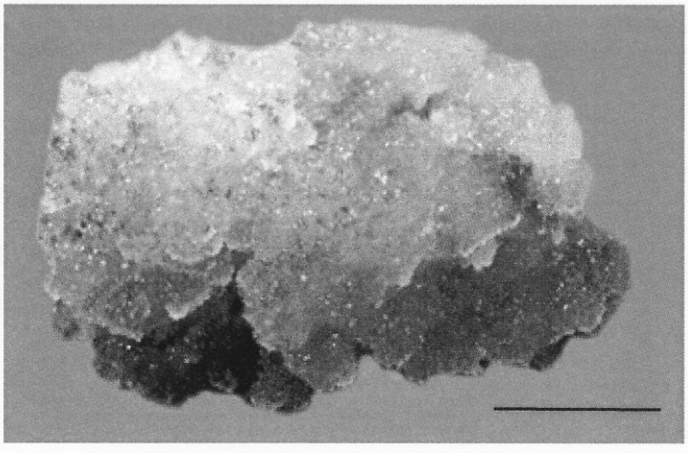
บทที่ 3

ผล

1. ผลของสารควบคุมการเจริญต่อการเพิ่มปริมาณของแคลลัสกุหลาบมอญ

จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสกุหลาบมอญ บนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต dicamba, picloram และ 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัส ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณ friable callus ได้มากที่สุด 97.1 เปอร์เซ็นต์ และแคลลัสเริ่มมีจุดสีแดงเล็ก ๆ เกิดบนก้อนแคลลัส (ภาพที่ 4) รองลงมาคือ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพิ่มปริมาณได้ 95.5 เปอร์เซ็นต์ และขนาดของแคลลัสที่เพิ่มปริมาณได้ในอาหารเติม dicamba และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ใหญ่มากกว่า 1.7 เซนติเมตร (ตารางที่ 3)



ภาพที่ 4 friable callus กุหลาบมอญบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)

ตารางที่ 3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาของแคลลัสกุหลาบมอญ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)			% ก้อนแคลลัสที่เพิ่มปริมาณได้	ประเภทแคลลัส	สีแคลลัส	ขนาดแคลลัส 1/
dicamba	picloram	2,4-D				
1.0	-	-	97.3	F	เหลืองอมแดง	+++
2.5	-	-	87.5	F	ขาวอมเหลือง	+++
5.0	-	-	75.0	F	ขาวอมเหลือง	+++
10.0	-	-	45.0	F	ขาวอมเหลือง	+++
-	1.0	-	87.1	F	ขาวอมเขียว	++
-	2.5	-	90.1	F	ขาวขุ่น	+
-	5.0	-	83.4	F	ขาวอมเขียว	++
-	10.0	-	52.1	F	ขาวขุ่น	++
-	-	1.0	85.7	F	ขาวขุ่น	+++
-	-	2.5	37.5	F	ขาวขุ่น	+++
-	-	5.0	95.5	F	ขาวขุ่น	+++
-	-	10.0	73.4	F	ขาวขุ่น	+++

F = friable callus

1/ ขนาดของแคลลัส

\+ แคลลัสมีขนาด 1 – 1.2 เซนติเมตร

++ แคลลัสมีขนาด 1.3 – 1.6 เซนติเมตร

+++ แคลลัสมีขนาดมากกว่า 1.7 เซนติเมตร

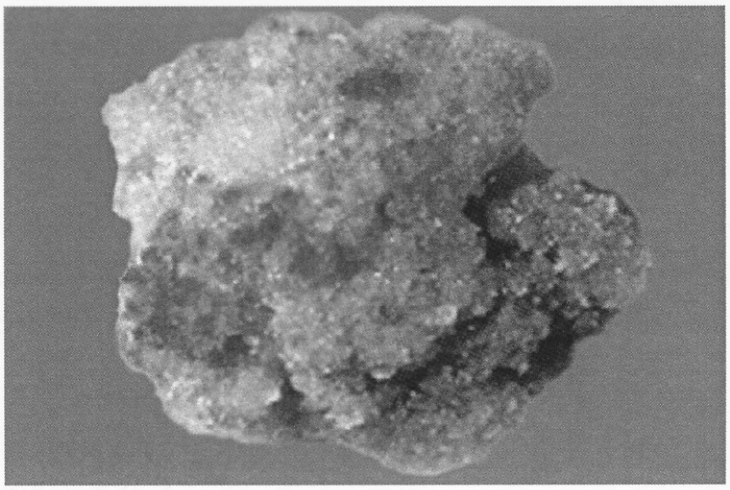
2. ผลของสูตรอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการผลิตแอนโธไซยานินจากแคลลัส

เมื่อนำแคลลัสเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS, MS และ B5 เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อชักนำให้เกิดแอนโธไซยานิน ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ลักษณะแคลลัสที่พัฒนาได้เป็น friable callus ทั้งหมด โดยแคลลัสที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

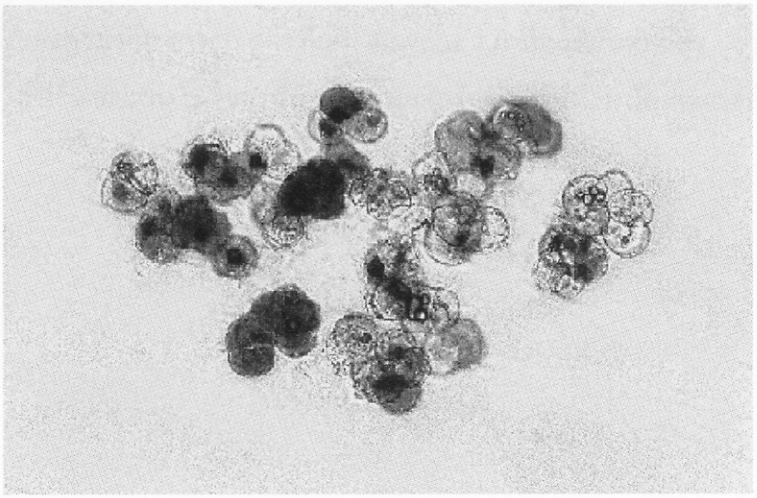
สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้จำนวนมากที่สุด 84.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสูตรที่เพิ่มปริมาณแคลลัสได้รองลงมาคือ สูตรอาหาร LS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้ 70.8 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ก้อนแคลลัสที่เกิดรงควัตถุสีแดงของแอนโธไซยานินมากที่สุด 8.6 เปอร์เซ็นต์ คือ สูตร LS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4 ภาพที่ 5) สูตรอาหารที่ให้เปอร์เซ็นต์ก้อนแคลลัสที่เกิดสีแดงรองลงมา คือ สูตร MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร 5.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสูตรอาหาร LS และ MS เติม BA ร่วมกับ 2,4-D หรือเติม BA ร่วมกับ NAA และสูตรอาหาร B5 แคลลัสไม่เกิดสีแดงของแอนโธไซยานินเลย (ตารางที่ 4) เมื่อนำแคลลัสบริเวณที่เกิดสีแดงของแอนโธไซยานินไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อินเวอร์เต็ด พบว่า เซลล์ที่สร้างรงควัตถุสีแดงของแอนโธไซยานินจะอยู่รวมกับเซลล์ที่ไม่สร้างแอนโธไซยานิน (ภาพที่ 6)

ตารางที่ 4 ผลของสูตรอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการผลิตแอนโธไซยานินจากแคลลัส เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS LS และ B5 เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)				% ก้อนแคลลัสที่เพิ่มปริมาณได้	% ก้อนแคลลัสที่เกิดรงควัตถุสีแดง
	BA	dicamba	2,4-D	NAA		
LS	0.5	1.0	-	-	84.0	8.6
	0.5	-	1.0	-	70.8	0
	0.5	-	-	0.5	57.5	0
MS	0.5	1.0	-	-	46.9	5.0
	0.5	-	1.0	-	32.8	0
	0.5	-	-	0.5	41.5	0
B5	0.5	1.0	-	-	56.6	0
	0.5	-	1.0	-	30.4	0
	0.5	-	-	0.5	31.5	0



ภาพที่ 5 การเกิดสีแดงบนก้อนแคลลัสที่เลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)



ภาพที่ 6 เซลล์ที่มีการสร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อินเวอร์เต็ด

3. ผลของ BA ที่มีต่อปริมาณผลผลิตแอนโธไซยานินจากแคลลัส

เมื่อนำแคลลัสที่ดีที่สุดจากการทดลองข้างต้น เลี้ยงในอาหารสูตร LS เติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าลักษณะแคลลัสที่พัฒนาได้เป็น friable callus ทั้งหมด โดยแคลลัสที่เลี้ยงบนอาหารเติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ก้อนแคลลัสที่เกิดรงควัตถุสีแดงของแอนโธไซยานินสูงสุด 88.03 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5 ภาพที่ 7) รองลงมาคือสูตรที่เติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร 71.44 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 5)

เมื่อนำแคลลัสส่วนที่เกิดสีแดงของแอนโธไซยานิน ไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อินเวอร์เต็ด พบว่า อาหารสูตรที่เติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสสูงสุด 39.52 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ อาหารสูตรที่เติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 30.64 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5)

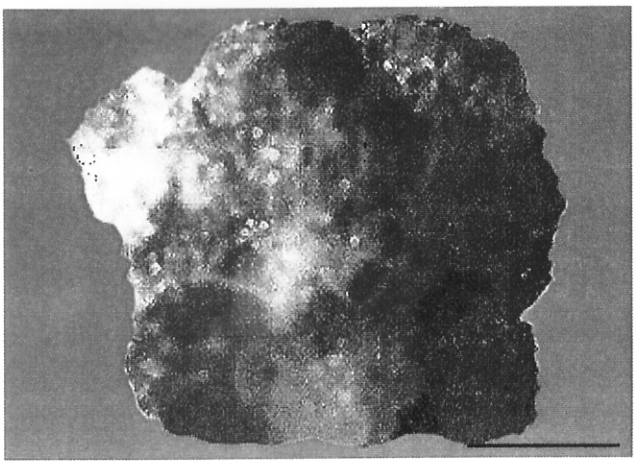
จากการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโธไซยานิน โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่า ในอาหารสูตรที่เติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด 0.413 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งรองลงมาคือ อาหารสูตรที่เติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณแอนโธไซยานิน 0.273 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส (ภาพที่ 8)

ตารางที่ 5 ผลของ BA ที่มีต่อการผลิตแอนโธไซยานินจากแคลลัส เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

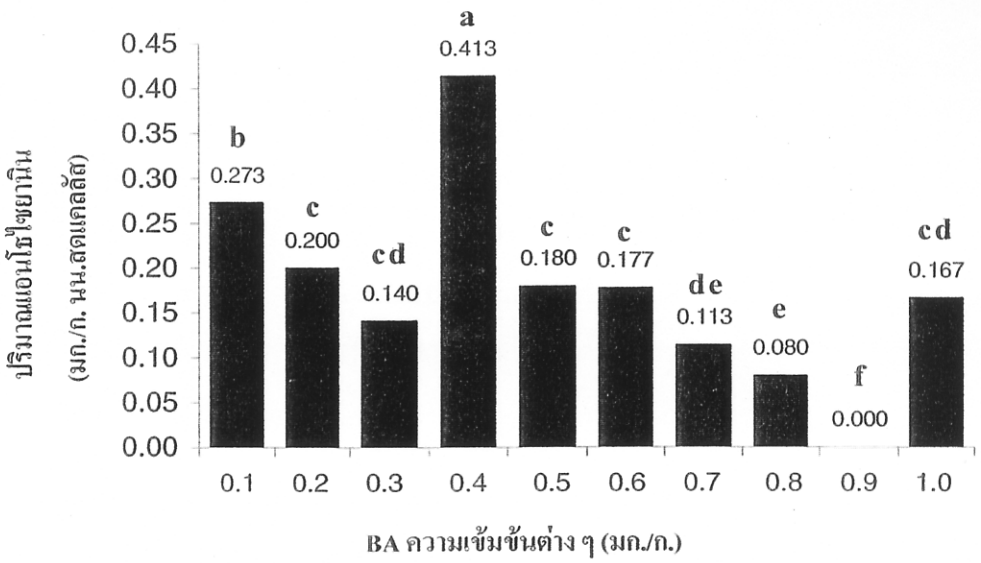
สูตรอาหาร	สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.) BA	เปอร์เซ็นต์ก้อนแคลลัสที่เกิดรงควัตถุสีแดง	เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส
LS	0.1	57.16 b	6.84 de
	0.2	71.44 ab	30.64 b
	0.3	34.47 c	17.52 c
	0.4	88.03 a	39.52 a
	0.5	58.26 b	16.74 c
	0.6	31.22 c	7.82 d
	0.7	26.34 c	11.82 cd
	0.8	17.71 cd	6.22 de
	0.9	0 d	0 e
	1.0	19.04 cd	4.64 de
F-test		**	**
C.V. (%)		38.56	35.99

** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 7 ลักษณะของแคลลัสที่เลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)



ภาพที่ 8 ปริมาณแอนโธไซยานินของแคลลัสกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

4. ผลของระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่มีต่อผลผลิตแอนโธไซยานิน

เมื่อนำแคลลัสที่มีสีแดงขนาด 0.3–0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงต่างกัน มีผลทำให้การเพิ่มขนาดของแคลลัส เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส และปริมาณผลผลิตแอนโธไซยานิน แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ในช่วงสัปดาห์แรก (0-6 วัน) แคลลัสมีอัตราการเจริญอย่างช้า ๆ (lag phase) แล้วเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงสัปดาห์ที่ 2-3 (7-18 วัน) (log phase) หลังจากนั้นอัตราการเจริญค่อยลดลงจนหยุดการเจริญ (stationary phase) (ภาพที่ 9) โดยแคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุดเป็น 1.76 และ 1.74 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงไว้นาน 4 สัปดาห์ และ 3 สัปดาห์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ลักษณะของแคลลัสที่เลี้ยงไว้นาน 4 สัปดาห์ จะเริ่มมีสีแดงคล้ำและบางส่วนของแคลลัสเริ่มมีสีน้ำตาล ในขณะที่แคลลัสที่เลี้ยงไว้ 3 สัปดาห์ แคลลัสมีสีแดงสดกว่า

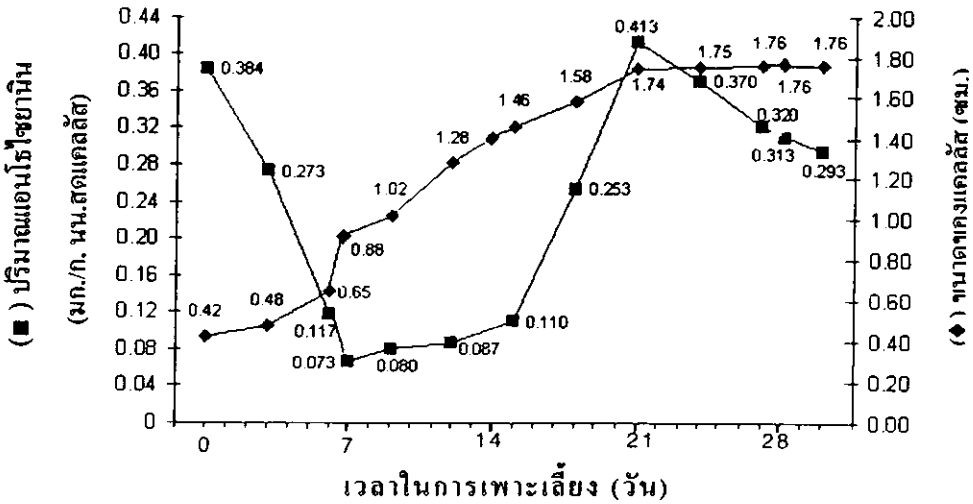
เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสและปริมาณแอนโธไซยานิน พบว่า เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสสูงสุด คือ 63.32 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงไว้นาน 3 สัปดาห์ รองลงมาคือ 60.12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงไว้นาน 4 สัปดาห์ ซึ่งแตกต่างกับเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสกับสัปดาห์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 6) โดยลักษณะเซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสในแต่ละสัปดาห์เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อินเวอร์เตด พบว่า ในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 เซลล์จะมีแวคิวโอลเล็ก ๆ จำนวนมาก ไซโทพลาสซึมข้น แต่ในสัปดาห์ที่ 3 สามารถเห็นเซลล์ที่มีการสร้างแอนโธไซยานินในปริมาณสูงกว่า (ภาพที่ 10) และมีปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุดคือ 0.413 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือ 0.313 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส เมื่อเลี้ยงไว้นาน 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่มีผลต่อขนาดของแคลลัส เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส และปริมาณแอนโธไซยานิน เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

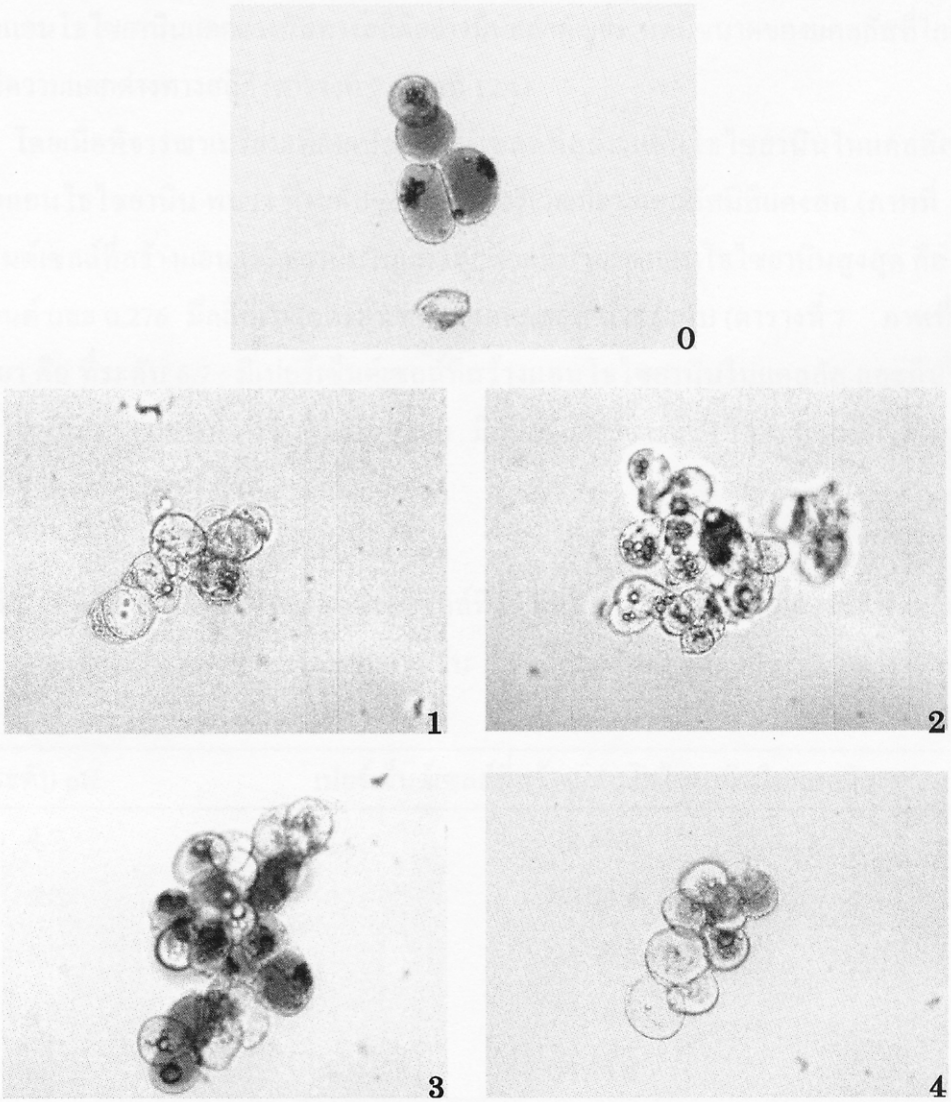
ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ขนาดของแคลลัส (ซม.)	เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส	ปริมาณแอนโธไซยานิน (มก./ก. นน.สดแคลลัส)
0	0.42 d	38.24 b	0.384 a
1	0.88 c	4.64 c	0.073 b
2	1.44 b	19.14 c	0.090 b
3	1.74 a	63.32 a	0.413 a
4	1.76 a	60.12 a	0.313 a
F-test	**	**	**
C.V. (%)	11.23	23.66	27.82

** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 9 ปริมาณแอนโธไซยานิน (■) และขนาดของแคลลัส (♦) กุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลาต่าง ๆ



ภาพที่ 10 เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินบนก้อนแคลลัส หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์

5. ผลของ pH ในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีต่อผลผลิตแอนโธไซยานิน

เมื่อนำแคลลัสที่มีสีแดงไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร LS เติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า pH ของอาหารเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส และมีปริมาณแอนโธไซยานินแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่มีขนาดของแคลลัสที่ใกล้เคียงกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 12A)

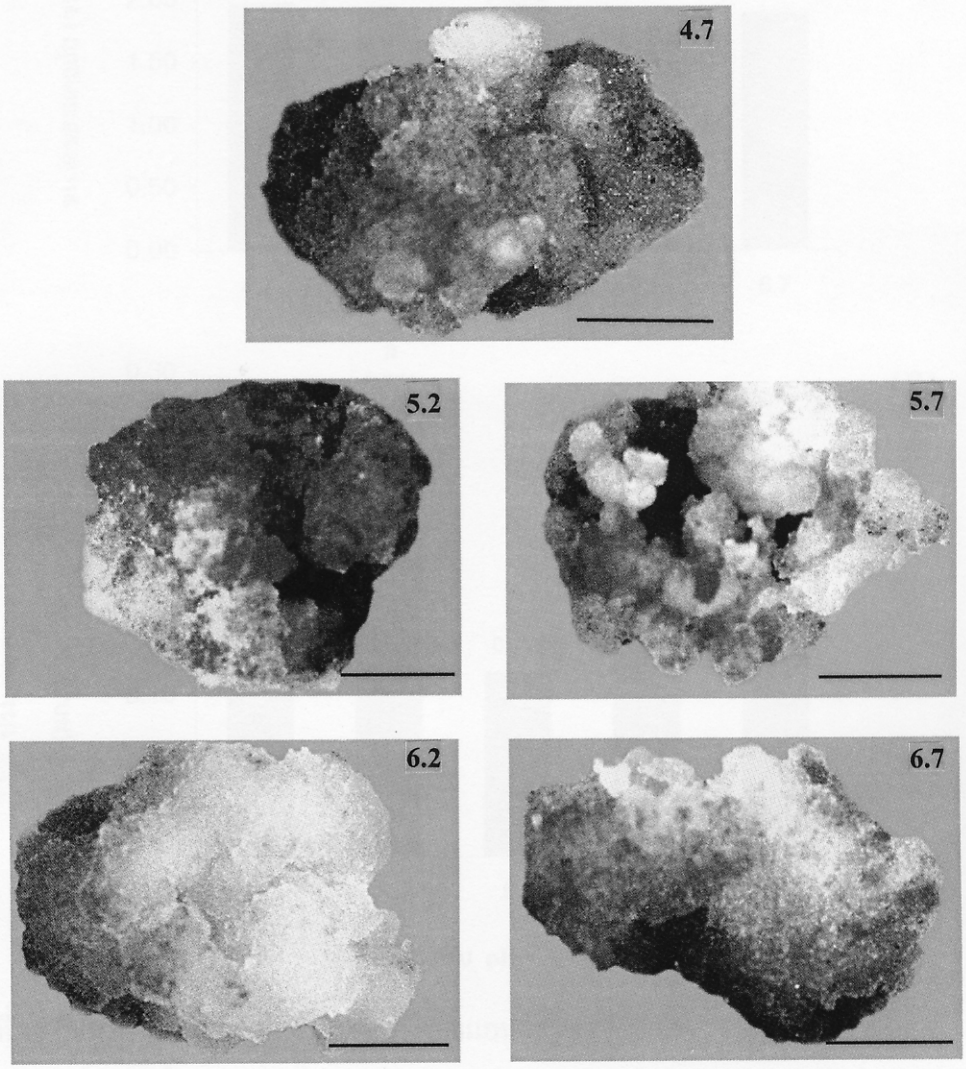
โดยเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส และปริมาณแอนโธไซยานิน พบว่า ที่ระดับ pH 5.2 บริเวณก้อนแคลลัสมีสีแดงสด (ภาพที่ 11) มีเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสและมีปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด คือ 87.78 เปอร์เซ็นต์ และ 0.276 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส ตามลำดับ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 12B) รองลงมา คือ ที่ระดับ 6.7 มีเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส และมีปริมาณแอนโธไซยานิน 54.08 เปอร์เซ็นต์ และ 0.170 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส ตามลำดับ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 12B)

ตารางที่ 7 ผลของ pH ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์

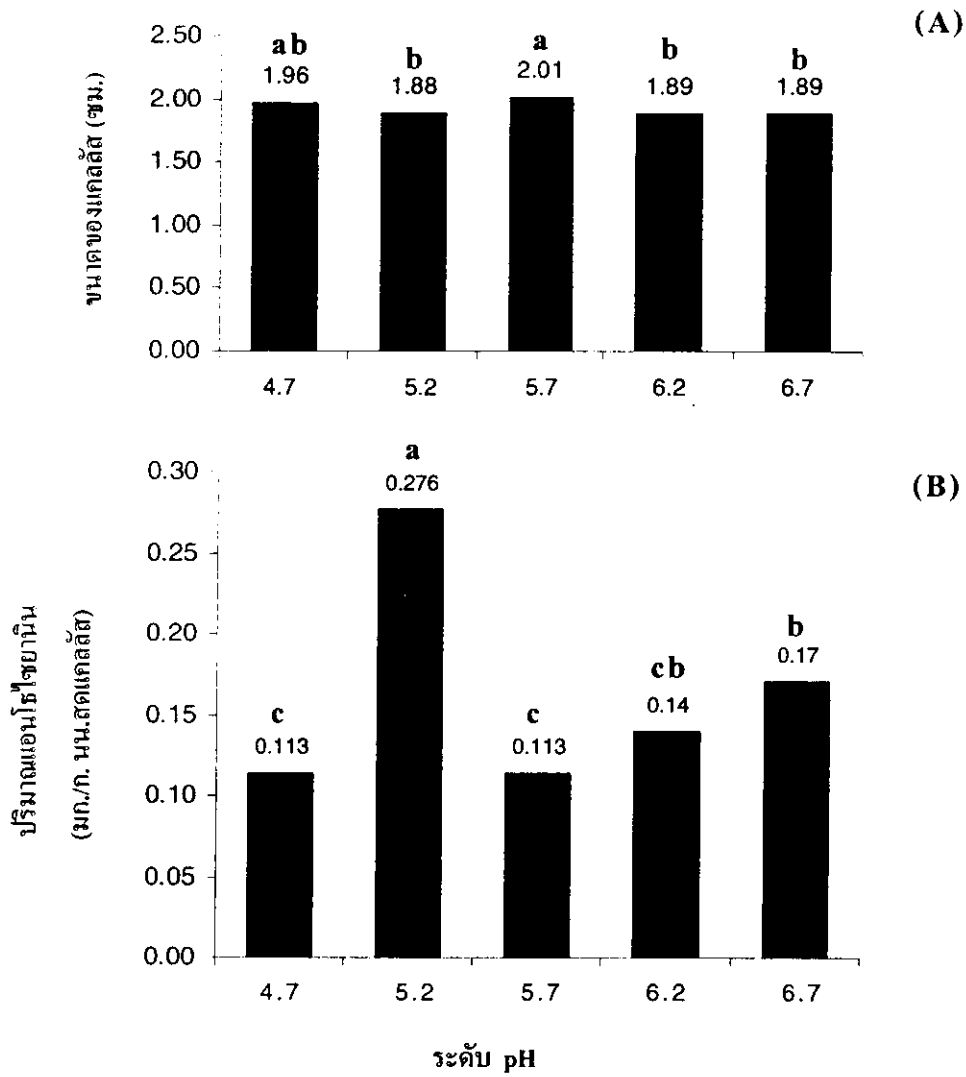
ระดับ pH	เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส
4.7	22.82 d
5.2	87.78 a
5.7	34.18 c
6.2	24.16 d
6.7	54.08 b
F-test	**
C.V. (%)	14.67

** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 11 แคลลัสกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับ pH ต่าง ๆ เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)



ภาพที่ 12 ขนาดของแคลลัส (A) และปริมาณแอนโธไซยานิน (B) ในแคลลัสกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับ pH ต่าง ๆ

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

6. ผลของชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีต่อผลผลิตแอนโธไซยานิน

เมื่อนำแคลลัสที่มีสีแดงสดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำตาล 3 ชนิด คือ ซูโครส กลูโคส และฟรุคโตส แต่ละชนิดใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 1, 3, 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่ต่างกันมีผลทำให้ขนาดของแคลลัส เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส และปริมาณแอนโธไซยานินแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ในอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสมีสีแดงสด (ภาพที่ 13A) ให้ขนาดแคลลัสสูงสุด 1.75 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างจากความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ระดับอื่น ๆ และน้ำตาลชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ภาพที่ 14A)

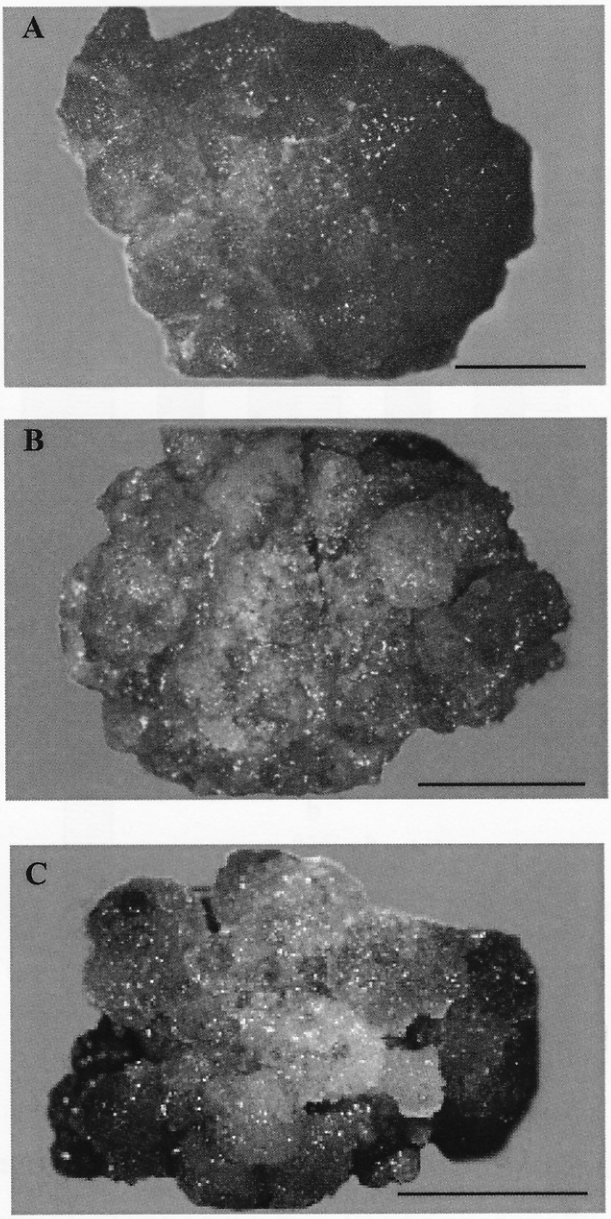
เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสและปริมาณแอนโธไซยานิน พบว่า ในอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ให้เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสสูงสุด 66.78 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8) และส่งเสริมการผลิตปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุดคือ 0.373 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส (ภาพที่ 14B) โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง รองลงมา คือ 0.147 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส ในอาหารสูตรที่เติมน้ำตาล ฟรุคโตสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 13B ภาพที่ 14B) ส่วนในอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสระดับความเข้มข้นที่ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด คือ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ปริมาณแอนโธไซยานิน 0.080 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส (ภาพที่ 13C ภาพที่ 14B) ซึ่งในอาหารที่เติมน้ำตาลทุกชนิดเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้น พบว่า เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสและปริมาณแอนโธไซยานินจะลดลง (ตารางที่ 8 ภาพที่ 14B)

ตารางที่ 8 ผลของชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์

ชนิดของน้ำตาล	ความเข้มข้น (%)	เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส
ซูโครส	1	5.78 f
	3	66.78 a
	5	19.72 d
	7	21.52 d
ฟรุคโตส	1	7.02 f
	3	40.68 b
	5	31.90 c
	7	10.56 ef
กลูโคส	1	4.92 f
	3	17.20 de
	5	11.16 ef
	7	6.24 f
F-test		**
C.V. (%)		24.72

** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ

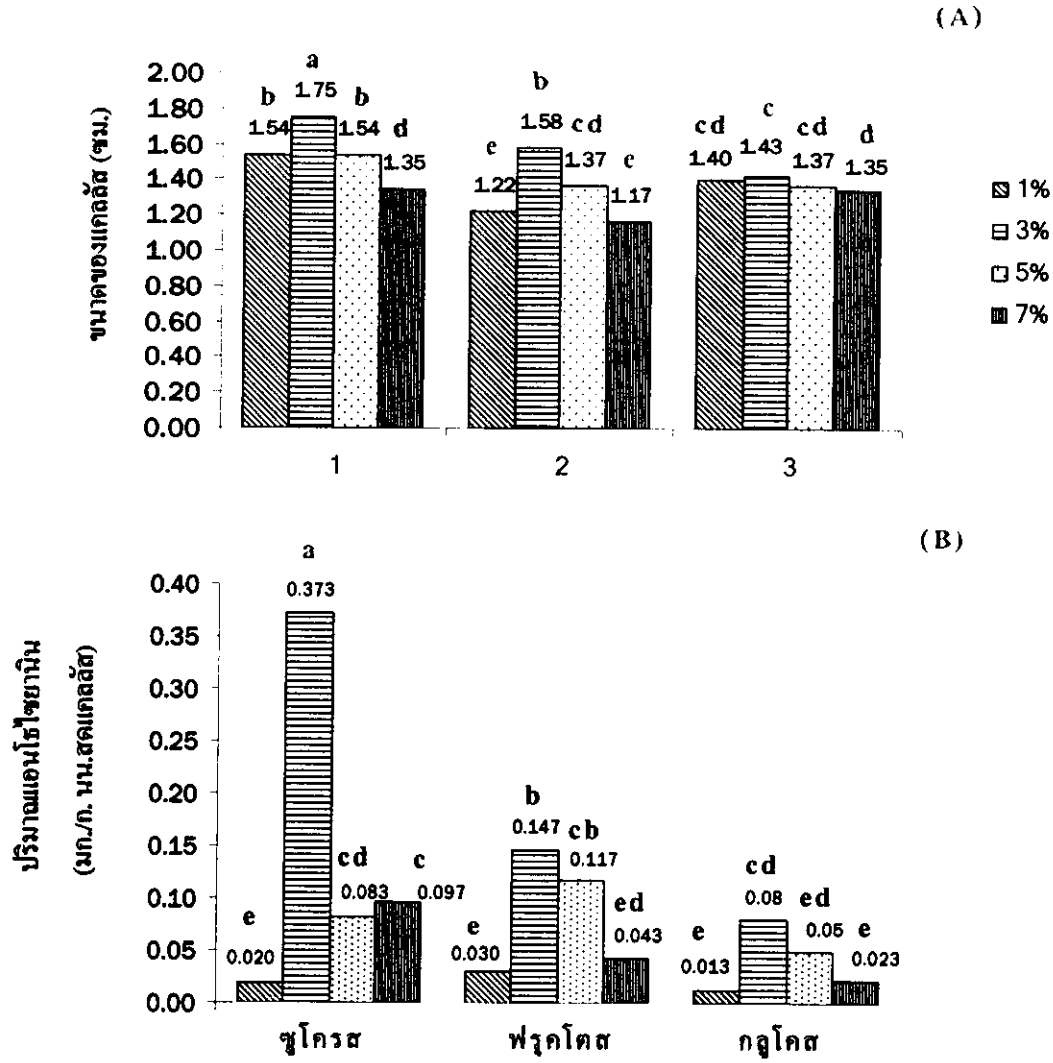


ภาพที่ 13 แคลลัสกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)

A:ซูโครส

B: ฟรุคโตส

C: กลูโคส



ภาพที่ 14 ขนาดของแคลลัส (A) และปริมาณแอนโธไซยานิน (B) ในแคลลัสกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 3 สัปดาห์

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

7. ผลของน้ำตาลซูโครสร่วมกับสารออสโมติคัมที่มีต่อผลผลิตแอนไซยานิน

นำแคลลัสที่มีสีแดงสดขนาด 0.3-0.5 เซนติเมตร ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตรเดิม ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอล ซอร์บิทอล และ PEG แต่ละชนิดใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ชนิดของสารออสโมติคัมที่ต่างกันมีผลทำให้ขนาดของแคลลัส เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส และปริมาณแอนโธไซยานินแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ในอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ PEG 2 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสมีสีแดงสด (ภาพที่ 15C) ให้ขนาดแคลลัสสูงสุด 1.66 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างจากชนิดของสารออสโมติคัม และความเข้มข้นที่ระดับอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ภาพที่ 16A)

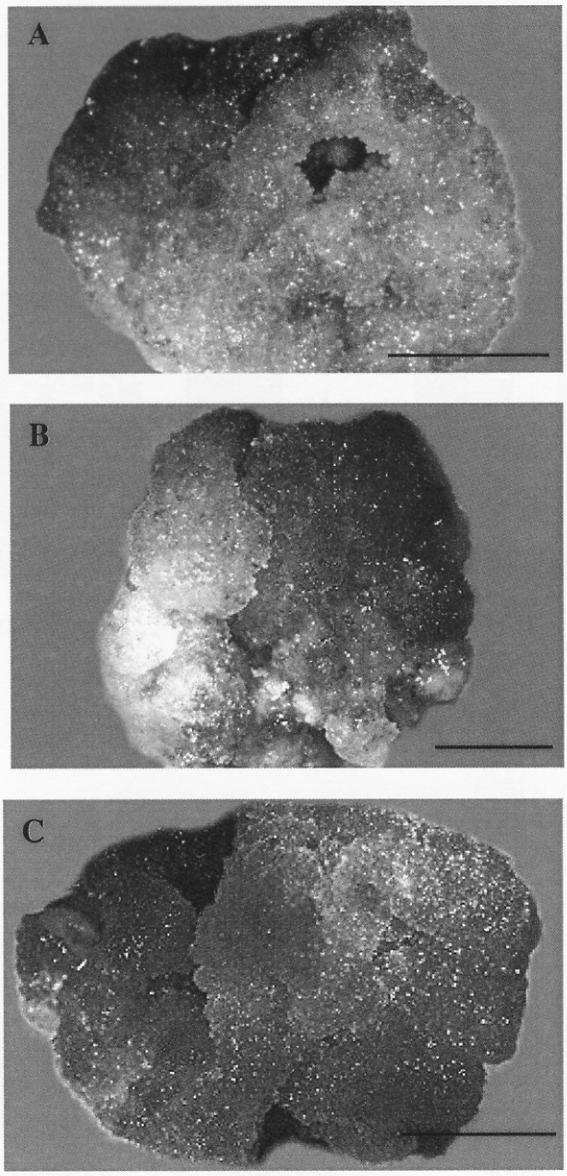
เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสและปริมาณแอนโธไซยานิน พบว่า ในอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ PEG 2 เปอร์เซ็นต์ ให้เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสสูงสุด 59.96 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9) และส่งเสริมการผลิตปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุดคือ 0.277 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส (ภาพที่ 16B) รองลงมา คือ 0.190 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส ในอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ PEG เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 16B)โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอล ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า น้ำตาลแมนนิทอล 2 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด 0.163 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแคลลัส (ภาพที่ 15A ภาพที่ 16B) ส่วนในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส ร่วมกับน้ำตาลซอร์บิทอล เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซอร์บิทอล มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เซลล์ไม่มีการสร้างแอนโธไซยานิน (ตารางที่ 9) และแคลลัสบางส่วนไม่สามารถเจริญเติบโตได้

ตารางที่ 9 ผลของน้ำตาลซูโครสร่วมกับสารออสโมติคัมที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์

ชนิดและความเข้มข้นของสารออสโมติคัม (%)	เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัส
ซูโครส 3% + แมนนิทอล 1%	10.26 e
ซูโครส 3% + แมนนิทอล 2%	40.08 bcd
ซูโครส 3% + แมนนิทอล 3%	36.12 cd
ซูโครส 3% + แมนนิทอล 4%	7.56 e
ซูโครส 3% + ซอร์บิทอล 1%	42.28 bc
ซูโครส 3% + ซอร์บิทอล 2%	0 f
ซูโครส 3% + ซอร์บิทอล 3%	0 f
ซูโครส 3% + ซอร์บิทอล 4%	0 f
ซูโครส 3% + PEG1%	42.42 bc
ซูโครส 3% + PEG 2%	59.96 a
ซูโครส 3% + PEG 3%	34.08 d
ซูโครส 3% + PEG 4%	44.22 b
F-test	**
C.V. (%)	14.06

** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ

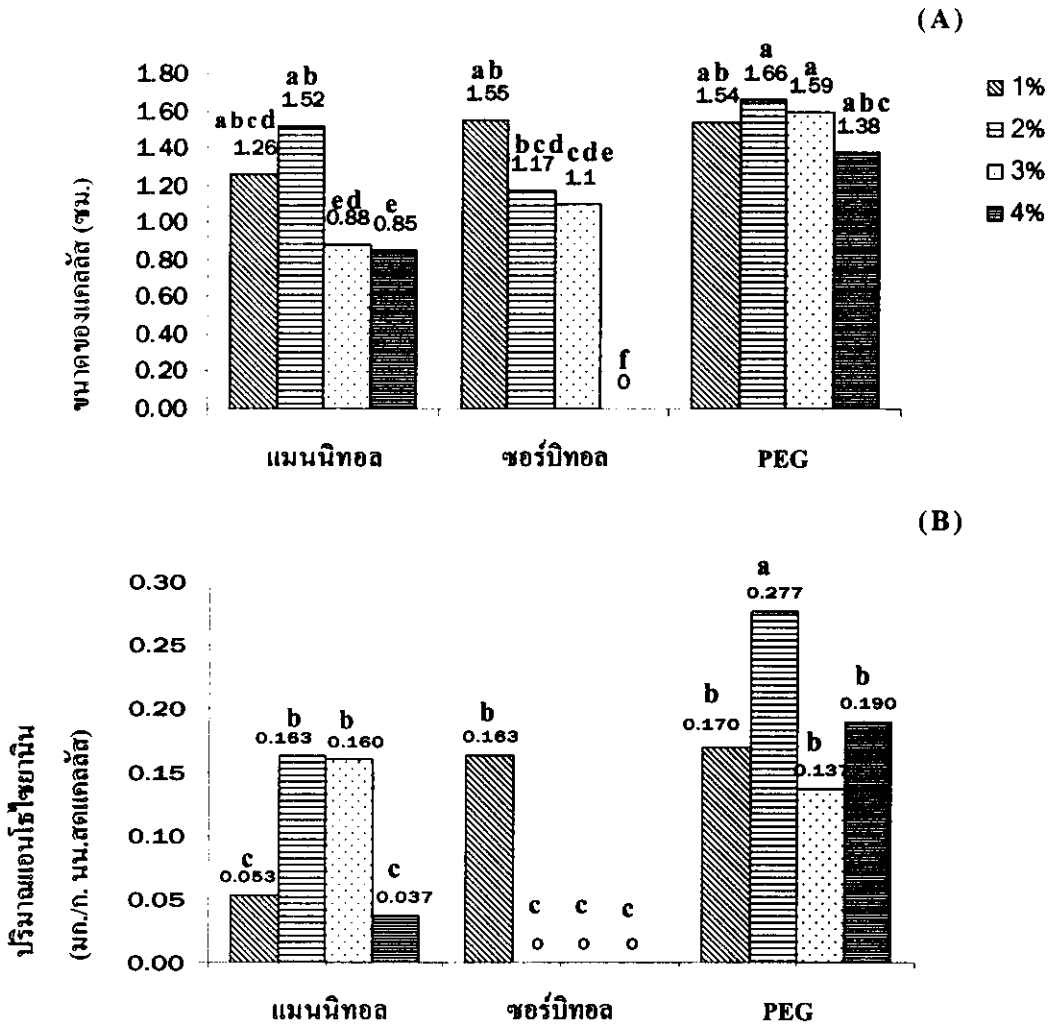


ภาพที่ 15 แคลลัสกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารออสโมติคัมชนิดต่าง ๆ นาน 3 สัปดาห์ (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)

A:ซูโครส ร่วมกับแมนนิทอล ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์

B: ซูโครส ร่วมกับซอร์บิทอล ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

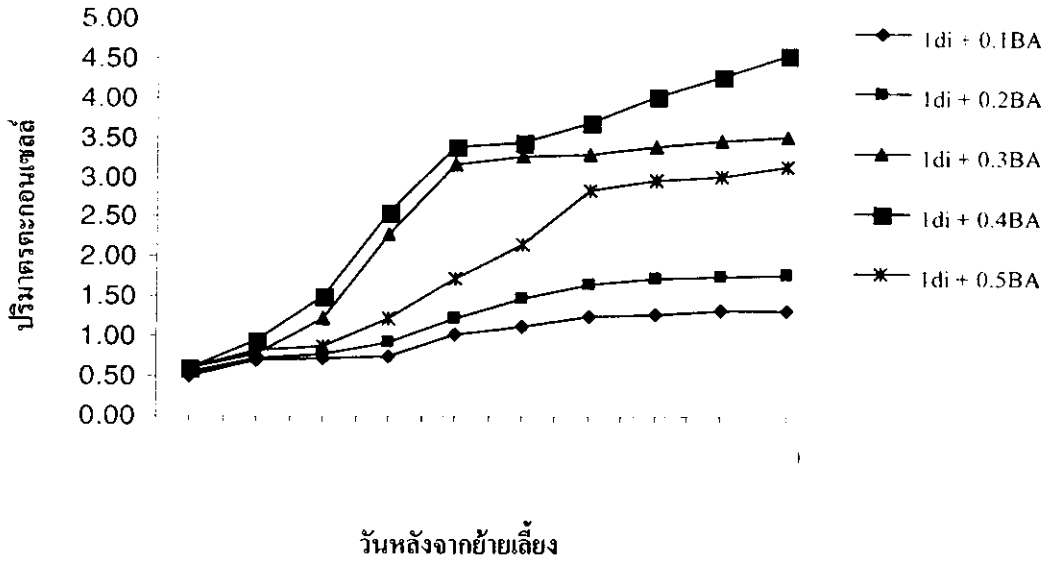
C: ซูโครส ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 16 ขนาดของแคลลัส (A) และปริมาณแอนโธไซยานิน (B) ในแคลลัสกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอล ซอร์บิทอล และ PEG ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์

8. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการผลิตแอนโธไซยานินในการเพาะเลี้ยงเซลล์ซัสเพนชัน

การเพาะเลี้ยงเซลล์ซัสเพนชันในอาหารเหลวสูตร LS เติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในอาหารที่เติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เซลล์ซัสเพนชันมีการเจริญเติบสูงสุด เซลล์มีสีเหลืองนวล กระจายตัวสม่ำเสมอ มีกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กและเซลล์เดี่ยวจำนวนมาก มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในวันที่ 6-10 (log phase) (ภาพที่ 17) ส่วนในอาหารสูตรอื่น ๆ เซลล์จะเกาะกลุ่มกัน มีการเจริญเติบโตช้ากว่า แต่ในทุกระดับความเข้มข้นของ BA เซลล์ไม่สามารถสังเคราะห์แอนโธไซยานินได้เลย



ภาพที่ 17 อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ซัสเพนชันกุหลาบมอญ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร LS เติม dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ