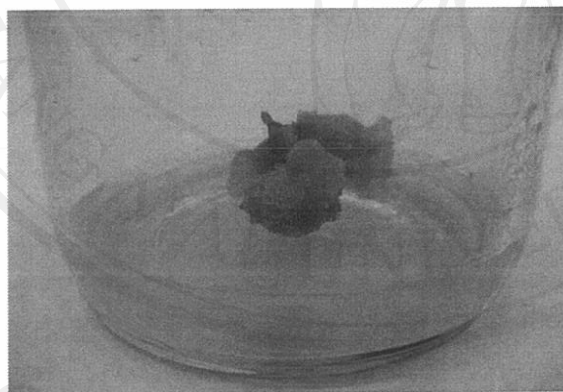


บทที่ 4

ผลการทดลอง

การผลิตเมล็ดสังเคราะห์ของพริกหวาน

การชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเลี้ยงไซโกติกเอมบริโอที่แก่แล้วของเมล็ดพริกหวาน บนอาหาร MS สูตรชักนำให้เกิดแคลลัส (MS + 2,4-D 2 มก./ล.) ในสภาพมีแสง 16 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 ± 2 °C พบว่าประมาณ 1 สัปดาห์หลังจากการเลี้ยงบนอาหาร สูตรชักนำให้เกิดแคลลัส ไซโกติกเอมบริโอของพริกหวานจะพองตัว และหลังจากนั้น 2-3 สัปดาห์จะเริ่มเกิดแคลลัส โดยแคลลัสที่พบจะพบใน 4 ลักษณะคือ คือแคลลัสที่มีลักษณะสีขาวนํ้า (watery), สีน้ำตาลลักษณะร่วน (friable) ซึ่งเป็นแคลลัสชนิด non-embryogenic callus สำหรับแคลลัสชนิด embryogenic callus จะมีลักษณะเป็นสีเขียวเกาะกันแน่น (green-compact) และอีกชนิดเป็นแคลลัสที่มีลักษณะเป็นปม (nodular) สีออกเหลืองสามารถแยกออกจากกันได้โดยง่าย ซึ่งเป็นลักษณะของ high embryogenic frequency (ภาพที่ 1)

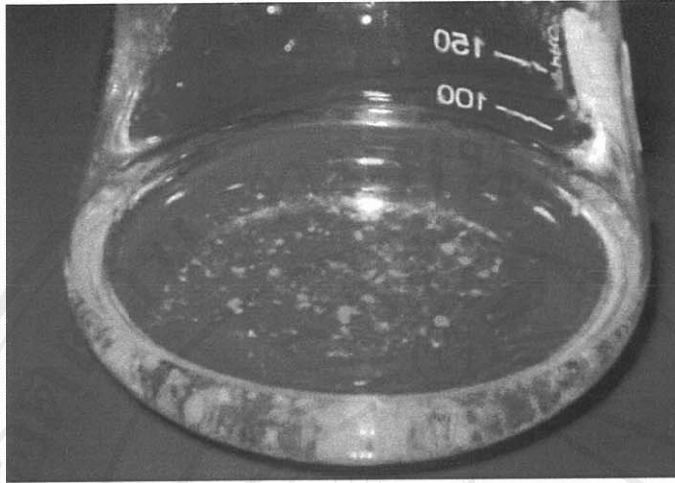


ภาพที่ 1 ลักษณะของเอมบริโอเจนิคแคลลัสที่มีลักษณะเป็นปม (nodular) สีออกเหลืองของพริกหวานอายุ 45 วัน ที่ได้จากเลี้ยงไซโกติกเอมบริโอที่แก่เต็มที่ในอาหาร สูตรชักนำให้เกิดแคลลัส

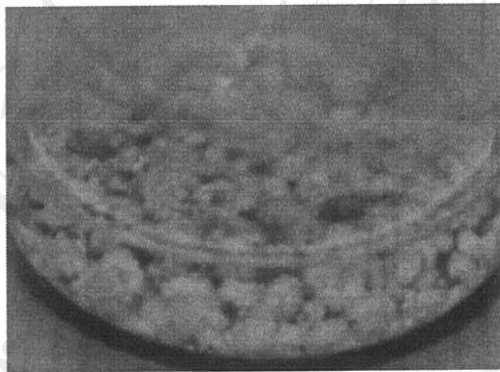
พบว่ามีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของอาหารที่ใช้เลี้ยงแคลลัส เนื่องจากการที่เนื้อเยื่อพืชปล่อยสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ออกมา ถ้าไม่ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่จะทำให้เนื้อเยื่อแคลลัส และอาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (browning) และแคลลัสจะตายในที่สุด การเพิ่มความถี่ของการเปลี่ยนอาหาร จะช่วยลดการเกิดการสะสมของสารประกอบฟีนอลิกได้

การเลี้ยงเซลล์แขวนลอย (suspension culture) ของพริกหวานทำได้โดยการนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่มีสีเหลืองซึ่งเป็นลักษณะของ high embryogenic frequency มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ดัดแปลงโดย Buyukalaca และ Mavituna (1996) สำหรับเลี้ยงเซลล์แขวนลอย (MS+ 2, 4-D 1 มก./ล.) เมื่อทำการย้ายเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสของพริกหวานไปเลี้ยงในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่า ในสภาพมีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 °C เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ จะพบว่าก้อนแคลลัสจะแตกออกเป็นชิ้นเล็กๆ และเมื่อเลี้ยงต่อมาจะพบการแยกตัวของกลุ่มเซลล์เดี่ยวๆ หรือกลุ่มเซลล์เล็กๆ เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสังเกตจากอาหารเหลวเริ่มขุ่นขึ้น การเปลี่ยนอาหารสามารถทำได้โดยวิธีการใช้ปิเปตต์ปากกว้าง ควบเซลล์แขวนลอยบริเวณส่วนกลางของเซลล์แขวนลอย ภายหลังจากการเขย่าขวดแก้ว แล้วทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 5 วินาที ภายหลังจากการย้ายเซลล์แขวนลอย ด้วยวิธีการนี้จะได้เซลล์แขวนลอยที่มีลักษณะเป็น homogeneous cell suspension ซึ่งมีลักษณะของเซลล์ที่เป็นกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กเกาะกันแน่น มีไซโตพลาสซึมและนิวเคลียสเห็นได้ชัดเจน มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 2)

การชักนำให้เซลล์แขวนลอยที่มีลักษณะเป็น homogeneous cell suspension พัฒนาไปเป็นโซมาติกเอ็มบริโอ ทำได้โดยการนำ homogeneous cell suspension ไปทำการ pretreatment ในอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่มี KNO_3 และเติม 2, 4-D ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ K-citrate ความเข้มข้น 6 มก./ล. เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าเซลล์เดี่ยวมีการเพิ่มขนาดและมีสีเข้มขึ้น จากนั้นจึงย้ายเซลล์เดี่ยวไปเลี้ยงในอาหารเหลว MS สูตรชักนำให้เกิดเอ็มบริโอซึ่งลดปริมาณของ NH_4NO_3 ลงเหลือ 10 mM และเติม L-proline ความเข้มข้น 6 ก./ล. เพื่อชักนำให้ embryogenic callus พัฒนาไปเป็น embryo เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าเซลล์มีการพัฒนารูปร่างจากเซลล์เดี่ยวไปเป็น globular shape, heart shape และ torpedo shape ตามลำดับ (ภาพที่ 3)



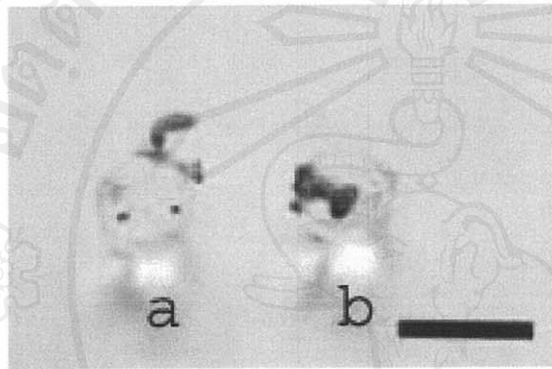
ภาพที่ 2 ลักษณะของกลุ่มเซลล์เดี่ยวหลังจากเลี้ยงเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสของ
พริกหวานในอาหารเหลว MS สูตรสำหรับเลี้ยงเซลล์แขวนลอยบน
เครื่องเขย่าเป็นเวลา 20 วัน



ภาพที่ 3 ลักษณะของ embryogenic callus ที่มีการพัฒนาเป็นรูปร่างจาก globular
shape จนถึง torpedo shape หลังจากเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิด
การพัฒนาไปเป็น เป็นเวลา 18 วัน

เมื่อไซมาติกเอ็มบริโอของพริกหวานพัฒนาเข้าสู่ระยะ late torpedo นำไซมาติก
เอ็มบริโอมาเลี้ยงในอาหารเหลว MS สูตรพัฒนาเอ็มบริโอให้สุกแก่เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์
แล้วจึงนำมากรองบนตะแกรงสแตนเลสขนาด 0.3 มม. แล้วจึงย้ายไปทำการแขวนลอยใน

สารละลาย sodium alginate โดยใช้หลอดหยดปากกว้างที่ทำการตัดปลายให้มีขนาด 3 มม. ดูดเอาโซมาติกเอมบริโอ หยดลงในสารละลาย calcium chloride ที่ใช้ magnetic stirrer คน ที่ความเร็วปานกลางโดยให้แต่ละหยดบรรจุหนึ่งโซมาติกเอมบริโอ ทิ้งไว้ 15-30 นาที จะ เกิดเป็นcalcium alginate ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง sodium alginate และcalcium chloride ทำหน้าที่ในการปกป้อง โซมาติกเอมบริโอเสมือนเป็นเปลือกหุ้มเมล็ดเหมือนเมล็ดในธรรมชาติ ทิ้งไว้ให้เกิดเป็นเจล กลม ใส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-5 มม. (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4

ลักษณะของเมล็ดสังเคราะห์ของพริกหวานที่ได้จากการนำโซมาติกเอมบริโอมาเคลือบด้วยสารอัลจินต

การทดลองที่ 1 :ผลของความเข้มข้นของ sodium alginate และcalcium chloride ต่อความงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวาน ความแข็งแรง และความอยู่ตัวของเจลที่ใช้เคลือบเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำเมล็ดสังเคราะห์ไประเหยน้ำออกด้วยซิลิกาเจล จนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์

1.1 ผลของความเข้มข้นของ sodium alginate และcalcium chloride ต่อความงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวาน

หลังจากทำการเคลือบเมล็ดสังเคราะห์ของพริกหวานที่ความเข้มข้นต่างๆของ sodium alginate และความเข้มข้นของ calcium chloride แล้วนำไประเหยน้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิลิกาเจล จนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารMS ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ (ตาราง1)

ที่ความเข้มข้น sodium alginate 2 %w/v และความเข้มข้นของ calcium chloride 25, 50 และ 75 mM เมล็ดสังเคราะห์มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกในระดับปานกลาง คือ 53, 43 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของ calcium chloride เป็น 100 mM จะส่งผลให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกจะลดลงเหลือเพียง 33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ sodium alginate เป็น 3 %w/v และความเข้มข้นของ calcium chloride 25, 50 และ 75 mM เมล็ดสังเคราะห์มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด คือ 70 และ 87 เปอร์เซ็นต์ อีกเช่นกันขณะที่เพิ่มความเข้มข้นของ calcium chloride เป็น 100 mM จะส่งผลให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงอย่างชัดเจนเหลือเพียง 46 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้นของ sodium alginate เป็น 4 %w/v และความเข้มข้นของ calcium chloride 25, 50 และ 75 mM เมล็ดสังเคราะห์มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกใกล้เคียงกับความเข้มข้น sodium alginate 2 %w/v คือ 63, 50 และ 67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ที่ระดับความเข้มข้นของ calcium chloride เป็น 100 mM มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอก ลดลงเหลือเพียง 30 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้น sodium alginate เป็น 5 %w/v และความเข้มข้นของ calcium chloride 25, 50, 75 และ 100 mM เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสังเคราะห์ลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเพียง 13, 16, 23 และ 13 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้น sodium alginate เป็น 6 %w/v เมล็ดสังเคราะห์จะไม่มีการงอกเกิดขึ้นภายในระยะเวลา 1 สัปดาห์ ในทุกระดับความเข้มข้นของ calcium chloride เมื่อทำการเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ calcium chloride ที่เพิ่มขึ้น พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกมีความแปรปรวนค่อนข้างมากไม่มีความสม่ำเสมอ จากการทำการทดสอบผลทางสถิติด้วยวิธี ANCOVA test พบว่า ปัจจัยความเข้มข้นของ sodium alginate มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์มากกว่า ความเข้มข้นของ calcium chloride (ตารางภาคผนวก4) โดยความเข้มข้นของ sodium alginate และ ความเข้มข้นของ calcium chloride จะไม่มีความสัมพันธ์ร่วมกันในด้านการส่งเสริมค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอก ซึ่งจะเห็นได้จากการเพิ่มระดับความเข้มข้นของ sodium alginate ที่ละ 1 %w/v ที่ระดับความเข้มข้นของ calcium chloride ระดับเดียวกัน พบว่ามีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยอย่างชัดเจน คือ มีการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ความงอกในระดับสูงที่ 3 %w/v และจะเริ่มลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเข้าไปอีก เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพิ่มความเข้มข้นของ calcium chloride ครั้งละ 25 mM ที่ระดับความเข้มข้นของ sodium alginate ที่ระดับเดียวกัน พบว่าโดยส่วนใหญ่เปอร์เซ็นต์ความงอกจะมีค่าสูงที่ความเข้มข้น 25 mM และ 75 mM จึงได้ทำการเพิ่มการทดลองในส่วนหนึ่งของระยะเวลาในการงอกเข้าไปเพื่อช่วยในการพิจารณาให้ผลการทดลองนี้สมบูรณ์ขึ้น

ตาราง 1 ผลของความเข้มข้นของ sodium alginate และ calcium Chloride ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ต่อเปอร์เซ็นต์ความออกเจลลี่ของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวาน หลังจากนำไปประเหยน้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิลิกาเจลจนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์

sodium alginate (% w/v)	calcium Chloride(mM)			
	25	50	75	100
2	53 ^{cf}	43 ^h	60 ^d	33 ⁱ
3	70 ^b	70 ^b	87 ^a	46 ^{gh}
4	63 ^{cd}	50 ^{fg}	67 ^{bc}	30 ⁱ
5	13 ^m	16 ^l	23 ^k	13 ^m
6	0 ⁿ	0 ⁿ	0 ⁿ	0 ⁿ

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวเดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ ANCOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

1.2 ผลของความเข้มข้นของ sodium alginate และ calcium chloride ต่อระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำไปประเหยน้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิลิกาเจลจนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์แล้วนำไปทำการเพาะในอาหาร MS 1 สัปดาห์

พบว่าความเข้มข้นของ sodium alginate และ calcium chloride มีผลต่อระยะเวลาในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานอย่างมาก กล่าวคือ ที่ความเข้มข้นของ sodium alginate และ calcium chloride ที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการงอกเพิ่มมากขึ้นด้วย ยกเว้นความเข้มข้นของ sodium alginate ที่ 2 %w/v จะใช้ระยะเวลาในการงอกเฉลี่ย 5 วันในทุกๆระดับความเข้มข้นของ calcium chloride ที่ความเข้มข้นของ sodium alginate ที่ 3 %w/v จะใช้ระยะเวลาในการงอกเฉลี่ยน้อยที่สุด เพียง 3 วัน ส่วนที่ความเข้มข้นของ sodium alginate 4 %w/v และ 5 %w/v ใช้ระยะเวลาในการงอกไม่ค่อยแน่นอน แต่มีแนวโน้มว่าจะใช้เวลา นานกว่าที่ความเข้มข้นต่ำๆ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ sodium alginate เป็น 6 %w/v เมล็ดสังเคราะห์ไม่มีการงอกเกิดขึ้นในเวลา 1 สัปดาห์ (ตาราง 2)

ตาราง 2 ผลของความเข้มข้นของ sodium alginate และ calcium chloride ต่อระยะเวลาในการงอกเมล็ดของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำไปประเหยน้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยวิธีการเจลดจนมีระดับการสูญเสีย น้ำ 80 เปอร์เซ็นต์แล้วนำไปทำการเพาะในอาหารMS 1 สัปดาห์

sodium alginate (% w/v)	calcium chloride(mM)			
	25	50	75	100
2	5 ^b	5 ^b	5 ^b	5 ^b
3	3 ^a	3 ^a	3 ^a	5 ^b
4	3 ^a	5 ^b	5 ^b	6 ^c
5	6 ^c	6 ^c	7 ^d	6 ^c
6	-	-	-	-

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ ANCOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เมื่อทำการทดสอบผลทางสถิติด้วยวิธี ANCOVA test พบว่า ปัจจัยความเข้มข้นของ sodium alginate และ calcium chloride มีความสัมพันธ์ต่อระยะเวลาในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์ร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้นทั้งความเข้มข้นของ sodium alginate และ calcium chloride จะยิ่งทำให้เมล็ดใช้ระยะเวลาในการงอกเพิ่มมากขึ้นด้วย (ตารางภาคผนวก 5)

1.3 ผลของความเข้มข้นของ sodium alginate และ calcium chloride ต่อความอยู่ตัว และความแข็งแรงของเจลของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำไปประเหยน้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยวิธีการเจลดจนมีระดับการสูญเสีย น้ำ 80 เปอร์เซ็นต์

พบว่าลักษณะของเจลจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ sodium alginate และความเข้มข้นของ calcium chloride คือ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ sodium alginate ความอยู่ตัว และความแข็งแรงของเจลก็จะเพิ่มขึ้นด้วย และความเข้มข้นของ calcium chloride มีผลต่อความเร็วในการเคลือบเมล็ด เนื่องจากเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ calcium chloride ขึ้นเรื่อยๆจะใช้เวลาในการเคลือบเมล็ดลดลง ในการทดลองนี้จะใช้ตัวเลข 1, 2 และ 3 เป็นตัวบอกลักษณะเจลหลังจากผ่าน

การเคลือบด้วย sodium alginate และ calcium chloride ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นจึงวัดความยืดหยุ่นของเจลที่เคลือบเมล็ดด้วย เครื่อง texture analyser เพื่อตรวจหาความอยู่ตัวของเมล็ดสังเคราะห์ (ตาราง 3) พบว่าเมื่อทำการระเหยน้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานจนเหลือความชื้น 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น sodium alginate 2 %w/v เจลที่เคลือบเมล็ดสังเคราะห์ส่วนใหญ่จะเหี่ยวลง และมีการรั่วไหลของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกมาภายนอกเจลเล็กน้อย เมล็ดมีความยืดหยุ่นสูงมาก เนื่องจากมีแรงต้านทานต่อแรงกดทับเพียง 2 นิวตัน ที่ระดับความเข้มข้น sodium alginate 3 %w/v เจลที่เคลือบเมล็ดสังเคราะห์ส่วนใหญ่จะยังคงรูปร่างเดิมอยู่ และมีความยืดหยุ่นปานกลาง ไม่แข็งมากนัก โดยมีแรงต้านทานต่อแรงกดทับ 7 นิวตัน ที่ระดับความเข้มข้น sodium alginate 4-6 %w/v เจลที่เคลือบเมล็ดสังเคราะห์จะเริ่มมีความแข็งตัวมากขึ้น เมล็ดมีความอยู่ตัวสูงมาก เนื่องจากมีแรงต้านทานต่อแรงกดทับสูงกว่า 10 นิวตัน

ตาราง 3 ผลของความเข้มข้นของ sodium alginate และ calcium chloride ต่อความอยู่ตัวและความแข็งแรงของเจลที่เคลือบเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำไประเหยน้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิลิกาเจล จนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์

sodium alginate (% w/v)	calcium chloride(mM)				แรงต้านทานต่อแรงกด (นิวตัน)
	25	50	75	100	
2	1	1	1	1	2
3	1	1	2	3	7
4	1	2	3	3	12
5	3	3	3	3	18
6	3	3	3	3	24

- 1 = มีความอยู่ตัวต่ำ ค่อนข้างนุ่ม
 2 = มีความอยู่ตัวปานกลาง แข็งเล็กน้อย
 3 = มีความอยู่ตัวสูง แข็งมาก

การทดลองที่ 2 : ระยะเวลาเจริญที่เหมาะสมของไซมาติกเอมบริโอของพริกหวานในการชักนำให้เกิดความทนทานต่อการสูญเสียน้ำ โดยใช้ ABA ก่อนนำมาผลิตเมล็ดสังเคราะห์ และนำไปประหยบน้ำ ออกด้วยซิติกาเจลจนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์

ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไซมาติกเอมบริโอต่อการงอก และระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากทำการเพาะเลี้ยงไซมาติกเอมบริโอในระยะต่างๆ ได้แก่ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 และ 25 วัน หลังจากเลี้ยงในอาหารเหลว MS สูตรพัฒนาเอมบริโอให้สุกแก่ (maturated medium) ที่เติม ABA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. (Buyukalaca, 1993) มาผลิตเป็นเมล็ดสังเคราะห์ และนำไปประหยบน้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิติกาเจล จนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ระยะเวลาเจริญ 3 - 6 วัน เมล็ดสังเคราะห์จะไม่มีการงอกเกิดขึ้น แต่เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปในช่วงวันที่ 9 - 21 วัน จะมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แต่ที่ระยะ 9 และ 12 วัน จะยังคงมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ต่ำอยู่ คือ 17 และ 14 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณค้ำอ้นอ่อนที่มีการงอกแบบผิดปกติค่อนข้างมาก โดยเฉพาะวันที่ 12 และ 15 มีการงอกผิดปกติสูงถึง 16 และ 17 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นยังใช้ระยะเวลาในการงอกค่อนข้างมาก ที่ระยะ 18-25 วัน จะมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และใช้ระยะเวลาในการงอกลดลง โดยเปอร์เซ็นต์ความงอกจะสูงที่สุดในช่วงที่เอมบริโอมีอายุ 21 วัน คือ จะมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 93 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังใช้ระยะเวลาในการงอกเพียง 3 วัน แต่เอมบริโอที่มีอายุมากกว่า 21 วันจะเริ่มมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ลดลงเรื่อยๆ และค้ำอ้นอ่อนที่งอกจะมีลักษณะผิดปกติ มากขึ้นด้วย นอกจากนั้นยังใช้เวลาในการงอกเพิ่มขึ้นด้วย จะเริ่มเห็นได้ชัดเจนในเอมบริโอระยะ 25 วัน (ตาราง 4)

เมื่อทำการทดสอบผลทางสถิติด้วยวิธี ANCOVA test พบว่า การเจริญในระยะต่างๆของไซมาติกเอมบริโอ มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอก และระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำไปประหยบน้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิติกาเจล จนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางภาคผนวก 10 และ 11)

ตาราง 4 ผลระบะการเจริญในระบะต่างๆของโซมาติกเอมบริโอ ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย ลักษณะการงอก และระบะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำไปประเหยน้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิติกาเจล จนมีระบะการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์

ระบะการเจริญของ โซมาติกเอมบริโอ(วัน)	ความงอก(%)	ต้นอ่อนลักษณะ ผิดปกติ(%)	ระบะเวลาที่ใช้ในการงอก (วัน)
3	0 ^h	0 ^g	-
6	0 ^h	0 ^g	-
9	17 ^{fg}	3 ^{fg}	7 ^d
12	14 ^e	16 ^{bc}	6 ^c
15	46 ^e	17 ^{ab}	6 ^c
18	76 ^{bc}	4 ^{ef}	4 ^b
21	93 ^a	4 ^{ef}	3 ^a
24	73 ^c	10 ^d	4 ^b
25	56 ^d	14 ^{cd}	6 ^c

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวเดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ ANCOVA ที่ระบะความเชื่อมั่น 95 % ในสคตมภ์เดียวกัน

การทดลองที่ 3 : วิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของ ABA ในการชักนำให้เกิดความทนทานต่อการสูญเสียน้ำ ของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำเมล็ดสังเคราะห์ไปประหย่น้ำออกด้วยซิลิกาเจล จนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์

ผลของความเข้มข้นของ ABA ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไซมาติกเอมบริโอต่อการงอก และระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานเมื่อนำไซมาติกเอมบริโอที่เลี้ยงในอาหาร MS สูตรพัฒนาเอมบริโอให้สุกแก่ (matured medium) ที่เติม ABA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 และ 1.0 มก./ล. ตามลำดับ เป็นเวลา 21 วันในที่มืดบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ นำไซมาติกเอมบริโอที่ได้มาผลิตเป็นเมล็ดสังเคราะห์ และนำไปทำให้แห้งโดยการระเหยน้ำออกด้วยซิลิกาเจล จนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระดับความเข้มข้นของ ABA เพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์ความงอกจะสูงขึ้น และระยะเวลาที่ใช้ในการงอกก็จะเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน โดยที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.1 และ 0.2 มก./ล. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ในระดับปานกลาง คือ 33, 36, 47 และ 43 เปอร์เซ็นต์ มีต้นกล้าที่มีลักษณะผิดปกติ 13, 10, 6 และ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 0.3, 0.4 และ 0.5 มก./ล. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกจะเพิ่มสูงขึ้นมาก คือ 57, 73 และ 83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และต้นกล้าที่มีลักษณะผิดปกติลดลงเหลือเพียง 9 และ 4 เปอร์เซ็นต์ โดยเปอร์เซ็นต์ความงอกจะมีค่าสูงสุดประมาณ 83 เปอร์เซ็นต์ และใช้ระยะเวลาในการงอก 4 วัน หลังจากนำไซมาติกเอมบริโอที่ชักนำด้วย ABA 0.5 มก./ล. มาทำการปลูก แต่ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 1.0 มก./ล. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกจะเหลือเพียง 37 เปอร์เซ็นต์ มีต้นกล้าที่มีลักษณะผิดปกติสูงถึง 16 เปอร์เซ็นต์ และใช้ระยะเวลาในการงอกนานถึง 5 วัน (ตาราง 5)

เมื่อทำการทดสอบผลทางสถิติด้วยวิธี ANCOVA test พบว่า ความเข้มข้นของ ABA ไม่มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากข้อมูลมีความสม่ำเสมอสูง แต่ความเข้มข้นของ ABA ยังคงมีความสัมพันธ์ต่อระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำไปประหย่น้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิลิกาเจล จนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นให้มากขึ้นระยะเวลาที่ใช้ในการงอกก็จะเพิ่มขึ้นตามด้วย (ตารางภาคผนวก 14 และ 15)

ตาราง 5 ผลของความเข้มข้นของ ABA ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย ลักษณะการงอกของเมล็ดและต่อระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำไปแช่น้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิติกาเจลจนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์

ความเข้มข้นของABA (มก./ล.)	ความงอก(%)	ต้นอ่อนลักษณะ ผิดปกติ(%)	ระยะเวลาที่ใช้ในการงอก (วัน)
0	33 ^h	13 ^{bc}	3 ^a
0.05	36 ^{gh}	10 ^{cd}	3 ^a
0.1	47 ^{de}	6 ^{ef}	4 ^b
0.2	43 ^e	10 ^{cd}	4 ^b
0.3	57 ^c	9 ^{de}	4 ^b
0.4	73 ^b	4 ^f	4 ^b
0.5	83 ^a	4 ^f	4 ^b
1.0	37 ^{fg}	16 ^{ab}	5 ^c

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวเดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ ANCOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในสมคม์เดียวกัน

การทดลองที่ 4 : การทดสอบความงอกภายหลังการเก็บรักษาเมล็ดสังเคราะห์ของพริกหวานที่ผ่านการชักนำให้เกิดการทนทานต่อการสูญเสียด้วย ABA หลังจากนำเมล็ดสังเคราะห์ไปแช่น้ำออกด้วยซิติกาเจลจนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์

ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดสังเคราะห์ของพริกหวานที่ผ่านการชักนำให้เกิดการทนทานต่อการสูญเสียด้วย ABA ต่อการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากเก็บรักษาเมล็ดสังเคราะห์พริกหวาน ในที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 °C เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ หลังจากนั้นนำเมล็ดสังเคราะห์ที่ผ่านการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ มาทำการให้ความชื้นอีกครั้ง และเพาะเพื่อทดสอบความงอกโดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดสังเคราะห์ที่ได้รับการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน จะมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงเรื่อยๆ โดยในช่วง 3 สัปดาห์แรก

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกยังคงใกล้เคียงกันอยู่ คือ 93 และ 83 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาในช่วงสัปดาห์ที่ 3, 4 และ 6 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงแต่ยังไม่มากนัก คือ 67, 66 และ 63 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาจะเห็นได้ชัดเจนในสัปดาห์ที่ 8 โดยเปอร์เซ็นต์ความงอกจะเหลือเพียง 43 เปอร์เซ็นต์ ส่วนระยะเวลาที่ใช้ในการงอกจะค่อยๆเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการเก็บรักษามากขึ้น (ตาราง 6)

ตาราง 6 ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดสังเคราะห์ของพริกหวานที่ผ่านการชักนำให้เกิดการทนทานต่อการสูญเสียน้ำด้วย ABA ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย ลักษณะการงอก และระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำไปประหย่น้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิลิกาเจลจนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาในการเก็บรักษา(สัปดาห์)	ความงอก(%)	ต้นอ่อนลักษณะผิดปกติ(%)	ระยะเวลาที่ใช้ในการงอก(วัน)
0	93 ^a	3 ^d	3 ^a
1	83 ^b	7 ^{cd}	3 ^a
2	83 ^b	3 ^d	3 ^a
3	67 ^{cd}	13 ^{ab}	4 ^b
4	66 ^{de}	7 ^{cd}	5 ^c
6	63 ^c	7 ^{cd}	6 ^d
8	43 ^f	10 ^{bc}	6 ^d

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวเดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ ANCOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในสดมภ์เดียวกัน

เมื่อทำการทดสอบผลทางสถิติด้วยวิธี ANCOVA test พบว่า ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดสังเคราะห์ของพริกหวานที่ผ่านการชักนำให้เกิดการทนทานต่อการสูญเสียน้ำด้วย ABA มีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอก และระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดสังเคราะห์พริกหวานหลังจากนำไปประหย่น้ำออกจากเมล็ดสังเคราะห์ด้วยซิลิกาเจลจนมีระดับการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางภาคผนวก 18 และ 19)



ภาพที่ 5

ต้นอ่อนพริกหวานอายุ 45 วันที่ได้จากการเพาะเมล็ดสังเคราะห์ที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved