 9)



ภาพ 57 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีเหลือง

1.1.9.5 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT

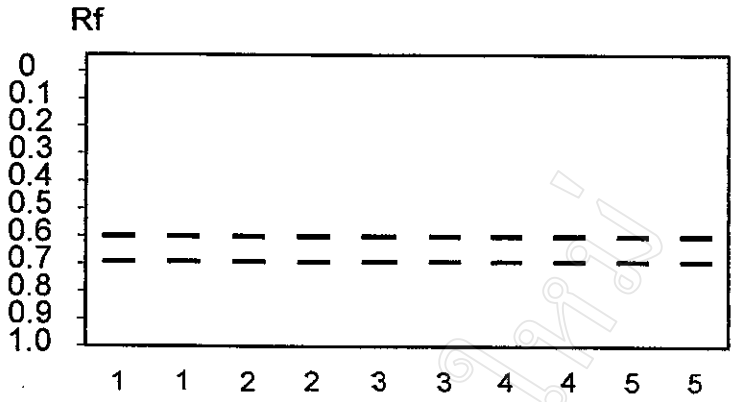
เอนไซม์ GOT ให้แถบสีที่ปรากฏ 4 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.37, 0.39, 0.55 และ 0.61 (ภาพ 58 และภาพผนวก 9)



ภาพ 58 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีเหลือง

1.1.9.6 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH

เอนไซม์ MDH ให้แถบสีที่ปรากฏ 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.61 และ 0.69 (ภาพ 59 และภาพผนวก 9)



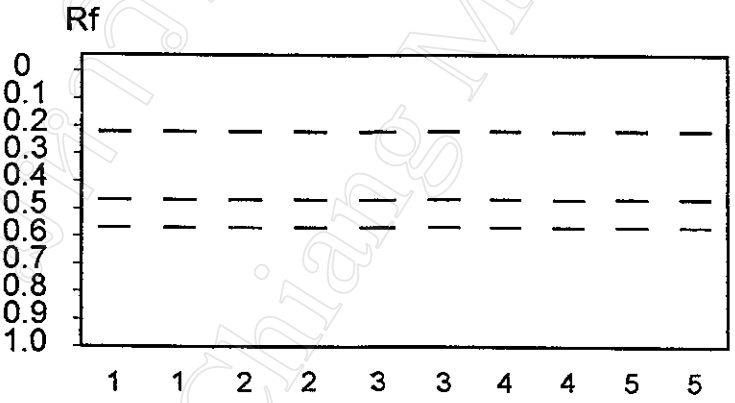
ภาพ 59 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีเหลือง

1.1.10 รูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนของบัวดินสีเหลืองอ่อน

1.1.10.1 เอนไซม์ ADH ไม่ปรากฏแถบสี จึงไม่ได้แสดงภาพและภาพผนวก

1.1.10.2 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD

เอนไซม์ ALD ให้แถบสีที่ปรากฏ 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.22, 0.47 และ 0.57 (ภาพ 60 และภาพผนวก 10)



ภาพ 60 รูปแบบของไอโซไซม์ ALD จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีเหลืองอ่อน

1.1.10.3 รูปแบบของไอโซไซม์ EST

เอนไซม์ EST ให้แถบสีที่ปรากฏ 12 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.04, 0.08, 0.31, 0.55, 0.57, 0.60, 0.65, 0.69, 0.77, 0.79, 0.82 และ 0.95 (ภาพ 61 และภาพผนวก 10)

ภาพ 61 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีเหลืองอ่อน

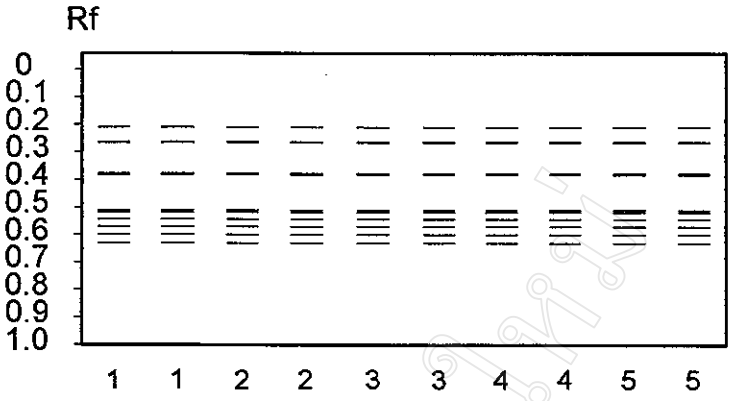
1.1.10.4 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA

เอนไซม์ DIA ให้แถบสีที่ปรากฏ 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.37, 0.41 และ 0.46 (ภาพ 62 และภาพผนวก 10)

ภาพ 62 รูปแบบของไอโซไซม์ DIA จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีเหลืองอ่อน

1.1.10.5 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT

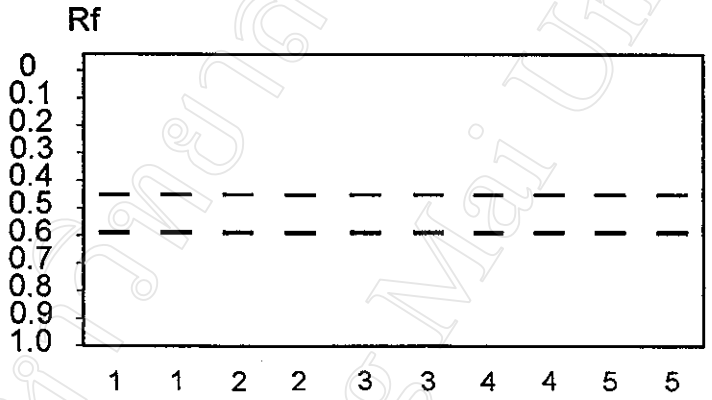
เอนไซม์ GOT ให้แถบสีที่ปรากฏ 9 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.21, 0.26, 0.38, 0.51, 0.52, 0.54, 0.57, 0.60 และ 0.64 (ภาพ 63 และภาพผนวก 10)



ภาพ 63 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีเหลืองอ่อน

1.1.10.6 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH

เอนไซม์ MDH ให้แถบสีที่ปรากฏ 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีเท่ากับ 0.45 และ 0.59 (ภาพ 64 และภาพผนวก 10)



ภาพ 64 รูปแบบของไอโซไซม์ MDH จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของบัวดินสีเหลืองอ่อน

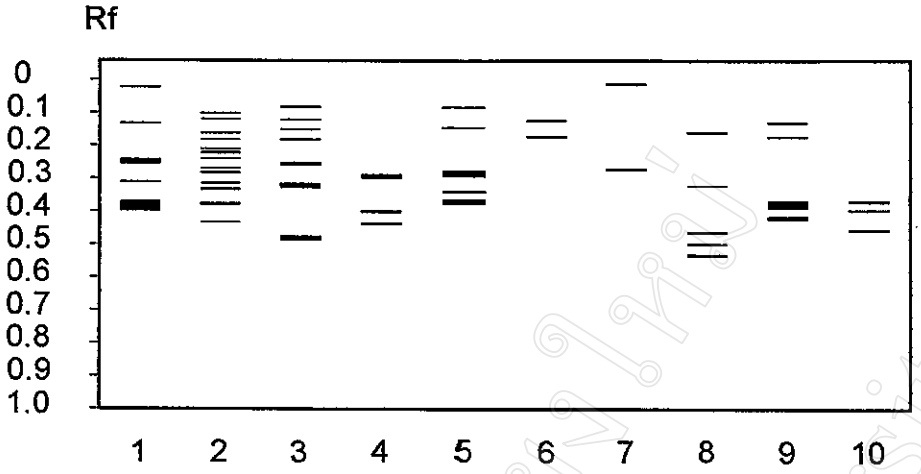
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

สรุปรูปแบบแถบสีไอโซไซม์จากเอนไซม์ทั้ง 6 ชนิดในพืชทดลอง 10 ชนิด (ภาพ 65-70)

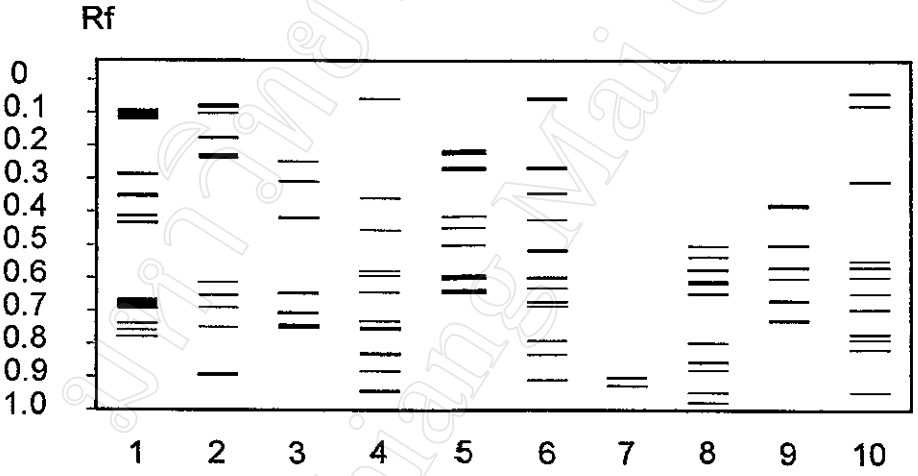
โดย 1 = ว่านนางคุ้ม
2 = ว่านมหาลาภ
3 = ว่านแสงอาทิตย์
4 = ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองชมพู
5 = ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองแดง
6 = ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม
7 = บัวดินสีชมพูดอกใหญ่
8 = บัวดินสีชมพูดอกเล็ก
9 = บัวดินสีเหลือง
10 = บัวดินสีเหลืองอ่อน

ภาพ 65 รูปแบบแถบสีไอโซไซม์จากเอนไซม์ ADH ของพืชทดลอง 10 ชนิด

ภาพ 66 รูปแบบแถบสีไอโซไซม์จากเอนไซม์ ALD ของพืชทดลอง 10 ชนิด

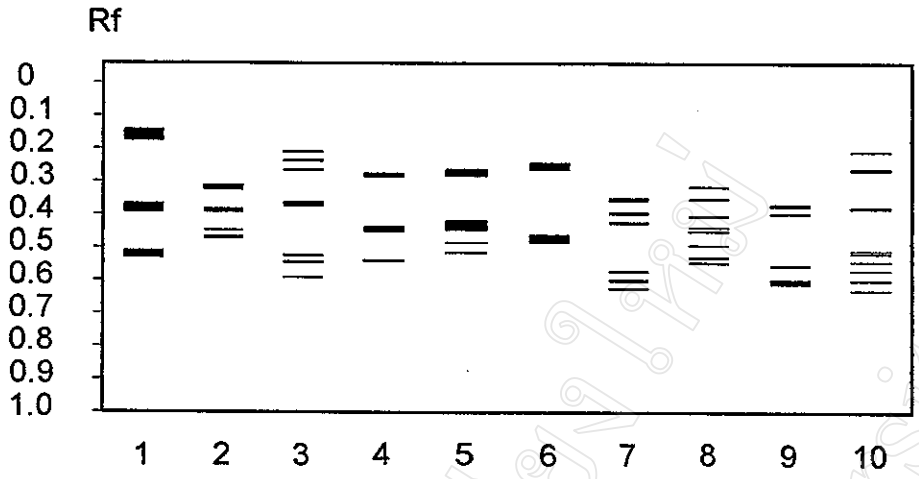


ภาพ 67 รูปแบบแถบสีไอโซไซม์จากเอนไซม์ DIA ของพืชทดลอง 10 ชนิด

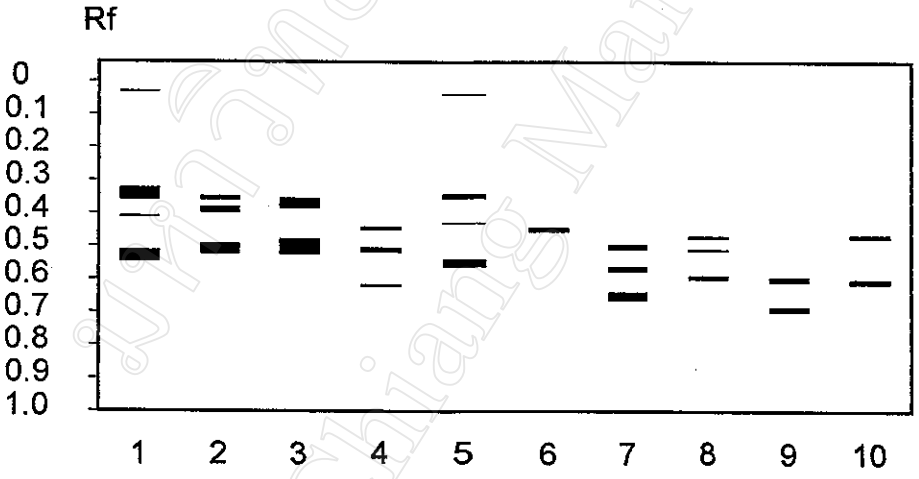


ภาพ 68 รูปแบบแถบสีไอโซไซม์จากเอนไซม์ EST ของพืชทดลอง 10 ชนิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



ภาพ 69 รูปแบบแถบสีไอโซไซม์จากเอนไซม์ GOT ของพืชทดลอง 10 ชนิด



ภาพ 70 รูปแบบแถบสีไอโซไซม์จากเอนไซม์ MDH ของพืชทดลอง 10 ชนิด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

1.2 การผสมข้ามสกุลระหว่างว่านนางคุ้มกับไม้ดอกประเภทหัวสี่สกุล

การศึกษาครั้งนี้มีพืชทดลอง คือ ว่านนางคุ้ม (*Eurycles amboinensis* Lindl.) ว่านมหาลาภ (*Eucrosia* sp.) ว่านแสงอาทิตย์ (*Haemanthus multiflorus* Martyn.) ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมือง สีชมพู สีแดง สีส้ม (*Hippeastrum* spp.) บัวดินสีชมพูดอกใหญ่ (*Zephyranthes grandiflora* Lindl.) สีชมพูดอกเล็ก (*Zephyranthes rosea* Lindl.) สีเหลือง (*Zephyranthes citrina* Baker.) และสีเหลืองอ่อน (*Zephyranthes ajax* Sprenger.) โดยใช้ว่านนางคุ้มเป็นแม่ และ พ่อ สลับกันทุกคู่ผสม จากนั้นนำไข่อ่อนอายุ 5 วันหลังจากผสม เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารวุ้นสูตร MS (1962) ที่เติม casein hydrolysate 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.2.1 จำนวนวันที่ดอกบาน

การศึกษาอายุการบานของดอกที่ใช้ในการทดลอง เพื่อเลือกวันที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ในการผสมพันธุ์ พบว่า ดอกของพืชทดลองมีอายุการบานของดอกแตกต่างกันตามชนิดของดอกดังแสดงไว้ในตาราง 8

ตาราง 8 ค่าเฉลี่ยอายุการบานของดอกที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อพืช	ค่าเฉลี่ยอายุการบานของดอก (วัน)*
ว่านนางคุ้ม	5.3
ว่านมหาลาภ	6.3
ว่านแสงอาทิตย์	4.3
ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู	6.5
ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง	6.3
ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม	6.1
บัวดินสีชมพูดอกใหญ่	1.8
บัวดินสีชมพูดอกเล็ก	1.0
บัวดินสีเหลือง	1.0
บัวดินสีเหลืองอ่อน	1.7

* = ค่าเฉลี่ยจาก 5 ดอก

1.2.2 ความพร้อมในการผสมเกสรของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย

แต่ดอกพืชทดลองชนิดต่าง ๆ มีความพร้อมในการผสมเกสรของเกสรตัวผู้โดยสังเกตจากอับละอองเรณูแตก และเกสรตัวเมียโดยสังเกตจากของเหลวใส (stigmatic fluid) ที่ปลายยอดเกสรตัวเมีย ยกเว้นว่านนางคุ้มและว่านแสงอาทิตย์จะต้องสังเกตจากปลายยอดเกสรตัวเมียที่แยกออกเป็นแฉกเล็กน้อย ซึ่งความพร้อมในการผสมเกสรแตกต่างกันดังนี้

ว่านนางคุ้มเกสรตัวผู้พร้อมผสมในวันแรกที่ดอกบาน ส่วนเกสรตัวเมียพร้อมผสมในวันที่สองหรือสามหลังจากดอกเริ่มบาน โดยมีจำนวนวันเฉลี่ยเป็น 2.1 (ตาราง 9)

ว่านมหาลาภเกสรตัวผู้พร้อมผสมในวันแรกที่ดอกบาน ส่วนเกสรตัวเมียพร้อมผสมในวันที่สามหรือสี่หลังจากดอกเริ่มบาน โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 3.6 (ตาราง 9)

ว่านแสงอาทิตย์เกสรตัวผู้พร้อมผสมในวันแรกที่ดอกบาน ส่วนเกสรตัวเมียจะพร้อมผสมในวันที่สองหรือสามหลังจากดอกเริ่มบาน โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 2.1 (ตาราง 9)

ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพูเกสรตัวผู้พร้อมผสมในวันแรกดอกบาน ส่วนเกสรตัวเมียพร้อมผสมในวันที่สามหรือสี่หลังจากดอกเริ่มบาน โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 3.2 (ตาราง 9)

ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดงเกสรตัวผู้พร้อมผสมในวันแรกที่ดอกบาน ส่วนเกสรตัวเมียพร้อมผสมในวันที่สามหรือสี่หลังจากดอกเริ่มบาน โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 3.3 เช่นเดียวกับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม (ตาราง 9)

บัวดินสีชมพูดอกใหญ่เกสรตัวผู้พร้อมผสมในวันแรกที่ดอกบาน โดยมีค่าจำนวนวันเฉลี่ยพร้อมผสมเช่นเดียวกับยอดเกสรตัวเมีย คือ 1 วัน บัวดินสีชมพูดอกเล็ก บัวดินสีเหลือง บัวดินสีเหลืองอ่อนก็มีความพร้อมในการผสมเกสรเช่นเดียวกับบัวดินสีชมพูดอกใหญ่ (ตาราง 9)

ตาราง 9 ค่าเฉลี่ยของจำนวนวันที่เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียพร้อมผสมเกสร

ชื่อพืช	จำนวนวันเฉลี่ยที่เกสรตัวผู้พร้อมผสมเกสร *	จำนวนวันเฉลี่ยที่เกสรตัวเมียพร้อมผสมเกสร *
ว่านนางคุ้ม	1.0	2.1
ว่านมหาลาภ	1.0	3.6
ว่านแสงอาทิตย์	1.0	2.1
ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู	1.0	3.2
ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง	1.0	3.3
ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม	1.0	3.3
บัวดินสีชมพูดอกใหญ่	1.0	1.0
บัวดินสีชมพูดอกเล็ก	1.0	1.0
บัวดินสีเหลือง	1.0	1.0
บัวดินสีเหลืองอ่อน	1.0	1.0

* = ค่าเฉลี่ยจาก 5 ดอก

1.2.3 อายุเฉลี่ยของฝักหลังการผสม

จากการทดลองพบว่าทุกคู่ผสมรังไข่เริ่มฝ่อและเหี่ยวไปหลังจากดอกได้รับการผสมเกสรแล้ว ทำให้ได้ฝักไม่แก่เต็มที่ โดยดอกในกลุ่มบัวดินมีอายุฝักเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 2.4-3.7 วัน และมากที่สุดคือว่านนางคุ้ม ซึ่งมีอายุเพียง 10.5 วัน (ตาราง 10)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตาราง 10 อายุเฉลี่ยของฝักหลังการผสม

ดอก	อายุเฉลี่ยของฝักหลังการผสม *	เปอร์เซ็นต์ฝักฝ่อ *
ว่านนางคุ้ม	10.5	100
ว่านมหาลาภ	8.5	100
ว่านแสงอาทิตย์	7.4	100
ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู	7.6	100
ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง	7.7	100
ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองส้ม	7.8	100
บัวดินสีชมพูดอกใหญ่	3.7	100
บัวดินสีชมพูดอกเล็ก	2.6	100
บัวดินสีเหลือง	2.4	100
บัวดินสีเหลืองอ่อน	3.6	100

* = ค่าเฉลี่ยจากดอก 5 ดอก

1.2.4 รูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนของลูกผสม

การศึกษานี้พบว่าภายหลังจากการผสมเกสร รังไข่ของพืชทดลองจะฝ่อและเหี่ยวไปจึงได้นำไข่อ่อนของพืชทดลองมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ไข่อ่อนของว่านนางคุ้มจากดอกที่ได้รับการผสมแล้วกับดอกจากต้นพ่อทุกชนิดที่ทดลองสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชได้เมื่อนำมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ แต่เมื่อใช้พืชชนิดอื่นเป็นต้นแม่โดยใช้ว่านนางคุ้มเป็นพ่อ พบว่าไข่อ่อนจากรังไข่ของว่านมหาลาภ ว่านแสงอาทิตย์ ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมือง สีชมพู สีแดง สีส้ม บัวดินสีชมพูดอกใหญ่ สีชมพูดอกเล็ก สีเหลือง และสีเหลืองอ่อนสามารถตัดออกจากรังไข่มาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้แต่ไข่อ่อนไม่มีการเจริญหรือพัฒนาเป็นต้น และตายในเวลาต่อมา

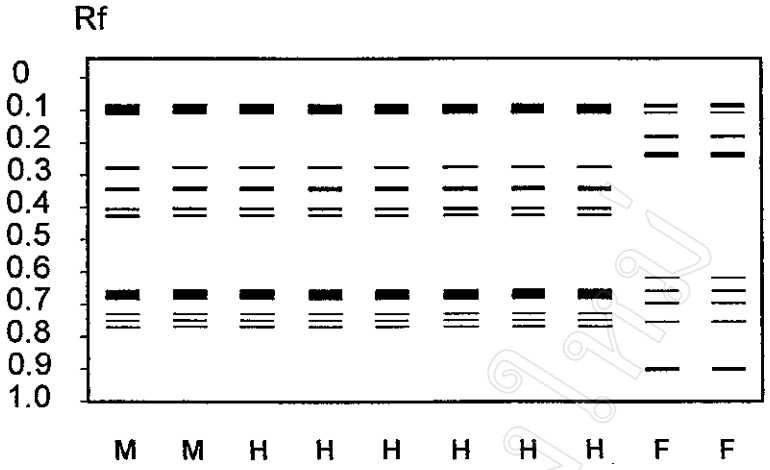
ไข่อ่อนของว่านนางคุ้มที่ได้รับการผสมแล้วกับพืชทดลองชนิดต่าง ๆ ซึ่งรังไข่มีอายุหลังการผสมเกสรเพียง 5 วัน เมื่อนำไปเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องจากรังไข่หลังการผสมหากทิ้งไว้นานกว่านี้ฝักมักจะฝ่อและแห้งไป การเลี้ยงไข่อ่อนของว่านนางคุ้มที่ได้รับการผสมแล้วดังกล่าวสามารถเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส และพัฒนาเป็นใบได้ในเวลาต่อมา ซึ่งไม่ทราบว่าเอมบริโอเจนิกแคลลัสที่เกิดขึ้นเป็นแคลลัสเกิดจากคัพภะที่สมบูรณ์หรือไม่ หรือเกิดจากเนื้อเยื่อของไข่อ่อน โดย

ตรงจึงได้นำใบอ่อนที่เกิดขึ้นมาตรวจสอบรูปแบบของไอโซไซม์ โดยเลือกใช้เอนไซม์ EST และ GOT ตามวิธีการที่กล่าวไว้ในวิธีการศึกษาในบทที่ 3 ผลการทดลองพบว่า คู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม × ว่านมหาลาภ ให้รูปแบบของแถบสีไอโซไซม์ EST จากใบอ่อนของว่านนางคุ้มที่พัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัสในหลอดทดลองมีรูปแบบแถบสีเหมือนกับรูปแบบของแถบสีที่ได้จากการวิเคราะห์จากใบอ่อนที่เริ่มคลี่ในสภาพโรงเรือน (ภาพ 71 ภาพผนวก 11 และ ภาพ 17 ในการทดลองที่ 1.1) แต่รูปแบบของแถบสีเอนไซม์ EST จากใบที่เริ่มคลี่ของว่านมหาลาภ ซึ่งใช้เป็นต้นพ่อให้แถบสีเหมือนกับผลที่แสดงในรูป จากการทดลองที่ 1.1 แต่รูปแบบแถบสีของใบอ่อนที่พัฒนามาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัสของคู่ผสมนี้ปรากฏแถบสีจำนวนและตำแหน่งของแถบสีเหมือนกับที่ได้จากต้นแม่เท่านั้น (ภาพ 71 และภาพผนวก 11)

ในทำนองเดียวกันคู่ผสมนี้เมื่อใช้ เอนไซม์ GOT ก็แสดงผลรูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่และต้นพ่อเมื่อเทียบกับรูปแบบแถบสีกับใบอ่อน ซึ่งพัฒนามาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัสที่ได้จากการนำไข่อ่อนที่ผสมแล้วมาเลี้ยง ก็ไม่ปรากฏแถบสีที่แตกต่างกันเลย (ภาพ 72 ภาพผนวก 12)

ผลที่เกิดขึ้นกับเอนไซม์ EST และ GOT เมื่อเปรียบเทียบกับคู่ผสมอื่นที่ยังคงให้ว่านนางคุ้มเป็นแม่ โดยมีว่านแสงอาทิตย์ ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู สีแดง สีส้ม บัวดินสีชมพูดอกใหญ่ สีชมพูดอกเล็ก สีเหลือง และสีเหลืองอ่อน เป็นพ่อ ก็ให้ผลไปในทางเดียวกันทั้งสิ้นกล่าวคือ ใบอ่อนที่พัฒนาในหลอดแก้วจากทุกคู่ผสมแสดงรูปแบบของแถบสีเหมือนกับแถบสีจากต้นแม่เท่านั้น (ภาพ 71- 88)

โดยสรุป ไข่อ่อนจากรังไข่ของว่านนางคุ้มที่มีอายุ 5 วันหลังการผสมเกสรกับว่านมหาลาภ ว่านแสงอาทิตย์ ว่านสี่ทิศทั้ง 3 ชนิด และบัวดินทั้ง 4 ชนิด เมื่อนำไปเลี้ยงในหลอดแก้วสามารถเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัสและสามารถพัฒนาเป็นยอดได้ในเวลาต่อมา

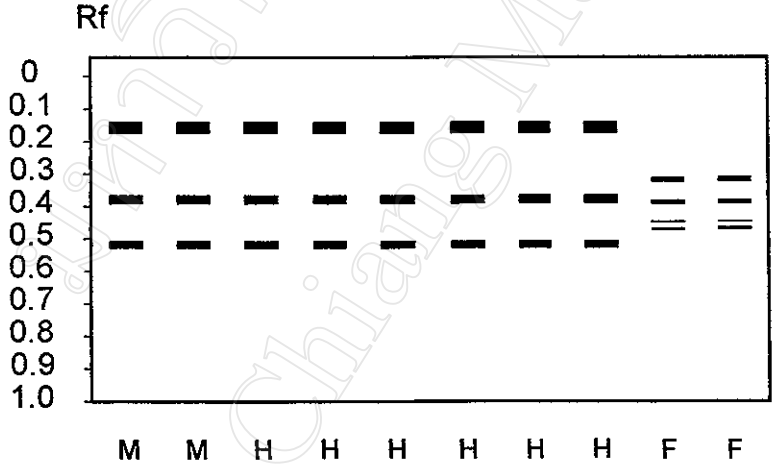


ภาพ 71 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับว่านมหาลาภเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

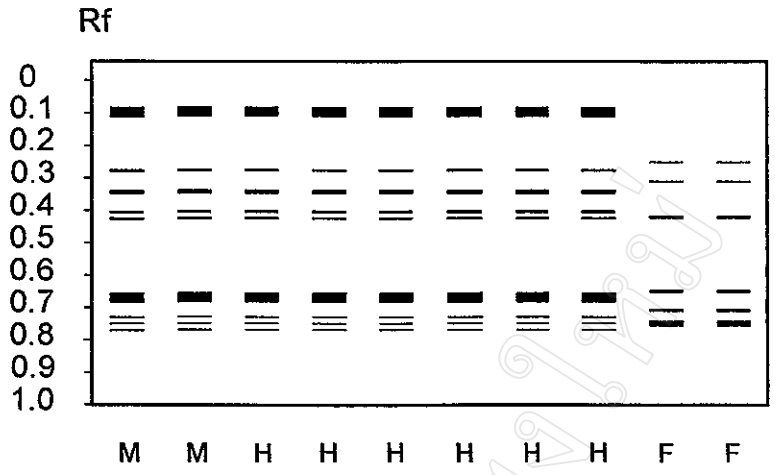


ภาพ 72 รูปแบบ ของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับว่านมหาลาภเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

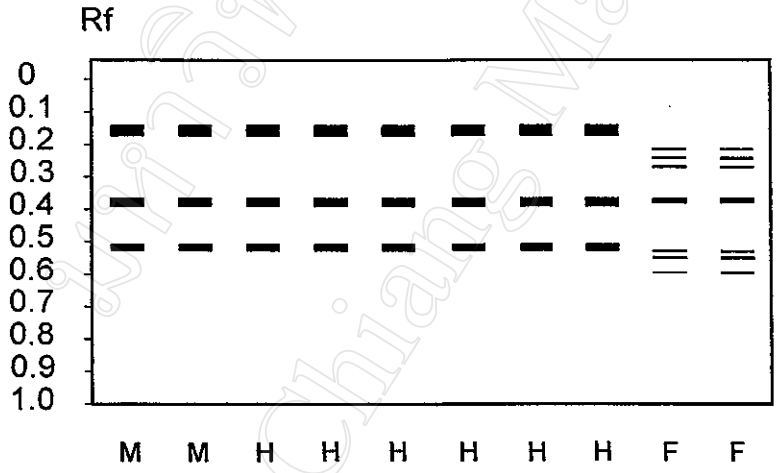


ภาพ 73 รูปแบบ ของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับว่านแสงอาทิตย์ เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

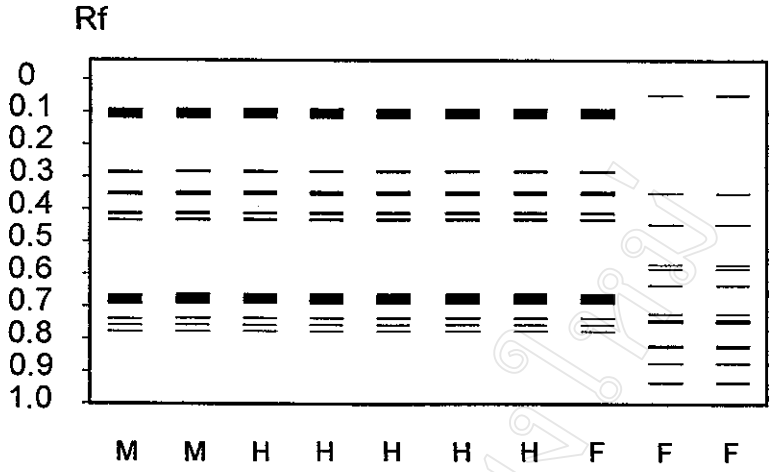


ภาพ 74 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับว่านแสงอาทิตย์ เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

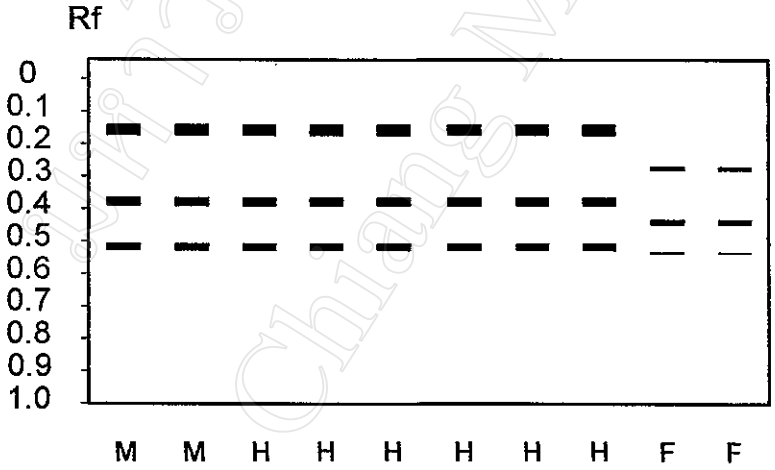


ภาพ 75 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ



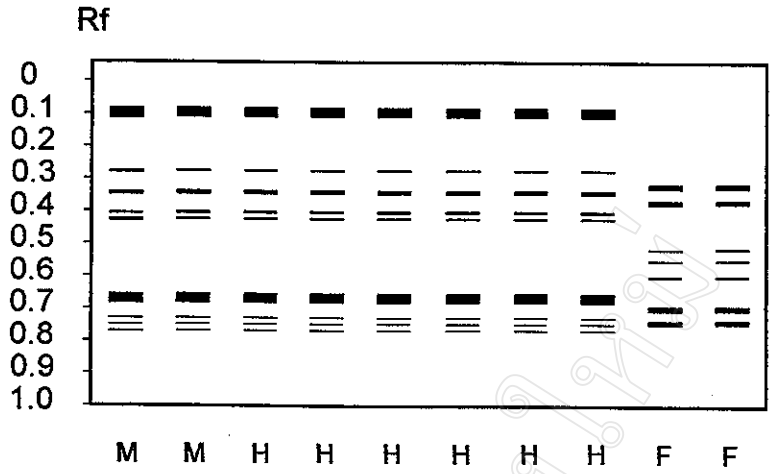
ภาพ 76 รูปแบบ ของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

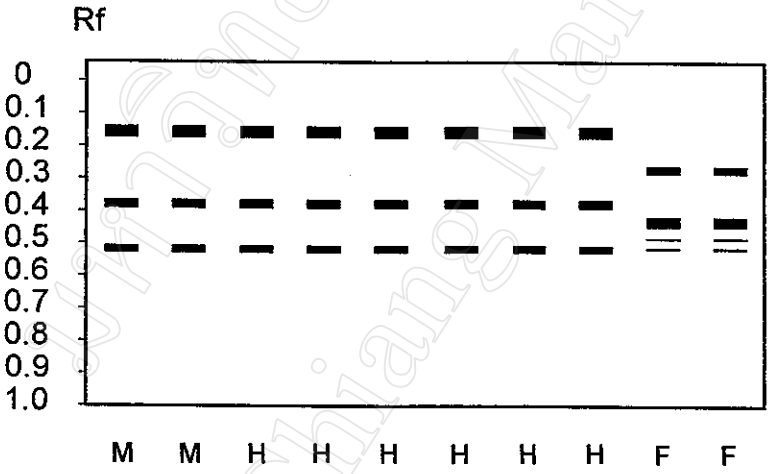


ภาพ 77 รูปแบบ ของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

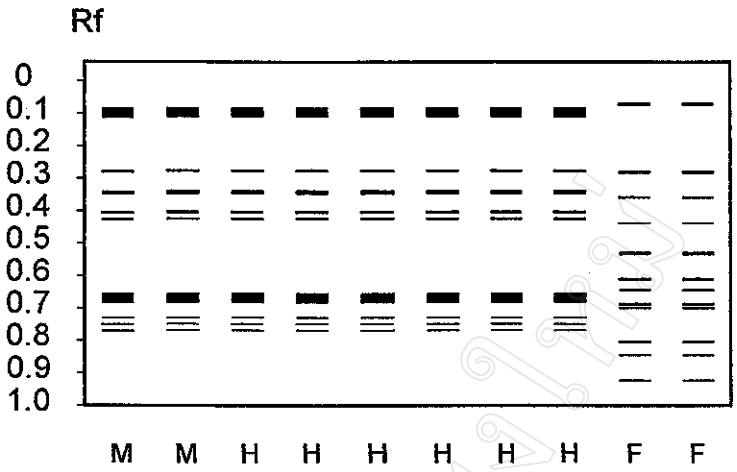


ภาพ 78 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับ ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

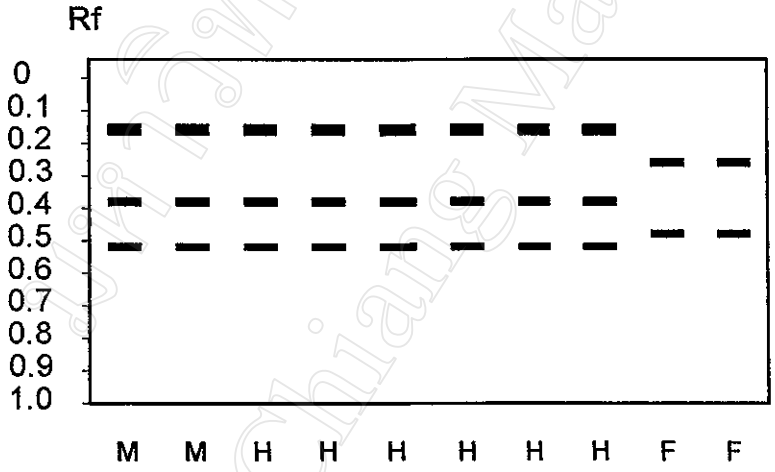


ภาพ 79 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้มเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

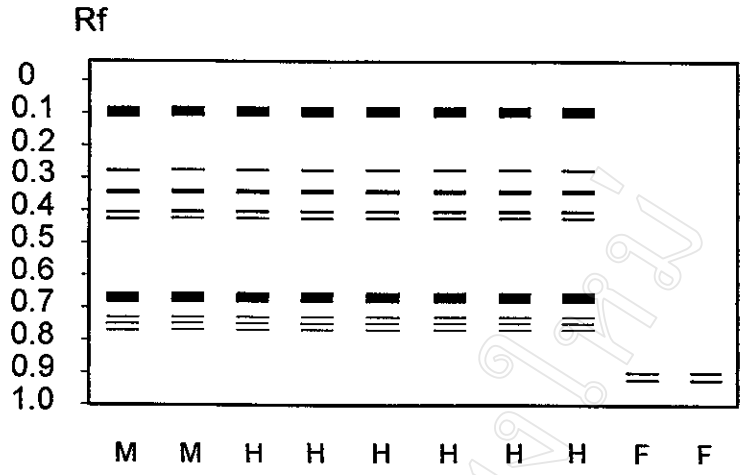


ภาพ 80 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้มเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

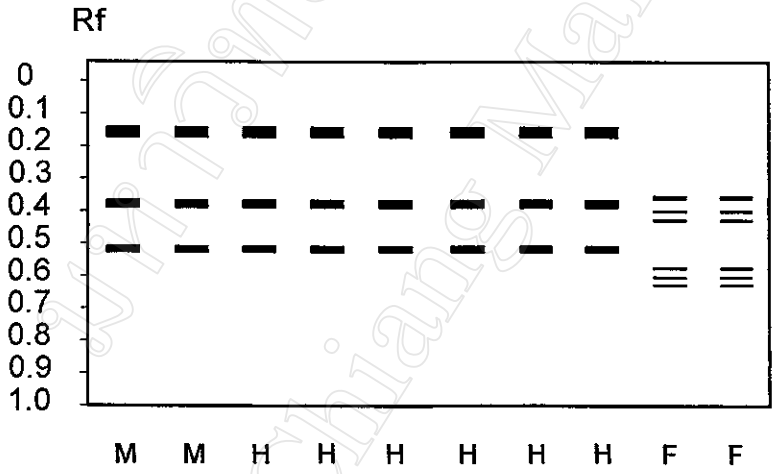


ภาพ 81 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับบัวดินสีชมพูดอกใหญ่เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

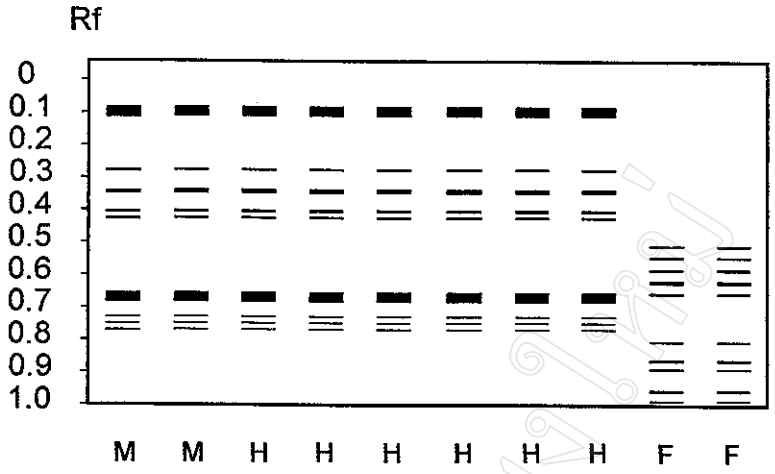


ภาพ 82 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับบัวดินสีชมพูดอกใหญ่เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

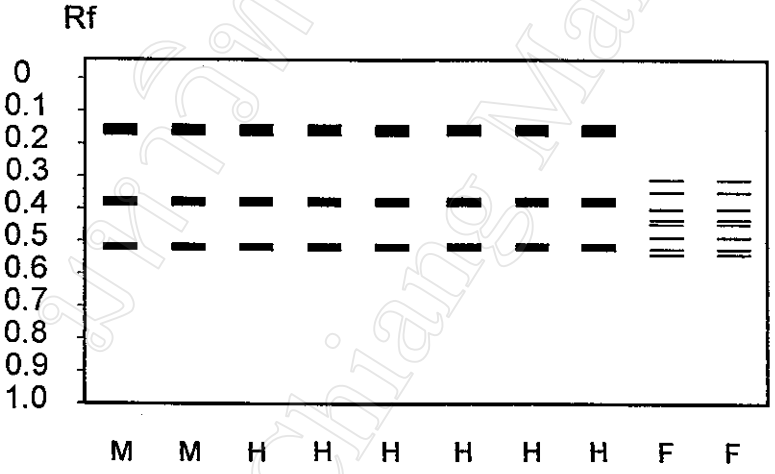


ภาพ 83 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับบัวดินสีชมพูดอกเล็ก เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

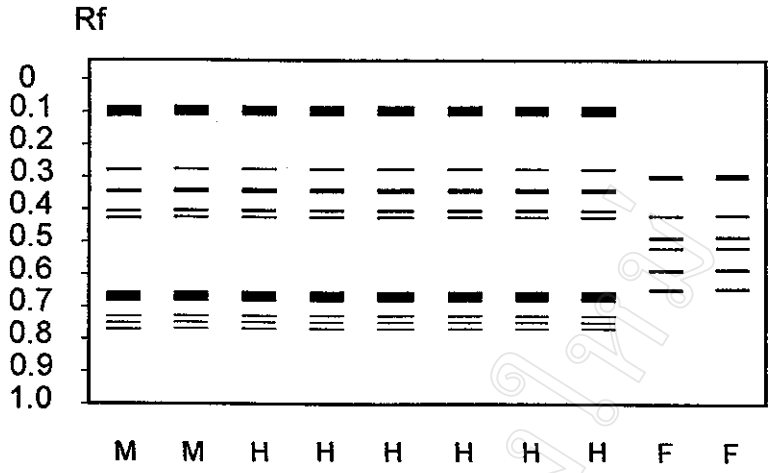


ภาพ 84 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับ บัวดินสีชมพูดอกเล็กเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

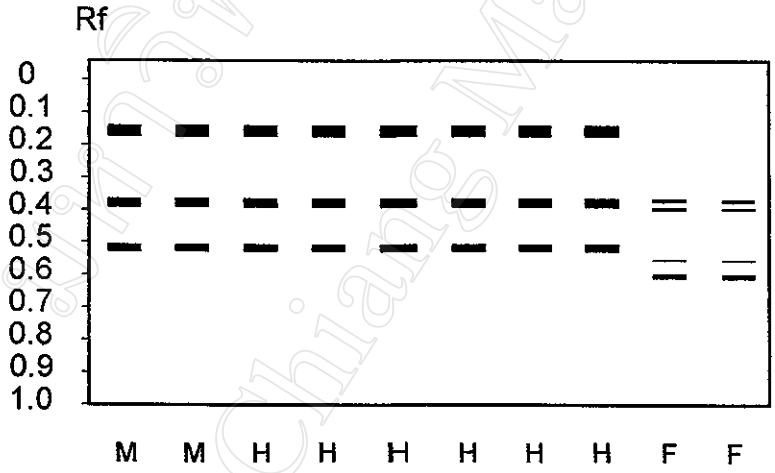


ภาพ 85 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับบัวดินสีเหลืองเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

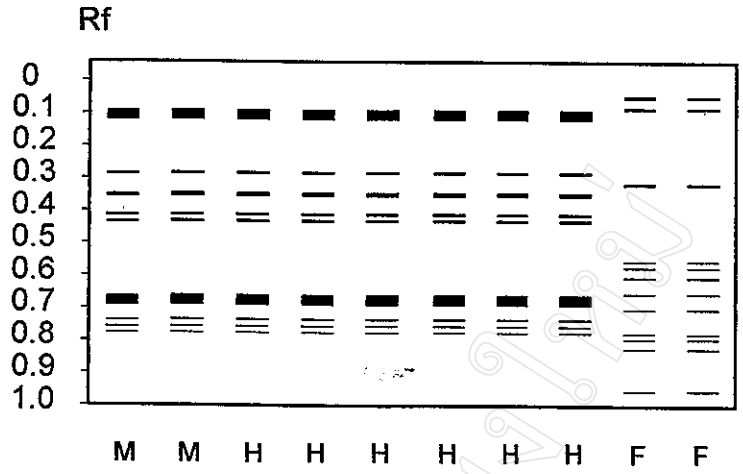


ภาพ 86 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้ม กับบัวดินสีเหลืองเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

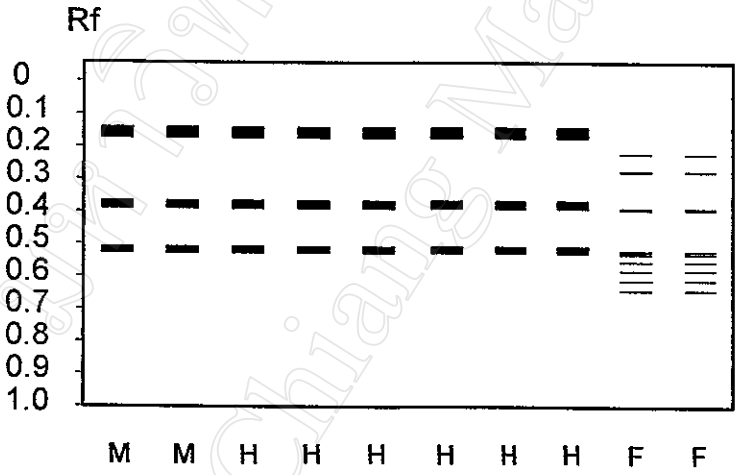


ภาพ 87 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับบัวดินสีเหลืองอ่อนเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ



ภาพ 88 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของคู่ผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับบัวดินสีเหลืองอ่อนเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

H = รูปแบบแถบสีจากใบอ่อนพัฒนาจากเอมบริโอเจนิกแคลลัส

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ

การทดลองที่ 2 ความเข้มข้นของ casein hydrolysate ที่มีผลต่อการเจริญของไข่อ่อนว่านนางคุ้มเมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองนี้ได้ผสมเกสรพืชสี่คู่ผสม คือ ระหว่าง ว่านนางคุ้ม × ว่านแสงอาทิตย์ ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง และ ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม จากนั้นนำไข่อ่อนว่านนางคุ้มที่ตัดออกมาจากรังไข่ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วันหลังการผสมเกสร มาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารวุ้น สูตร MS ที่มีน้ำตาลและวุ้นความเข้มข้น 3 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเติม casein hydrolysate ที่ระดับความเข้มข้น 0, 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลการทดลองพบว่า

2.1 การเลี้ยงไข่อ่อนของว่านนางคุ้ม × ว่านแสงอาทิตย์

2.1.1 เปอร์เซ็นต์การรอดตาย

การทดลองเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่ที่ได้รับการผสมแล้ว อายุ 3, 5, 7 และ 9 วันหลังการผสมเกสร โดยใช้อาหารวุ้นที่มีส่วนประกอบด้วย casein hydrolysate 0, 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไข่อ่อนสามารถเจริญได้ในอาหารอาหารวุ้นสูตร MS ที่ประกอบด้วย casein hydrolysate ทุกระดับความเข้มข้นดังแสดงในตาราง 11

สำหรับผลของ casein hydrolysate ต่อเปอร์เซ็นต์การรอดตายของไข่อ่อนหลังการผสมเกสรพบว่า เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มี casein hydrolysate เลย ไข่อ่อนอายุ 7 และ 9 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายถึง 100 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ไข่อ่อนอายุ 3 และ 5 วัน ให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายเพียง 80 และ 70 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่ม casein hydrolysate เป็น 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ไข่อ่อนอายุน้อยเพียง 5 วัน ก็สามารถรอดตายได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์

2.1.2 จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส

จากตาราง 11 พบว่าการเลี้ยงไข่อ่อนที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน หลังการผสมเกสร ให้จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัสในระยะเวลาดังนี้ คือ ที่ระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate เท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส อยู่ระหว่าง 55.9-60.6 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส จากการใช้ระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ระหว่าง 55.3-60.3 วัน 54.1-58.5 วัน และ 56.1-59.5 วัน ตามลำดับ เมื่อนำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ค่า

แตกต่างความแปรปรวนทางสถิติ พบว่าจำนวนวันเฉลี่ย ซึ่งได้จากไข่อ่อนที่มีอายุหลังการผสมเกสรที่ต่างกัน และความเข้มข้นของ casein hydrolysate ที่ใช้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 11 และตารางภาคผนวก 1)

2.1.3 จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบ

จากตาราง 11 พบว่าการเลี้ยงไข่อ่อน ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน หลังจากการผสมเกสร ทำให้จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบใช้ระยะเวลาดังนี้ คือ จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบเมื่อใช้ casein hydrolysate ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ระหว่าง 84.7-92.7 วัน และเมื่อใช้ความเข้มข้นเท่ากับ 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบจะอยู่ระหว่าง 87.9-90.3 วัน, 86.1-90.3 วัน และ86.6-93.5 วัน ตามลำดับ (ตารางภาคผนวก 2)

ตาราง 11 ผลของ casein hydrolysate และอายุของไข่อ่อนของว่านนางคุ้ม × ว่านแสงอาทิตย์ หลังการผสมเกสร ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การรอดตาย จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส และ จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ

casein hydrolysate (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อายุไข่อ่อนหลังการผสมเกสร (วัน)	เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ
0	3	80	57.2	88.3
	5	70	59.9	84.7
	7	100	55.9	88.5
	9	90	60.6	92.7
100	3	85	56.1	90.2
	5	100	55.3	88.2
	7	50	60.3	90.3
	9	90	58.3	87.9
250	3	100	57.8	90.3
	5	100	54.1	86.1
	7	90	58.5	88.0
	9	70	57.7	87.3

ตาราง 11 (ต่อ)

casein hydrolysate (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อายุไข่อ่อนหลังการผสมเกสร (วัน)	เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ
500	3	90	57.8	86.6
	5	100	59.5	90.9
	7	80	58.3	93.5
	9	100	56.1	88.6
			NS	NS

หมายเหตุ NS = ค่าเฉลี่ยไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

2.2 การเลี้ยงไข่อ่อนจากการผสมของว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู

2.2.1 เปอร์เซ็นต์การรอดตาย

การทดลองเลี้ยงไข่อ่อนที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน หลังจากการผสมเกสร โดยใช้อาหารวุ้นสูตร MS ที่มีส่วนประกอบดังกล่าวข้างต้น พบว่าไข่อ่อนสามารถเจริญได้บนอาหารที่ประกอบด้วย casein hydrolysate ทุกระดับความเข้มข้นดังแสดงในตาราง 12

2.2.2 จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส

จากตาราง 12 พบว่าการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน ให้จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส ในระยะเวลาดังนี้ คือ ที่ระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate เท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส อยู่ระหว่าง 54.7-57.7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส จากการใช้ระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ระหว่าง 55.6-60.3 วัน, 54.4-60.0 วัน และ 50.5-59.3 วัน ตามลำดับ เมื่อนำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ค่าแตกต่างความแปรปรวนทางสถิติ พบว่า จำนวนวันเฉลี่ย ซึ่งได้จากอายุไข่อ่อนหลังการผสมเกสรที่ต่างกัน และความเข้มข้นของ casein hydrolysate ที่ใช้ไม่มีผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 12 และตารางภาคผนวก 3)

2.2.3 จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบ

จากตาราง 12 พบว่าการเลี้ยงไข่อ่อน ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน หลังการผสมเกสร ทำให้จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบใช้ระยะเวลาดังนี้ คือ จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบเมื่อใช้ casein hydrolysate ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ระหว่าง 83.0-87.9 วัน และเมื่อใช้ความเข้มข้น 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบจะอยู่ระหว่าง 86.5-87.7 วัน, 80.4-89.4 วัน และ 81.5-93.2 วัน ตามลำดับ ค่าความแตกต่างดังกล่าว เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าแตกต่างความแปรปรวนทางสถิติ พบว่า อายุไข่อ่อนหลังการผสม และ ความเข้มข้นของ casein hydrolysate ที่ใช้ไม่มีผลที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวก 4)

ตาราง 12 ผลของ casein hydrolysate และอายุของไข่อ่อนของว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู หลังการผสมเกสร ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การรอดตาย จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส และ จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ

casein hydrolysate (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อายุ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ
0	3	90	54.7	83
	5	100	57.7	84.6
	7	80	57.5	84.9
	9	70	55.7	87.9
100	3	70	60.3	87.7
	5	100	55.6	87.4
	7	80	59.7	86.5
	9	100	57.2	86.7
250	3	100	54.4	80.4
	5	90	60.0	87.6
	7	100	56.8	83.0
	9	70	57.0	89.4

ตาราง 12 (ต่อ)

casein hydrolysate (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อายุ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ
500	3	60	55.6	81.5
	5	100	50.5	83.5
	7	100	59.3	93.2
	9	80	54.7	81.6
			NS	NS

หมายเหตุ NS = ค่าเฉลี่ยไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

2.3 การเลี้ยงไข่อ่อน (young ovule) ของว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง

2.3.1 เปอร์เซ็นต์การรอดตาย

การทดลองเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน โดยใช้อาหารวุ้นที่มีส่วนประกอบข้างต้น พบว่าไข่อ่อนสามารถเจริญได้ในอาหารอาหารวุ้นที่ประกอบด้วย casein hydrolysate ทุกระดับความเข้มข้นดังแสดงในตาราง 13

2.3.2 จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส

จากตาราง 13 พบว่าการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน ให้จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส ใช้ระยะเวลาดังนี้ คือ ที่ระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate เท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส อยู่ระหว่าง 56.9-60.9 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส ที่ระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate เท่ากับ 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ระหว่าง 51.6-68.1 วัน, 49.4-65.3 วัน และ 55.0-58.7 วัน ตามลำดับ แต่เมื่อนำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ พบว่าจำนวนวันเฉลี่ย ซึ่งได้จากอายุไข่อ่อนหลังการผสมเกสรที่ต่างกันและความเข้มข้นของ casein hydrolysate ที่ใช้ ไม่มีผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวก 5)

2.3.3 จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบ

จากตาราง 13 พบว่าการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน ทำให้จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบใช้ระยะเวลาดังนี้ คือ จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบเมื่อใช้ casein hydrolysate ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ระหว่าง 86.2-90.5 วัน ความเข้มข้นของ 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบจะอยู่ระหว่าง 81.9-99.3 วัน, 75.5-95.5 วัน และ 82.2-91.0 วัน ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าแตกต่างความแปรปรวนทางสถิติ พบว่า อายุไข่อ่อนหลังการผสม และ ความเข้มข้นของ casein hydrolysate ที่ใช้ไม่มีผลที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 13 และตารางภาคผนวก 6)

ตาราง 13 ผลของ casein hydrolysate และอายุไข่อ่อนของว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง หลังการผสมเกสรที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การรอดตาย จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส และ จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ

casein hydrolysate (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อายุ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ
0	3	100	56.4	88.2
	5	60	58.9	86.2
	7	70	60.9	90.5
	9	70	56.9	89.4
100	3	90	51.6	81.9
	5	60	68.1	99.3
	7	100	60.4	88.6
	9	80	62.1	89.6
250	3	90	57.2	90.7
	5	80	49.4	75.5
	7	100	65.3	95.5
	9	100	51.8	88.6

ตาราง 13 (ต่อ)

casein hydrolysate (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อายุ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ
500	3	80	55.8	82.2
	5	90	58.7	87.2
	7	100	58.0	91.0
	9	100	55.0	84.0
			NS	NS

หมายเหตุ NS = ค่าเฉลี่ยไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

2.4 การเลี้ยงไข่อ่อนจากการผสมว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม

2.4.1 เปอร์เซ็นต์การรอดตาย

การทดลองเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน หลังจากการผสมเกสร โดยใช้อาหารวุ้นที่มีส่วนประกอบดังกล่าวข้างต้น พบว่าไข่อ่อนสามารถเจริญได้บนอาหารอาหารวุ้นที่ประกอบด้วย casein hydrolysate ทุกระดับความเข้มข้นดังแสดงในตาราง 14

2.4.2 จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส

จากตาราง 14 พบว่าการเลี้ยงไข่อ่อนที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน ให้จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส ในระยะเวลาดังนี้ คือ ที่ระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate เท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส อยู่ระหว่าง 54.5-59.2 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส ที่ระดับความเข้มข้นของ casein hydrolysate 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ระหว่าง 53.3-60.1 วัน, 59.7-63.1 วัน และ 55.7-62.7 วัน ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าแตกต่างความแปรปรวนทางสถิติ พบว่า จำนวนวันเฉลี่ยซึ่งได้จากอายุไข่อ่อนหลังการผสมเกสรที่ต่างกันและความเข้มข้นของ casein hydrolysate ที่ใช้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 14 และตารางภาคผนวก 7)

2.4.3 จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบ

จากตาราง 14 พบว่าการเลี้ยงไข่อ่อน ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน หลังจากการผสมเกสร ทำให้จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบในระยะเวลาดังนี้ คือ จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดใบเมื่อใช้ casein hydrolysate ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ระหว่าง 87.9-96.6 วัน และเมื่อใช้ความเข้มข้น 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบจะอยู่ระหว่าง 88.6-94.1 วัน, 88.7-96.3 วัน และ88.9-93.6 วัน ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าแตกต่างความแปรปรวนทางสถิติ พบว่า อายุไข่อ่อนหลังการผสม และ ความเข้มข้นของ casein hydrolysate ที่ใช้ไม่มีผลที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 14 และตารางภาคผนวก 8)

ตาราง 14 ผลของ casein hydrolysate และอายุไข่อ่อนของว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม หลังการผสมเกสร ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การรอดตาย จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิด เอมบริโอเจนิกแคลลัส และ จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ

casein hydrolysate (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อายุ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ
0	3	90	54.5	89.0
	5	100	58.4	93.9
	7	100	59.2	87.9
	9	80	55.3	96.6
100	3	100	60.1	92.0
	5	60	53.3	88.6
	7	100	57.7	94.1
	9	100	55.7	89.1
250	3	60	63.1	96.3
	5	100	61.1	88.7
	7	100	59.7	95.8
	9	90	60.4	94.2

ตาราง 14 (ต่อ)

casein hydrolysate (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อายุ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดใบ
500	3	100	58.7	90.9
	5	80	55.7	88.9
	7	70	58.3	89.9
	9	100	62.7	93.6
			NS	NS

หมายเหตุ NS = ค่าเฉลี่ยไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

2.5 การเกิดเอมบริโอเจนิกแคลลัส จากการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสรและการพัฒนาเป็นต้นพืชภะเทียม

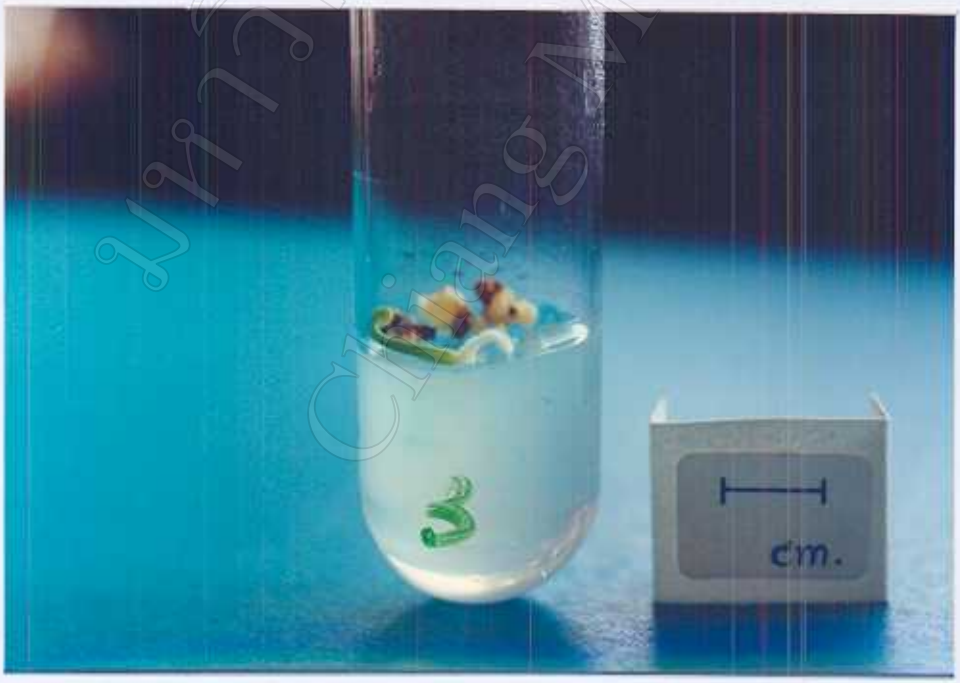
คู่ผสมทั้งสี่คู่ในการทดลองนี้ เมื่อนำไข่อ่อนจากรังไข่ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วันหลังการผสมเกสร มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ และเติม casein hydrolysate 0, 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ทุกคู่ผสมให้ต้นพืชที่มีรูปแบบการเกิดผ่านเอมบริโอเจนิกแคลลัส ที่พัฒนาออกมาจากภายในไข่อ่อน เมื่อเอมบริโอเจนิกแคลลัสซึ่งมีสีขาวครีม ผิวไม่เรียบ โผล่พ้นไข่อ่อนออกมาจำนวนหนึ่ง ไข่อ่อนนั้นจะเหลือเพียงเปลือกหุ้มไข่อ่อนเท่านั้น ระยะนี้สังเกตเห็นด้วยตาเปล่าเมื่อเลี้ยงไว้นาน 57 วัน เอมบริโอเจนิกแคลลัสนี้มีส่วนที่พัฒนาเป็นโครงสร้างที่มีผิวเรียบขึ้นและบางส่วนพัฒนาต่อเป็นต้นอ่อน (plantlet) ซึ่งมียอดและรากสมบูรณ์ และสามารถเขี่ยต้นอ่อนให้หลุดจากเอมบริโอเจนิกแคลลัสเดิมได้ง่าย

ภาพ 89 ไข่อ่อนจากรังไข่ของว่านนางคุ้ม × ว่านแสงอาทิตย์ เมื่อเริ่มเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม casein hydrolysate 250 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาพ 90 เปลือกหุ้มไข่อ่อนจากรังไข่ของว่านนางคุ้ม × ว่านแสงอาทิตย์ แตกออกและเอมบริโอเจนิกแคลลัสเจริญออกมาภายนอก อายุ 68 วันหลังการเลี้ยง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาพ 91. เอมบริโอเจนิกแคลลัส จากคู่ผสมว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง ในระยะที่เกิดโครงสร้างผิวเรียบ ซึ่งกำลังจะพัฒนาไปเป็นต้นพืช อายุ 82 วันหลังการเลี้ยง



ภาพ 92 เอมบริโอเจนิกแคลลัส จากว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม พัฒนาไปเป็นต้นอ่อนอายุ 141 วัน หลังการเลี้ยง

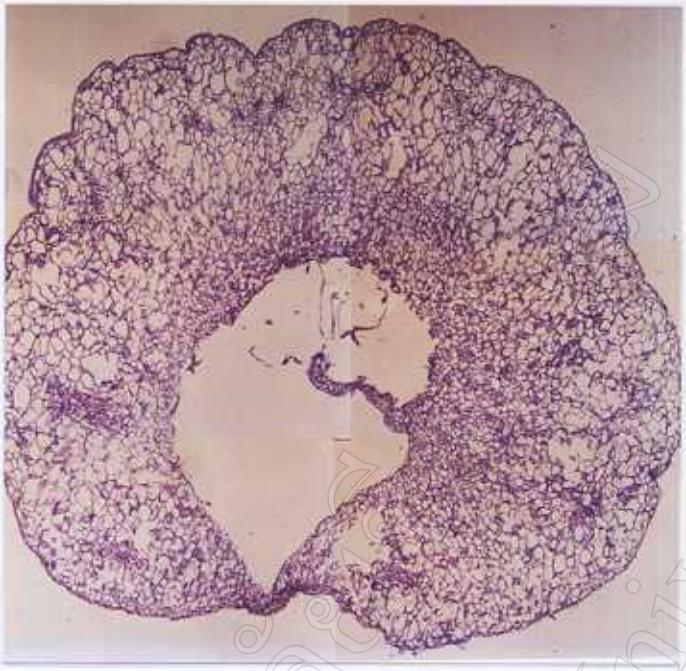
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา เพื่อหาเหตุผลสนับสนุนว่า ทำไมไข่อ่อนที่ได้จากการผสมเกสรแล้ว เมื่อนำมาเลี้ยงจึงเกิดใบที่ให้รูปแบบแถบสีไอโซไซม์ของต้นแม่เท่านั้น พบว่า เมื่อนำไข่อ่อนที่ได้รับการผสมเกสรแล้วจากว่านนางคุ้ม × ว่านแสงอาทิตย์ ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองส้ม อายุ 3, 5, 7 และ 9 วันหลังจากผสมเกสร มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นที่มีส่วนผสมดังกล่าวข้างต้นเป็นเวลานาน 14 วัน พบว่า เมื่อนำมาตัดตามขวางในช่องของไข่อ่อนนั้นว่างเปล่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญและพัฒนาของคัพภะหลังการผสมเกสรแล้ว แต่พบเพียงชั้นของเนื้อเยื่อที่มีเซลล์เรียงตัวเห็นได้ชัดและมีกลุ่มเซลล์คล้ายท่อลำเลียงกระจายอยู่ทั่วไป (ภาพ 93)

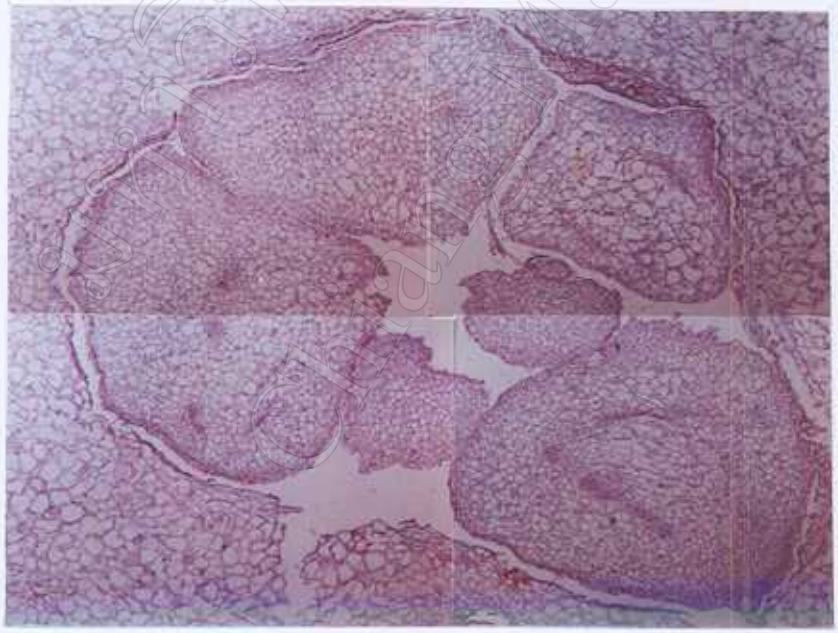
เนื้อเยื่อนี้หากเลี้ยงบนอาหารวุ้นต่อไปนาน 8 สัปดาห์หลังการเลี้ยง พบว่าเกิดกลุ่มเซลล์ที่แต่ละกลุ่มที่ขอบเขตแน่ชัดไม่เชื่อมติดกัน มีขนาดแต่ละกลุ่มแตกต่างกัน กลุ่มที่มีขนาดเล็กกว่ามีลักษณะคล้ายคัภพะเทียมที่อยู่ในระยะ globular และบางกลุ่มมีขนาดใหญ่กว่ามีลักษณะคล้ายกำลังอยู่ในระยะ heart shape ส่วนกลุ่มที่ใหญ่สุดเริ่มเกิดปลายแหลม (ภาพ 94)

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาเพื่อหาจุดเริ่มต้น ของโครงสร้างคล้ายคัพภะเทียมเหล่านี้ พบว่าการแบ่งเซลล์ซึ่งเป็นจุดกำเนิดของคัพภะเทียม (pro embryo) ปรากฏให้เห็นที่เซลล์ผิวของช่องไข่อ่อน (ภาพ 95 ก)จากการเลี้ยงรังไข่ที่มีการผสมเกสรแล้ว ระหว่างว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสี่แดงและมีอายุฝัก 3 วัน เมื่อเลี้ยงนาน 3 สัปดาห์ พบว่ามีคัพภะเทียมเกิดในระยะต่าง ๆ ตั้งแต่ระยะเริ่มแบ่งเซลล์ และที่พัฒนาเป็นระยะ heart shape แล้ว (ภาพ 95 ข)

โครงสร้างของกลุ่มเซลล์ดังกล่าวตรวจพบทั้งระยะเริ่มแบ่งเซลล์เพื่อผลิตคัพภะเทียมในระยะ early globular และ ระยะ heart shape (ภาพ 95) ในกลุ่มแซลทั้ง 2 ระยะพบเซลล์ที่ตื่นตัว (actived) คือ เซลล์มีขนาดเล็ก นิวเคลียสใหญ่และย้อมติดสีเข้มกว่าเซลล์อื่น

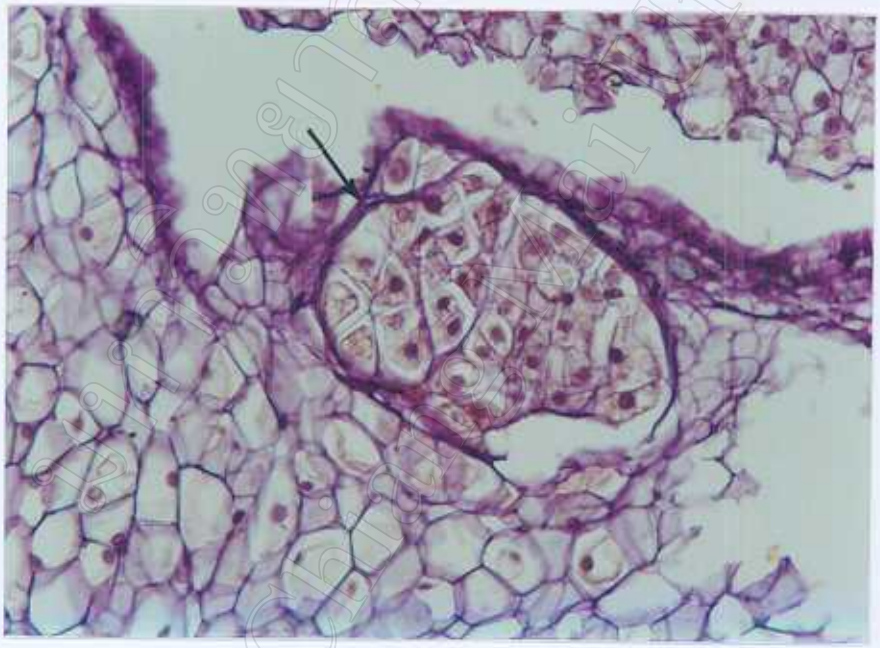


ภาพ 93 ไข่อ่อนจากคู่ผสมว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู หลังการผสมแกสร 5 วัน เลี้ยงบนอาหารวุ้นนาน 14 วัน (ภาพตัดขวาง, 24×)



ภาพ 94 ก้อนเนื้อเยื่อขนาด และระยะการพัฒนาที่ต่างกันซึ่งเกิดขึ้นภายในไข่อ่อนของว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม เมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้น นาน 8 สัปดาห์ (ภาพตัดขวาง, 24×)

(ก)



(ข)

ภาพ 95 จุดเริ่มต้นการกำเนิดคัพภะเทียมจากเซลล์ผิวภายในช่องว่างของไข่อ่อนหลังการผสมเกสร ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง ที่ไม่ปรากฏคัพภะจริง

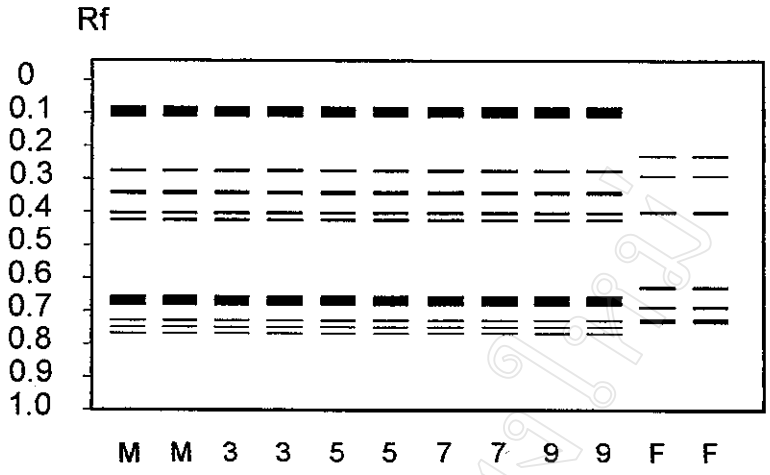
(ก) ระยะเริ่มแบ่งเซลล์เพื่อสร้างคัพภะเทียมระยะ early lobular (ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง (ภาพตัดขวาง, 471×)

(ข) คัพภะเทียมระยะ heart shaped (ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง) (ภาพตัดขวาง, 471×)

2.6 การเปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนที่ได้จากการเลี้ยงไข่อ่อนของรังไข่หลังการผสมเกสร อายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ กับไอโซไซม์จากใบอ่อนของต้นพ่อและแม่

จากการที่รูปแบบของแถบสีไอโซไซม์ EST และ GOT ของไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสรอายุ 5 วัน แสดงจำนวนและรูปแบบแถบสีของลูกผสมคู่ต่าง ๆ ที่มีว่านนางคุ้มเป็นแม่เหมือนกับของต้นแม่โดยไม่ปรากฏแถบสีที่แตกต่างของต้นพ่อเลยและไข่อ่อนจากรังไข่ดังกล่าวก็ไม่ปรากฏคัพภะอยู่ จึงได้ทำการหาข้อมูลการเลี้ยงไข่อ่อนหลังการผสมเกสรที่มีอายุ น้อย และมากกว่า 5 วัน พบว่าเมื่อนำไข่อ่อนจากรังไข่ที่มีอายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน หลังการผสมเกสรไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตรเดิมแต่เพิ่ม casein hydrolysate จาก 300 เป็น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าจำนวนและรูปแบบไอโซไซม์จากใบอ่อนที่พัฒนาผ่านคัพภะเทียมของคู่ผสมทั้งสี่คู่ คือ ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู ว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง และว่านนางคุ้ม × ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม แสดงรูปแบบแถบสีเหมือนกับรูปแบบแถบสีของต้นแม่จากอายุของไข่อ่อน (ภาพ 96-103 และภาพผนวก 20-23)

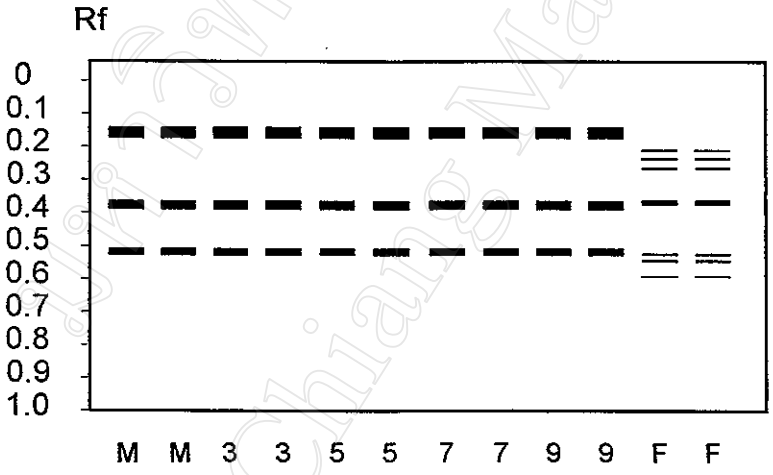
โดยสรุปไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสม 3, 5, 7 และ 9 วัน เมื่อนำมาเลี้ยงในสภาพให้ต้นที่แสดงแถบสีของไอโซไซม์ EST และ GOT ของต้นแม่เพียงอย่างเดียว เหมือนกันทั้ง 4 คู่ผสม



ภาพ 96 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของลูกผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับว่านแสงอาทิตย์ ที่ได้จากการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร 3, 5, 7 และ 9 วัน เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

หมายเหตุ M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

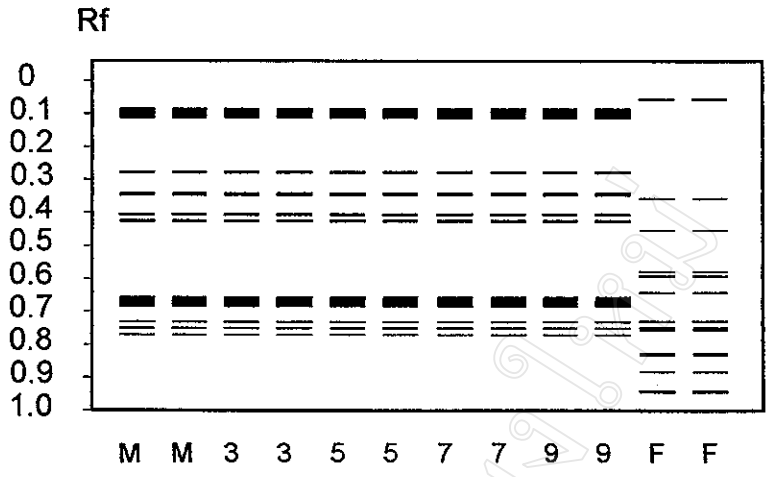
F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ



ภาพ 97 รูปแบบ ของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของลูกผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับว่านแสงอาทิตย์ ที่ได้จากการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร 3, 5, 7 และ 9 วัน เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

หมายเหตุ M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

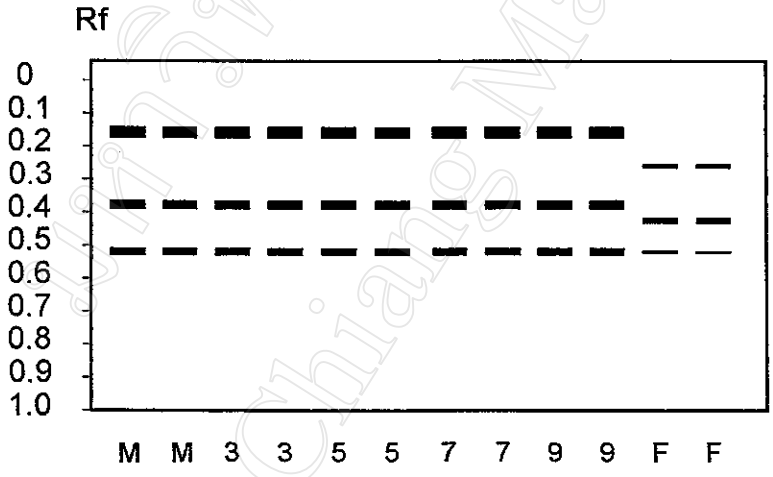
F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ



ภาพ 98 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของลูกผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู ที่ได้จากการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร 3, 5, 7 และ 9 วันเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

หมายเหตุ M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

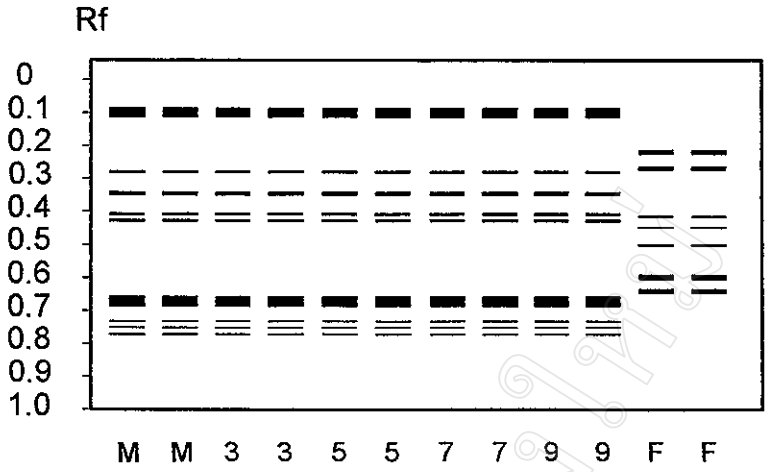
F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ



ภาพ 99 รูปแบบ ของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของลูกผสมระหว่าง ว่านนางคุ้มกับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู ที่ได้จากการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร 3, 5, 7 และ 9 วันเปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

หมายเหตุ M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

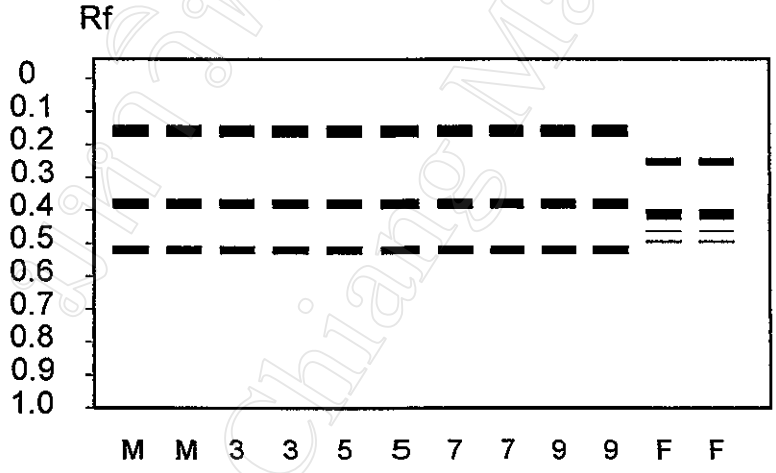
F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ



ภาพ 100 รูปแบบของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของลูกผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง ที่ได้จากการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร 3, 5, 7 และ 9 วัน เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

หมายเหตุ M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

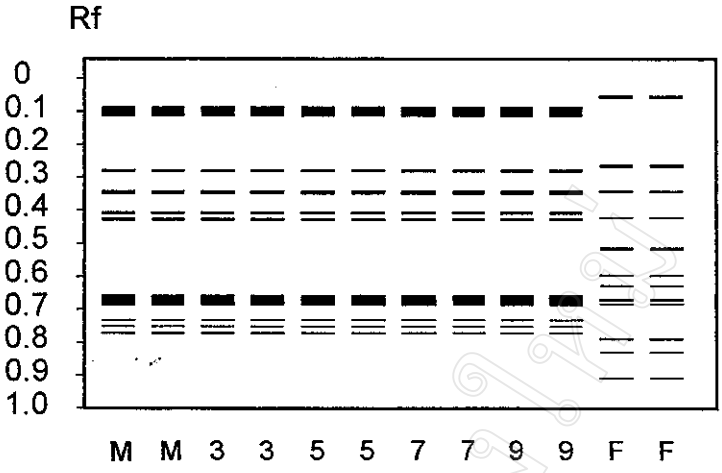
F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ



ภาพ 101 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของลูกผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง ที่ได้จากการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร 3, 5, 7 และ 9 วัน เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

หมายเหตุ M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

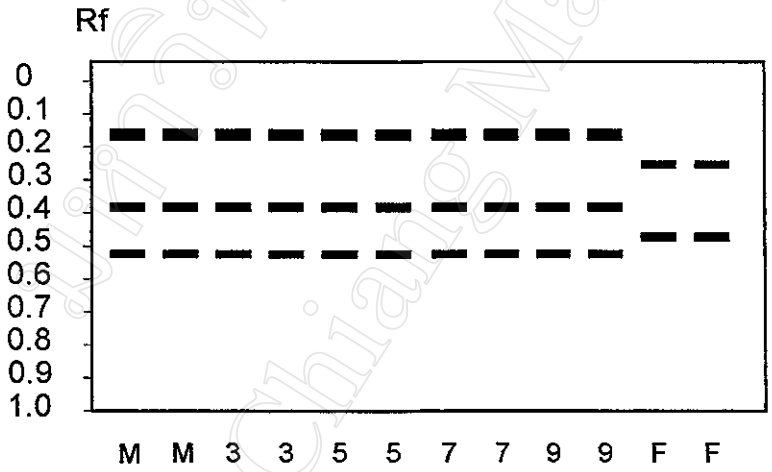
F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ



ภาพ 102 รูปแบบ ของไอโซไซม์ EST จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของลูกผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม ที่ได้จากการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร 3, 5, 7 และ 9 วัน เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

หมายเหตุ M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ



ภาพ 103 รูปแบบของไอโซไซม์ GOT จากเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของลูกผสมระหว่างว่านนางคุ้มกับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม ที่ได้จากการเลี้ยงไข่อ่อนจากรังไข่หลังการผสมเกสร 3, 5, 7 และ 9 วัน เปรียบเทียบกับต้นแม่และพ่อ

หมายเหตุ M = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นแม่

F = รูปแบบแถบสีจากใบเริ่มคลี่ของต้นพ่อ