

อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อต้นมเหลักซ์และสักสยามินทร์
(*Tectona grandis* L.) และการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กรรม
โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS OF
TEAK (*Tectona grandis* L.) AND *IN VITRO* CONSERVATION
BY TISSUE CULTURE



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2564

KMITL-2021-SC-M-020-029

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS OF
TEAK (*Tectona grandis* L.) AND *IN VITRO* CONSERVATION
BY TISSUE CULTURE



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2021

KMITL-2021-SC-M-020-029

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2021

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์

อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ (*Tectona grandis* L.) และการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรม โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชื่อนักศึกษา

นางสาวพิมพ์ชนก ทองสาต

รหัสประจำตัว

60605051

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา

ชีววิทยา

พ.ศ.

2564

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์

ดร.ปิยรัชฎ์ ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์

บทคัดย่อ

ต้นสัก (*Tectona grandis* L.) เป็นไม้ป่าเขตร้อนอยู่ในวงศ์ Verbenaceae มีการปลูกต้นสักเพื่อตัดไม้ขายเชิงพาณิชย์มากกว่าการปลูกเพื่ออนุรักษ์ จึงได้มีการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นมเหสักข์และสักสยามินทร์ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาวะปลอดเชื้อ โดยการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ พบว่า ชิ้นส่วนพืชที่พอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และพบการเกิดยอดร้อยละ 100 จากนั้นทำการศึกษาศูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐาน พบว่า ชิ้นส่วนพืชเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นมเหสักข์และสักสยามินทร์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 2.60 และ 2.00 ยอด และ ความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.76 และ 3.78 เซนติเมตร ตามลำดับ ต่อมาได้ศึกษาตำแหน่งของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ต้นมเหสักข์และสักสยามินทร์ ตำแหน่งชิ้นส่วนข้อที่ 1 สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 1.41 ยอด และ 1.22 ยอด ตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาศูตรควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนแคลลัส พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงต้นมเหสักข์และสักสยามินทร์บนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 1.6 และ 0.6 ยอด ตามลำดับ จากนั้นศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากจากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐาน พบว่า ชิ้นส่วนข้อของต้นมเหสักข์ และชิ้นส่วนข้อที่ติดฐานของต้นสักสยามินทร์ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากได้ดีที่สุด และต่อมาได้ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดสมบูรณ์ พบว่า ต้นมเหสักข์และสักสยามินทร์ที่นำยอดจุ่มลงในสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการรอดชีวิตร้อยละ 66.67 และ 33.33 ตามลำดับ หลังจากออกปลูกต่อเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นศึกษาการนำต้นมเหสักข์และสักสยามินทร์ออกปลูก พบว่า ต้นมเหสักข์และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับของเอกสารฉบับนี้ ไม่สามารถนำเอกสารฉบับนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารได้ หากมีการนำเอกสารฉบับนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสาร อาจทำให้เอกสารฉบับนี้เสียหายได้

สักระยะ 66.67 และ 100 ตามลำดับ เมื่อทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสในสภาพเยือกแข็ง โดยใช้เทคนิค vitrification (vi) dehydration (de) encapsulation-vitrification (envi) และ encapsulation-dehydration (ende) พบว่า เทคนิค vi ที่ใช้สาร LS เป็นเวลา 40 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 10 นาที สามารถเก็บรักษาแคลลัสของต้นมะเขือในสภาพเยือกแข็งได้ โดยพบการรอดชีวิตสูงสุดร้อยละ 40 จากนั้นศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อและแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโต พบว่า ชิ้นส่วนข้อและแคลลัสของต้นมะเขือ สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด คือ ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ และต้นสักระยะ สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด คือ ชิ้นส่วนข้อและแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และศึกษาการเจริญเติบโตใหม่ของพืชหลังจากผ่านการชะลอการเจริญเติบโต พบว่า ชิ้นส่วนข้อและแคลลัสที่รอดชีวิตหลังจากการชะลอการเจริญเติบโต สามารถเจริญเติบโตต่อเป็นต้นสมบูรณ์ได้

คำสำคัญ : การเก็บรักษาพืชสภาพเยือกแข็ง การชะลอการเจริญเติบโต การชักนำให้เกิดยอดใหม่ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มะเขือ สักระยะ

Thesis Title	Effect of Plant Growth Regulators of Teak (<i>Tectona grandis</i> L.) and <i>In Vitro</i> Conservation by Tissue Culture
Student Name	Miss Pimchanok Tongsad
Student ID	60605051
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2021
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Anurug Poeaim
Thesis Co-advisor	Dr. Piyarat Parinyapong Chareonsap

Abstract

Teak (*Tectona grandis* L.) is a tropical forest tree belonging to the family Verbenaceae. Teak trees are grown for commercial purposes rather than for conservation. Therefore, the researcher has chosen to study the propagation of Mahesak and Syamindra teak by tissue culture technique. Sterilization of shoot tip and node explants found that 0.1 % mercuric chloride can inhibit the contamination of microorganisms and the percentage of shoot induction 100 %. Then, the study of culture conditions and plant growth regulators suitable for shoot induction used shoot tip, node and base explants found that Mahesak and Syamindra teak explants on WPM medium supplemented with 0.25 mg/L BAP was superior to others for the highest mean number of shoots (2.60 and 2.00 shoots) and mean length of shoots (3.76 and 3.78 cm) respectively. Then, the study of different parts of shoot tip, node and base explants for shoot induction. Explants were cultured on WPM medium supplemented with 0.25 mg/L BAP found that node 1 of Mahesak and Syamindra teak explants was superior to others for shoot induction and highest mean number of shoots (1.41 and 1.22 shoots) respectively. Then, the study of plant growth regulators suitable for shoot regeneration used callus found that Mahesak and Syamindra teak explants on WPM medium supplemented with 3 mg/L BAP containing 0.1 % activated charcoal had the highest mean number of shoots (1.6 and 0.6 shoots) respectively. Then, the study of plant growth regulators suitable for shoot and root induction used shoot tip, node and base explants found that node of Mahesak and base of Syamindra teak to culture on WPM medium supplemented with 0.25 mg/L BAP containing 0.1 mg/L NAA able to induce excellent shoot and root. Then, the study of plant growth regulators suitable for root induction used shoot. The base of shoot was dipped in 7 mg/L NAA found that the percentage survival rate was 66.67 % of Mahesak and 33.33 % of Syamindra teak

เอกสารนี้เผยแพร่เพื่อการศึกษาเท่านั้น หากมีการนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

shoot within an eight-week culture period. Then, the study of acclimatization of Mahesak and Syamindra teak found that the percentage survival rate of Mahesak was 66.67 % and the percentage survival rate of Syamindra teak was 100 % within a four-week plant period.

The study of cryopreservation of shoot tip explants and callus by vitrification (vi) dehydration (de) encapsulation-vitrification (envi) and encapsulation-dehydration (ende) techniques found that vi technique dehydrated in LS for 40 min, and then soaked in PVS2 solution for 10 min, able to cryopreservation of Mahesak callus was survival rate 40 %. The study of slow growth preservation of node explants and callus found that node explants of Mahesak culture on WPM medium supplemented with 0.2 M sorbitol and callus of Mahesak culture on WPM medium supplemented with 0.3 M sorbitol were able to inhibit the growth and maintain quality node for up to 12 weeks. Node explants and callus of Syamindra teak culture on WPM medium supplemented with 0.3 M sorbitol could inhibit the growth and maintain quality nodes for up to 12 weeks. Node explants and callus from the slow growth experiment were able to regrowth successfully.

Keywords : Cryopreservation, Slow growth, Regeneration, Plant tissue culture, Mahesak, Syamindra teak

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สามารถทำสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณา และความช่วยเหลือจาก รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เยี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ดร.ปิยรัชฎ์ ปริญาพงษ์ เจริญทรัพย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ และให้การช่วยเหลือ ในการแก้ไขปัญหาจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณ ศ.ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ ประธานกรรมการ และ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้สละเวลา และให้คำแนะนำ รวมถึงช่วยตรวจสอบ และแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างต้นมเสลักซ์และสักสยามินทร์ และเชื้อเพื่อสถานที่ในการทำวิจัยภายในโครงการสวนพระองค์สวนจิตรลดา ถนนราชวิถี แขวงสวนจิตรลดา เขตดุสิต กรุงเทพมหานคร และขอขอบพระคุณ พี่ๆเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่คอยให้คำปรึกษาต่างๆ ตลอดการดำเนินงานครั้งนี้

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และอาจารย์ผู้สอนทุกท่านที่ได้มอบความรู้ให้แก่ข้าพเจ้า และเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาชีววิทยา ที่เอื้ออำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ สำหรับการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกท่านที่เป็นทั้งผู้ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางที่เหมาะสม และช่วยเป็นกำลังใจเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว อันเป็นที่รักและเคารพ ที่คอยเป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนในด้านการศึกษาตลอดมา ข้าพเจ้าหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อบุคคลที่สนใจไม่มากนักน้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใด ขออภัยมา ณ ที่นี้

นางสาวพิมพ์ชนก ทองสาธิต

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญรูป.....	ฐ
คำย่อ/สัญลักษณ์.....	ด
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ข้อมูลทั่วไปของต้นสัก.....	3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....	3
2.1.2 ประโยชน์ของต้นสัก.....	4
2.1.3 สรรพคุณของสัก.....	4
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....	5
2.2.1 อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....	5
2.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.....	6
2.3 การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ.....	7
2.3.1 การเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation).....	7
2.3.2 การเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชโดยการชะลอการเจริญเติบโต (slow growth).....	7
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
2.4.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช.....	8
2.4.2 การชักนำให้เกิดยอดและแคลลัส.....	8
2.4.3 การชักนำให้เกิดรากและการนำต้นพืชออกปลูกในธรรมชาติ.....	9
2.4.4 การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพเยือกแข็งและการชะลอการเจริญเติบโต.....	11
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	14
3.1 ตัวอย่างพืชที่ใช้ศึกษา.....	14
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี.....	14
3.2.1 อาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....	14
3.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.....	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านใด ๆ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.3 สารเคมีที่ใช้ปรับความเป็นกรด-ด่าง.....	14
3.2.4 สารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	14
3.2.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	15
3.3 วิธีการดำเนินงาน.....	16
3.3.1 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....	16
3.3.2 การศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของ ต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์.....	16
3.3.3 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่ จากชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์.....	16
3.3.4 การศึกษาดำรงของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถ ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์.....	17
3.3.5 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอด ใหม่จากชิ้นส่วนแคลลัสของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์.....	17
3.3.6 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอด ใหม่และรากจากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานของ ต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์.....	18
3.3.7 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดราก จากยอดสมบูรณ์ของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์.....	19
3.3.8 การนำต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ออกปลูก.....	19
3.3.9 การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสของต้น มเหสักข์ และสักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) โดยใช้เทคนิค vitrification (vi) dehydration (de) encapsulation- vitrification (envi) และ encapsulation-dehydration (ende).....	20
3.3.10 การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อและแคลลัสของต้น มเหสักข์ และสักสยามินทร์ โดยการชะลอการเจริญเติบโตในการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (slow growth).....	22
3.3.11 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ.....	22
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	23
4.1 การศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์.....	23
4.2 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่.....	26
4.3 การศึกษาดำรงของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชัก นำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด.....	35
4.4 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จาก ชิ้นส่วนแคลลัส.....	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.5 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากจากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐาน.....	46
4.6 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดสมบูรณ์.....	53
4.7 การนำต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ออกปลูก.....	55
4.8 การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) โดยใช้เทคนิค vitrification (vi) dehydration (de) encapsulation-vitrification (envi) และencapsulation-dehydration (ende).....	56
4.9 การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อและแคลลัสของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ โดยการชะลอการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (slow growth).....	71
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	82
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	82
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	84
เอกสารอ้างอิง.....	85
ภาคผนวก.....	90
ภาคผนวก ก.....	91
ภาคผนวก ข.....	94
ประวัติผู้เขียน.....	97

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ผลการศึกษาการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นนมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	24
4.2 ผลการศึกษาการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นสักระยาจันทร์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	25
4.3 ผลการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานของต้นนมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	28
4.4 ผลการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานของต้นนมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	29
4.5 ผลการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานของต้นสักระยาจันทร์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	31
4.6 ผลการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานของต้นสักระยาจันทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	33
4.7 ผลการศึกษาตำแหน่งของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดของต้นนมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปลี่ยนย้ายอาหารทุก 5 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง.....	36
4.8 ผลการศึกษาตำแหน่งของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดของต้นสักระยาจันทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปลี่ยนย้ายอาหารทุก 5 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง.....	38

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.9	ผลการศึกษาศารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จาก ชิ้นส่วนแคลลัสของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	41
4.10	ผลการศึกษาศารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จาก ชิ้นส่วนแคลลัสของต้นสักสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ ลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความ เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็น เวลา 8 สัปดาห์.....	44
4.11	ผลการศึกษาศารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่และ รากจากชิ้นส่วนปลายยอด ช่อ และข้อที่ติดฐานของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็ง สูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	48
4.12	ผลการศึกษาศารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่และ รากจากชิ้นส่วนปลายยอด ช่อ และข้อที่ติดฐานของต้นสักสยามินทร์ บนอาหาร แข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้น ต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	51
4.13	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นมเหสักข์ในสภาพ เยือกแข็งโดยใช้เทคนิค vi บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความ เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	59
4.14	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ใน สภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค vi บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	59
4.15	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดย ใช้เทคนิค vi บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	60

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.16	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นสักระยะในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค vi บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	61
4.17	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	62
4.18	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นสักระยะในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	62
4.19	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	63
4.20	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นสักระยะในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	64
4.21	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	65
4.22	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นสักระยะในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	65
4.23	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	66
4.24	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นสักระยะในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	67
4.25	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	68

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.26	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นสักระยาหมี่ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	68
4.27	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	69
4.28	ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นสักระยาหมี่ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	70
4.29	ผลความยาวยอดของต้นมเหสักข์ เมื่อทำการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์.....	74
4.30	ผลขนาดแคลลัสของต้นมเหสักข์ เมื่อทำการเก็บรักษาแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์.....	76
4.31	ผลความยาวยอดของต้นสักระยาหมี่ เมื่อทำการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์.....	78
4.32	ผลขนาดแคลลัสของต้นสักระยาหมี่ เมื่อทำการเก็บรักษาแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์.....	80
5.1	องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร WPM.....	91
5.2	องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS.....	92

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ลักษณะต่างๆ ของต้นสัก (ก) ลักษณะลำต้นของต้นสัก (ข) ลักษณะใบของต้นสัก (ค) ลักษณะดอกของต้นสัก (ง) ลักษณะผลของต้นสัก.....	4
4.1	ลักษณะขึ้นส่วนพืชของต้นมเหสักข์ที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พอกด้วยเมอร์คิวรีคลอไรด์ ความเข้มข้น (ก) 0.05 เปอร์เซ็นต์ (ข) 0.1 เปอร์เซ็นต์ (ค) 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ.....	25
4.2	ลักษณะขึ้นส่วนพืชของต้นสักสยามินทร์ที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พอกด้วยเมอร์คิวรีคลอไรด์ ความเข้มข้น (ก) 0.05 เปอร์เซ็นต์ (ข) 0.1 เปอร์เซ็นต์ (ค) 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ.....	26
4.3	จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	28
4.4	ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	29
4.5	จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	30
4.6	ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	30
4.7	ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่ของต้นมเหสักข์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ บนอาหาร (ก) MS ที่ประกอบด้วย <i>mT</i> ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) MS ที่ประกอบด้วย <i>mT</i> ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) WPM ที่ประกอบด้วย <i>mT</i> ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ.....	31
4.8	จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นสักสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	32

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.9	ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นสักระยะมินทร์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	32
4.10	จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นสักระยะมินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	33
4.11	ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นสักระยะมินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ <i>mT</i> ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	34
4.12	ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ของต้นสักระยะมินทร์ (ก) เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ประกอบด้วย <i>mT</i> ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ.....	34
4.13	จำนวนยอดเฉลี่ยจากการศึกษาตำแหน่งที่แตกต่างกันในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นมะเขือเทศ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปลี่ยนย้ายอาหารทุก 5 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง.....	37
4.14	ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดจากตำแหน่งพืชที่แตกต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ของต้นมะเขือเทศที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ชิ้นส่วนข้อที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 1 (ข) ชิ้นส่วนข้อที่ติดฐานที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 2 (ค) ชิ้นส่วนข้อที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 3 ตามลำดับ.....	37
4.15	จำนวนยอดเฉลี่ยจากการศึกษาตำแหน่งที่แตกต่างกันในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นสักระยะมินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปลี่ยนย้ายอาหารทุก 5 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง.....	39
4.16	ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดจากตำแหน่งพืชที่แตกต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ของต้นสักระยะมินทร์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ชิ้นส่วนข้อที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 1 (ข) ชิ้นส่วนข้อที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 2 (ค) ชิ้นส่วนข้อที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 3 ตามลำดับ.....	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.17	จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	42
4.18	ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	42
4.19	ขนาดแคลลัสเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	43
4.20	ลักษณะแคลลัสของต้นมเหสักข์ที่ชักนำให้เกิดยอดใหม่ บนอาหารแข็งสูตร WPM (ก) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ค) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ง) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (จ) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ฉ) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ.....	43
4.21	จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นสักสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	44

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.22	ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นสักระยะมินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	45
4.23	ขนาดแคลลัสเฉลี่ยของต้นสักระยะมินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	45
4.24	ลักษณะแคลลัสของต้นสักระยะมินทร์ที่ชักนำให้เกิดยอดใหม่ บนอาหารแข็งสูตร WPM (ก) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ค) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ง) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (จ) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ฉ) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ.....	46
4.25	จำนวนยอดและรากเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	49
4.26	ความยาวยอดและรากเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	49
4.27	ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากที่ดีที่สุดของต้นมเหสักข์ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	50
4.28	จำนวนยอดและรากเฉลี่ยของต้นสักระยะมินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	52

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.29	ความยาวยอดและรากเฉลี่ยของต้นสักระยะมินท์ บอนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	52
4.30	ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากที่ดีที่สุดของต้นสักระยะมินท์ ที่เพาะเลี้ยงบอนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	53
4.31	ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นมะลัดกซ์ โดยชักนำให้เกิดรากโดยการจุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตเร่งราก NAA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ออกปลูกแบบคลุมถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ (ข) ออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกออกครบ 8 สัปดาห์.....	54
4.32	ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นสักระยะมินท์ โดยชักนำให้เกิดรากโดยการจุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตเร่งราก NAA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ออกปลูกแบบคลุมถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ (ข) ออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกออกครบ 8 สัปดาห์.....	54
4.33	ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นกล้วยมะลัดกซ์ (ก) เมื่อออกปลูกแบบคลุมถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง (ข) เมื่อออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง (ค) เมื่อออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายนอกห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง.....	55
4.34	ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นกล้วยมะลัดกซ์ (ก) เมื่อออกปลูกแบบคลุมถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง (ข) เมื่อออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง (ค) เมื่อออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายนอกห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง.....	56
4.35	ลักษณะขึ้นส่วนปลายยอดเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค vi ผ่านการแช่สาร LS เป็นเวลา 0 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 0 นาที หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บอนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ปลายยอดของต้นมะลัดกซ์ LN- (ข) ปลายยอดของต้นมะลัดกซ์ LN+ (ค) ปลายยอดของต้นสักระยะมินท์ LN- (ง) ปลายยอดของต้นสักระยะมินท์ LN+.....	60

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.36	ลักษณะแคลลัสเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค vi ผ่านการแช่สาร LS เป็นเวลา 40 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 10 นาที หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN- (ข) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN+.....	61
4.37	ลักษณะปลายยอดเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi ผ่านการแช่สาร LS เป็นเวลา 0 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 0 นาที หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN- (ข) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN+.....	63
4.38	ลักษณะแคลลัสเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi ผ่านการแช่สาร LS เป็นเวลา 0 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 0 นาที หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN- (ข) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN+.....	64
4.39	ลักษณะชิ้นส่วนปลายยอดเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de เป็นเวลา 0 ชั่วโมง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN- (ข) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN+.....	66
4.40	ลักษณะแคลลัสเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de เป็นเวลา 0 ชั่วโมง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN- (ข) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN+.....	67
4.41	ลักษณะชิ้นส่วนปลายยอดเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende เป็นเวลา 0 ชั่วโมง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN- (ข) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN+.....	69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่		
4.42	ลักษณะแคลลัสเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende เป็นเวลา 0 ชั่วโมง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN- (ข) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN+.....	70
4.43	ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 8 และ 12 สัปดาห์.....	75
4.44	ลักษณะความยาวยอดของต้นมเหสักข์ เมื่อทำการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ค) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ง) หลังจากย้ายชิ้นส่วนข้อมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการเจริญเติบโตใหม่ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	75
4.45	ขนาดแคลลัสเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 8 และ 12 สัปดาห์.....	77
4.46	ลักษณะขนาดแคลลัสของต้นมเหสักข์ เมื่อทำการเก็บรักษาแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ค) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ง) หลังจากย้ายแคลลัสมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการเจริญเติบโตใหม่ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	77
4.47	ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นสักสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 8 และ 12 สัปดาห์.....	79

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.48	ลักษณะความยาวยอดของต้นสักระยาหมี่ เมื่อทำการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อ โดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ค) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ง) หลังจากย้ายชิ้นส่วนข้อมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการเจริญเติบโตใหม่ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	79
4.49	ขนาดแคลลัสเฉลี่ยของต้นสักระยาหมี่ บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 8 และ 12 สัปดาห์.....	81
4.50	ลักษณะขนาดแคลลัสของต้นสักระยาหมี่ เมื่อทำการเก็บรักษาแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ค) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ง) หลังจากย้ายแคลลัสมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการเจริญเติบโตใหม่ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	81

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	ชื่อเต็ม
AA	กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid)
ABA	กรดแอบไซซิก (Absciscic acid)
BAP	6-Benzylaminopurine
CaCl ₂	สารแคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride)
de	เทคนิค Dehydration
ende	เทคนิค Encapsulation-dehydration
envi	เทคนิค Encapsulation-dehydration
GA ₃	Gibberellic acid
IBA	Indole-3-butyric acid
LS	Loading solution
MS	อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962)
mT	meta-Topolin
NAA	1-Naphthaleneacetic acid
Na-alginate	สารโซเดียมแอลจิเนต (Sodium alginate)
PVS2	Plant Vitrification Solution Formula 2
TDZ	Thidiazuron
US	Unloading solution
vi	เทคนิค Vitrification
WPM	อาหารสังเคราะห์สูตร Woody Plant Medium (1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ต้นสัก (Teak) มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Tectona grandis* L. อยู่ในวงศ์ Verbenaceae เป็นไม้ป่าเขตร้อน มีถิ่นกำเนิดอยู่ในภูมิภาคเอเชียตอนใต้ พบมากในประเทศ อินเดีย อินโดนีเซีย พม่า และไทย สำหรับในประเทศไทย มีการกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติในจังหวัดแม่ฮ่องสอน เชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน ลำพูน ลำปาง ตาก อุตรดิตถ์ และนครสวรรค์ เป็นต้น สักเป็นไม้ที่มีชื่อเสียงรู้จักกันแพร่หลายทั่วโลก เนื้อไม้สักสามารถใช้ประโยชน์ได้หลากหลายรูปแบบ เนื่องจากมีคุณสมบัติของเนื้อไม้ที่ละเอียด ตกแต่งง่าย ลวดลายสวยงาม และมีความทนทานต่อสภาพภูมิอากาศ จึงเป็นที่ต้องการของตลาดโลกอย่างมาก (ธิตี, 2556) โดยการเจริญของต้นสักในธรรมชาติจะไม่พบปัญหาด้านโรคพืชหรือแมลงศัตรูพืชมากนักหากมีการเจริญเติบโตในสภาพนิเวศที่เหมาะสม ซึ่งในปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงสภาพนิเวศของป่าจากป่าธรรมชาติมาเป็นป่าที่ปลูกเพื่อเศรษฐกิจ มีการปลูกพืชเชิงเดี่ยวหรือพืชชนิดเดียว ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านระบบนิเวศป่าไม้หรือการปลูกในสวนที่มีสภาพแวดล้อมแบบเปิด จึงพบปัญหาโรคพืชและแมลงศัตรูพืช เช่น โรคราสนิม (leaf rust) โรคราแป้งขาว (powdery mildew) โรคปุ่มปม (gall) และโรครากเน่า (root rot) (กฤษณา, 2555) แมลงศัตรูพืชที่สำคัญและทำให้เกิดความเสียหายร้ายแรงต่อต้นสัก ได้แก่ หนอนผีเสื้อเจาะต้นสัก หนอนผีเสื้อกินใบสัก หนอนสร้างปมต้นสัก และด้วงน้ำมัน เป็นต้น (ฉวีวรรณ และสุโกชาติ, 2539) นอกจากนี้ยังพบปัญหาที่สำคัญคือ การปลุกสักโดยการเพาะเมล็ดมีปัจจัยจำนวนมากที่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ด เช่น ความชื้นของเปลือก เมล็ดจำนวนมากเป็นผลเปล่า และอายุของแม่ไม้ (กรมป่าไม้, 2556) ซึ่งทำให้เป็นไปได้ยากที่จะได้ต้นกล้าที่สมบูรณ์หรือได้ขนาดต้นกล้าที่เท่ากัน และเมล็ดสักยังมีการงอกที่ช้า หากไม่มีการเตรียมเมล็ดที่ดีพอเมล็ดจะงอกได้น้อย (วิเชียร, 2522) ทำให้ได้จำนวนต้นสักไม่เพียงพอทั้งในเชิงพาณิชย์และการอนุรักษ์ แม้ว่าในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการรณรงค์การทำสวนป่าไม้สักมากขึ้น แต่ไม่ได้เป็นการเพิ่มปริมาณต้นสักในประเทศให้สูงขึ้น เนื่องจากเป็นเพียงการปลูกต้นสักเพื่อตัดไม้ขายเชิงพาณิชย์มากกว่าการปลูกเพื่ออนุรักษ์ ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นสักโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาวะปลอดเชื้อ เนื่องจากการขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วและต้นพืชที่ได้จะปลอดโรค (อรดี, 2542) โดยต้นสักที่ใช้ในการวิจัย คือ ต้นมเหล็ก และสักสยามินทร์ ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) เพื่อขยายพันธุ์ต้นมเหล็ก และสักสยามินทร์ให้มีจำนวนมากขึ้น สำหรับการนำไปปลูกเพื่อเชิงพาณิชย์และเพื่ออนุรักษ์พันธุ์ของต้นสัก

ต้นสักเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความเสี่ยงต่อภาวะสูญพันธุ์ จึงได้มีการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนของต้นมเหล็ก และสักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) ซึ่งเป็นการเก็บรักษาเนื้อเยื่อพืชในระยะยาว (long term storage) เป็นการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชไว้ในสภาพอุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง โดยจะเก็บรักษาพืชในไนโตรเจนเหลว (LN) ที่มีอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชที่มีประสิทธิภาพและค่าใช้จ่ายต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเก็บรักษาแบบอื่นๆ และเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนของต้นมเหล็ก และสักสยามินทร์โดยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การชะลอการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (slow growth) ซึ่งเป็นการเก็บรักษาเนื้อเยื่อพืชในระยะปานกลาง (minimal growth storage) โดยจะเพาะเลี้ยงให้มีการเจริญเติบโตที่ช้าลงซึ่งช่วยลดการเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงและความเสี่ยงของการเกิดการผันแปรทางพันธุกรรม (Engelmann, 2000) เพื่ออนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์เอาไว้ นำไปใช้ประโยชน์ในงานวิจัยอื่นๆ หรือการเพาะเลี้ยงให้เกิดเป็นต้นใหม่เพื่อการขยายพันธุ์ต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์
- 2) เพื่อศึกษาตำแหน่งของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์
- 3) เพื่อศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์จากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์
- 4) เพื่อศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์จากชิ้นส่วนแคลลัสของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์
- 5) เพื่อศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ ในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) และการชะลอการเจริญเติบโต (slow growth)

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ ศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์จากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐาน ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) และศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชโดยการชะลอการเจริญเติบโต (slow growth) ในสภาพปลอดเชื้อ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบสูตรการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์
- 2) ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์
- 3) สามารถขยายพันธุ์ต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์เพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุ์ต้นสัก โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- 4) เป็นข้อมูลในการศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ เพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในต้นสักสายพันธุ์อื่นต่อไป

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของต้นสัก

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

2.1.1.1 ต้นสักทั่วไป (โชคชัย, 2536)

ลำต้นสักเป็นต้นไม้ผลัดใบขนาดใหญ่ มีลำต้นเปลาตรง โดยทั่วไปสูงเกินกว่า 20 เมตร มีเรือนยอดที่กลม โดยปราศจากกิ่งจนใกล้จะถึงเรือนยอด ยอดมีลักษณะเป็นพุ่มกว้าง สีของลำต้นเป็นสีน้ำตาลปนเทาเปลือกแตกเป็นร่อง เนื้อไม้สีน้ำตาลทองหรือเหลืองทอง ถึงสีน้ำตาลแก่มีลายเป็นเส้นสีน้ำตาลแทรก (รูปที่ 2.1 ก) เห็นเส้นวงปีเด่นชัดและลายเส้นวงปีนี้จะบอกถึงอายุของต้น โดยความโต 1 วงจะใช้เวลา 1 ปี

ใบสักจะแตกออกตามกิ่งหรือตามลำต้นเล็กของกล้าไม้ ลักษณะจะเกิดเป็นคู่ตรงกันข้าม ต้นสักที่มีอายุน้อยใบจะมีขนาดใหญ่ มีความกว้าง 40 เซนติเมตรและยาว 80 เซนติเมตร เมื่อต้นสักอายุมากขึ้นขนาดใบจะลดลง รูปของใบรีมนหรือรูปไข่ (รูปที่ 2.1 ข) เมื่อสัมผัสใบท้องใบจะสาก และหลังใบจะมีสีเขียวแกมเทาเป็นขน ใบอ่อนจะมีสีน้ำตาลแดงและมีขนอ่อนนุ่ม เมื่อจับขยี้จะมีสีแดงคล้ำเลือด

ดอกสักช่อหนึ่งยาวประมาณ 40-60 เซนติเมตร แต่ละช่อดอกประกอบด้วยดอกเล็กๆ มีสีขาวหรือขาวแต้มนวล มีกลีบเลี้ยง 6 กลีบ กลีบดอกรูปกรวยปลายแยกเป็น 6 กลีบ มักจะออกดอกเป็นช่อที่ปลายกิ่งและมีจำนวนมากประมาณ 750-3,000 ดอก (รูปที่ 2.1 ค) ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของช่อดอกและลำต้น

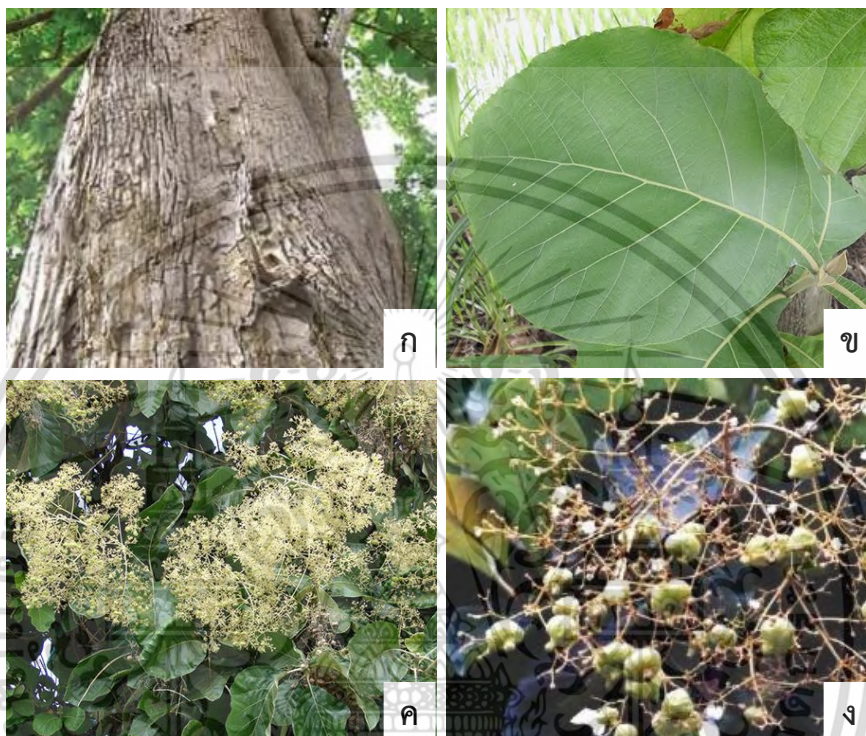
หลังจากการผสมเกสร ดอกสักจะเจริญเติบโตเป็นผลเล็กๆใช้เวลาประมาณ 50 วัน ผลจึงจะเจริญเต็มที่ ลักษณะของผลค่อนข้างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 เซนติเมตร ในหนึ่งผลจะมีเมล็ดภายในจำนวน 1-4 เมล็ด ผลอ่อนจะเป็นสีเขียว (รูปที่ 2.1 ง) และผลแก่จะเป็นสีน้ำตาล เปลือกแข็งมีขนที่สั้นและนุ่ม

2.1.1.2 ต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ (โครงการรักษาดินไม้ เพื่อน้อมรำลึกพระมหากรุณาธิคุณของพระบาทสมเด็จพระปรมินทรมหาภูมิพลอดุลยเดช ผู้ทรงเป็น พระบิดาแห่งการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2561 ; โครงการพฤกษานุกรม มเหสักข์ นวมินทรานุสร, ม.ป.ป.)

- ต้นมเหสักข์เป็นต้นสักที่ใหญ่และมีอายุมากที่สุดในโลกมีอายุมากกว่า 1,500 ปี สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ได้ทรงพระกรุณา โปรดเกล้าฯ พระราชทานนามว่า มเหสักข์ เพื่อความเป็นสิริมงคลต่อพสกนิกรชาวไทย เมื่อวันที่ 29 กันยายน 2552 ปัจจุบันอยู่ภายในวนอุทยานต้นสักใหญ่ บ้านปางเกลือ ตำบลน้ำไคร้ อำเภอน้ำปาด จังหวัดอุตรดิตถ์ ลักษณะมีลำต้นตรงเปลือกเรียบหรือแตกเป็นร่องเล็ก เปลือกหนา ใบเป็นใบเดี่ยวขนาดใหญ่ ออกตรงข้ามกันเป็นคู่ปลายใบแหลม ดอกมีขนาดเล็กสีขาวนวลออกเป็นช่อตามปลายกิ่ง และผลเป็นผลแห้งค่อนข้างกลมเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร เปลือกแข็งภายในมี 1-4 เมล็ด ลักษณะของเนื้อไม้สีเหลืองทองถึงสีน้ำตาลแก่ มีลายเป็นเส้นสีน้ำตาลแก่แทรก แข็งปานกลาง ตบแต่งง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ต้นสักสยามินทร์เป็นต้นสักสองต้นที่มีอายุไม่น้อยกว่า 115 ปี เป็นต้นสักที่พระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าฯ เฝ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 5 ทรงมีพระมหากรุณาโปรดเกล้าฯ ให้นำต้นสักจากม่อนจำศีล ไปปลูกที่ม่อนจุจจา (ม่อนชิงช้า) เมื่อคราวเสด็จฯ ประพาสหัวเมืองฝ่ายเหนือ เมื่อปี พ.ศ. 2444 ซึ่งในปัจจุบันอยู่ที่หน้าท่าว่าการอำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ จากการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprint) พบว่า ต้นสักสยามินทร์มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นมเหสักข์มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เชื่อได้ว่าต้นสักสยามินทร์เป็นสายพันธุ์ที่สืบทอดมาจากต้นมเหสักข์



รูปที่ 2.1 ลักษณะต่างๆ ของต้นสัก (ก) ลักษณะลำต้นของต้นสัก (ข) ลักษณะใบของต้นสัก (ค) ลักษณะดอกของต้นสัก (ง) ลักษณะผลของต้นสัก
(ที่มา : (ก และ ง) สำนักส่งเสริมการปลูกป่า กรมป่าไม้, 2556 ; (ข และ ค) MedThai, 2560)

2.1.2 ประโยชน์ของต้นสัก (สำนักส่งเสริมการปลูกป่า กรมป่าไม้, ม.ป.ป ; MedThai, 2560)

ต้นสักสามารถนำไม้สักมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายรูปแบบตามอายุและขนาดของไม้ เช่น ไม้ซุงขนาดใหญ่ นำมาใช้ในการก่อสร้างอาคาร บ้านเรือน ไม้อัด ไม้ปาร์เก้ งานแกะสลัก และเฟอร์นิเจอร์ต่างๆ เป็นต้น ส่วนไม้ซุงขนาดเล็กนิยมนำมาทำบ้านไม้ซุงได้อย่างสวยงาม ทนทาน สามารถนำมาทำวงกบประตูหรือหน้าต่างได้ เนื่องจากไม้สักมีเนื้อไม้ลวดลายที่สวยงาม เห็นเส้นวงปีได้ชัดเจน เนื้อไม้มีความแข็งแรงปานกลางแต่โดดเด่นเรื่องความทนทาน สามารถเลื่อย ผ่า ไสกบดกแต่งได้ง่าย และชักเงาได้ดี สัตว์จำพวก ปลวก มอด จะไม่ชอบทำลายไม้สักเพราะมีสารเทคโทควิโนน (tectoquinone) ทำให้มีคุณสมบัติคงทนต่อปลวก แมลง เห็ดราขึ้นได้ดี

2.1.3 สรรพคุณของสัก (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.1 ใบ

- นำมาต้มกับน้ำรับประทานเป็นยาลดระดับน้ำตาลในเลือด
- ใบมีรสเผ็ดเล็กน้อย สรรพคุณเป็นยาบำรุงโลหิต
- ใบใช้ทำเป็นยาอมแก้เจ็บคอ
- ใช้เป็นยาแก้ทางเดินปัสสาวะอักเสบ
- ช่วยรักษาประจำเดือนไม่ปกติ

2.1.3.2 เนื้อไม้

- มีรสเผ็ดเล็กน้อย สรรพคุณเป็นยาบำรุงโลหิต
- ช่วยแก้อาการอ่อนเพลีย
- ช่วยแก้ไข้ คุมธาตุในร่างกาย
- ใช้รับประทานเป็นยาขับลม
- เนื้อไม้มีสรรพคุณเป็นยาขับพยาธิ
- ช่วยรักษาโรคผิวหนัง
- ส่วนเนื้อไม้มีสรรพคุณเป็นยาแก้บวม
- ช่วยแก้ลมในกระดูก

2.1.3.3 เปลือกไม้

- เปลือกไม้มีสรรพคุณแก้อาการปวดศีรษะ
- เปลือกมีสรรพคุณเป็นยาฝาดสมาน

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) หมายถึง การนำส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งอาจจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ หรือโพรโทพลาสต์ นำมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ (aseptic condition) โดยเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ ในสภาพแวดล้อมที่มีการควบคุม เช่น แสง อุณหภูมิ และความชื้น (พัชรา, 2550) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนของเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดจะมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันออกไป เนื่องจากเซลล์ของพืชแต่ละชนิดมีความสามารถในการเจริญเติบโตที่ไม่เท่ากัน โดยนิยมใช้ส่วนของเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย เพราะเป็นส่วนที่มีความสามารถในการเจริญเติบโตดีที่สุด (อนุรักษ์, 2550) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีประโยชน์ต่อการปรับปรุงพืชในหลายด้าน เช่น การขยายพันธุ์พืช การผลิตพืชที่ปลอดโรค การผสมพันธุ์พืชต่างชนิดโดยการเชื่อมต่อโพรโทพลาสต์ การย้ายยีนเข้าไปในต้นพืช การเก็บรักษาแหล่งพันธุกรรม และการสร้างความแปรผันทางพันธุกรรม เป็นต้น (อรุณี, 2550)

2.2.1 อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (พัชรา, 2550)

ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่สำคัญ ได้แก่ อาหารสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นเพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งต้องมีความเหมาะสม สามารถส่งเสริมการเจริญของเซลล์และเนื้อเยื่อพืชได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.1 องค์ประกอบหลักของ อาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ โดยทั่วไป มีดังต่อไปนี้

1) เกลืออนินทรีย์ ให้แร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชทั่วไป ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) ซัลเฟอร์ (S) แมกนีเซียม (Mg) เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) โบรอน (B) ทองแดง (Cu) โคบอลต์ (Co) และโมลิบดีนัม (Mo) ในบางสูตรเติมไอโอดีน (I)

2) คาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาลซึ่งจะให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตในหลอดทดลอง นิยมใช้ซูโครส (sucrose) ประมาณร้อยละ 2-5 โดยน้ำหนัก

3) วิตามิน ช่วยการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เป็นไปได้อย่างดี โดยปกติพืชสามารถสังเคราะห์วิตามินได้เอง แต่ในหลอดทดลองอาจสร้างได้ไม่เพียงพอ จึงมักต้องเติมให้เสมอ คือ ไทอามีน (Thiamine) 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ การให้วิตามินเสริมจำพวกนิโคตินิกแอซิด (Nicotinic acid) ไพริดอกซินไฮโดรคลอไรด์ (Pyridoxine hydrochloride) ไมโออินอซิโทส (myoinositol) โฟลิกแอซิด (folic acid) และแคลเซียมดีเพนโทเทเนต (Ca D-pentothenate) และยังช่วยกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อพืชบางชนิดอีกด้วย

4) กรดอะมิโน เป็นแหล่งให้ไนโตรเจน เช่น การเติมเคซีน ไฮโดรไลเซต (casein hydrolysate) ร้อยละ 0.02-1.00 ช่วยให้มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นอวัยวะได้ดีขึ้น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พบว่า มีผลช่วยชักนำให้เกิดยอด ราก และเอ็มบริโอจากเซลล์ที่ไม่เกี่ยวกับเพศด้วย

5) กรดอินทรีย์ เช่น ซิเตรต (citrate) มาเลต (malate) ซักซิเนต (succinate) หรือ ฟูมารต (fumarate) ช่วยให้เซลล์ และโปรโทพลาสต์ของพืชเจริญได้ อีกทั้งยังลดผลเสียจากการใช้แอมโมเนียม

6) สารประกอบจากธรรมชาติที่นิยมใช้ เช่น น้ำมะพร้าว กล้วยบด มันฝรั่ง สารสกัดจากมอลต์ สารสกัดจากยีสต์ ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) ช่วยรักษาสมดุลของความเป็นกรดด่าง และบางชนิดช่วยดูดซับสารที่เป็นพิษด้วย

7) สารควบคุมการเจริญของพืช ซึ่งรวมถึงฮอร์โมนพืช ที่นิยมใช้ ได้แก่ ออกซิน มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ ได้แก่ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) และไซโตไคนิน มีผลต่อการขยายตัวของเซลล์และขนาดของแควีโอลในเซลล์ให้มีขนาดใหญ่ขึ้น ได้แก่ TDZ และ BAP

8) สารที่ทำให้อาหารแข็งตัว โดยทั่วไปมักใช้วุ้นอะการ์และเจลาตินผสมลงในอาหารเพื่อให้แข็งตัว และวัสดุพองเนื้อเยื่อ ในการเลี้ยงในอาหารเหลว อาจใช้กระดาษกรองพับเพื่อวางเนื้อเยื่อพืชไม่ให้จมลงไปได้ในอาหารเหลว นอกจากนี้ยังมี สำลี และใยสังเคราะห์ที่สามารถช่วยพองเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลวได้

2.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulators) เป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยในการกระตุ้นหรือชักนำในการเกิดกระบวนการต่างๆ ของพืช ช่วยชักนำและพัฒนาให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ เนื้อเยื่อ และกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ ภายในเซลล์ของพืช ไม่ว่าจะเป็นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ เนื้อเยื่อ และกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ ภายในเซลล์ของพืช ไม่ว่าจะเป็นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ เนื้อเยื่อ และกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ ภายในเซลล์ของพืช

โดยพืชจะพัฒนาไปเป็นอวัยวะเมื่อชักนำด้วยกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน ซึ่งจะพัฒนาได้มากน้อย แคลไบนขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและระดับหรือสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ ถ้าสัดส่วนของ ไซโตไคนินต่อออกซินสูงจะชักนำให้เกิดยอด หากสัดส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสูงจะชักนำให้เกิดราก ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงจึงต้องทำการทดลองหาสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่เหมาะสมเพื่อให้ได้อวัยวะที่ต้องการ (รังสฤษฎ์, 2540) สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่ม ออกซินที่นิยมใช้คือ IBA และ NAA 2,4-D สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินที่นิยมใช้คือ BAP TDZ และ Kn (Kinetin) (พีรเดช, 2529)

2.3 การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ

2.3.1 การเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation)

การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) เป็นการเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชใน ไนโตรเจนเหลว (LN) ที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง -196 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กรรม ในสภาพต่ำกว่าจุดเยือกแข็งทำให้การแบ่งเซลล์และขบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆภายในเซลล์หยุด ทำงาน ทำให้สามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชไว้ได้นาน (Engelmann, 2004) และเชื้อพันธุ์กรรมไม่ เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้การเก็บด้วยวิธีนี้ใช้พื้นที่น้อย สามารถป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ มีการดูแลรักษาง่าย และเป็นการลดต้นทุนในการเก็บรักษา โดยตัวอย่างพืชที่สามารถนำมาเก็บรักษา ด้วยวิธีการนี้ได้ เช่น เซลล์โปรโทพลาสต์ ชิ้นส่วนปลายยอด โขมาติกเอ็มบริโอ เมล็ด หรือไซโกติก เอ็มบริโอ (Vicent and Martinez, 1998) การเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชด้วยวิธีนี้ ใช้อุณหภูมิที่ต่ำมาก โดยแช่ชิ้นส่วนลงในไนโตรเจนเหลวโดยตรง ทำให้เซลล์พืชได้รับความเสียหายและตายได้ ในปัจจุบัน จึงมีการพัฒนาเทคนิคในการเตรียมชิ้นส่วนพืชก่อนการแช่ลงในไนโตรเจนเหลวโดยการปรับให้ปริมาณ น้ำในพืชลดลงในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อให้เซลล์พืชมีการปรับสภาพและสามารถทนต่อสภาพเยือก แข็งได้โดยที่เซลล์ไม่เกิดความเสียหาย ไม่ตาย และพันธุ์กรรมไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งเทคนิคในการเตรียม ชิ้นส่วนพืชก่อนการแช่ลงในไนโตรเจนเหลวทำได้หลายวิธี ได้แก่ การดึงน้ำออกจากชิ้นส่วนพืชด้วยวิธี ทางกายภาพ คือ dehydration ทำให้ภายในเซลล์เกิดการแข็งตัวในลักษณะไม่เป็นผลึกน้ำแข็งและ การใช้สารป้องกันความเย็น คือ vitrification เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงสุดเนื่องจากการปรับใช้ ในการเก็บรักษาชิ้นส่วนต่างได้ง่ายและให้อัตราการรอดชีวิตหลังการเก็บรักษาได้สูง ซึ่งในปัจจุบันมี การเพิ่มเทคนิคการห่อหุ้มชิ้นส่วนพืชให้เป็นเมมเบรนที่เก็บชิ้นส่วนพืชไว้ภายในวุ้นอัลจิเนต เพื่อ ป้องกันอันตรายให้แก่เนื้อเยื่อที่อยู่ภายใน และได้มีการนำเทคนิคการห่อหุ้มไปใช้ร่วมกับวิธีการดึงน้ำ ออกจากกายภาพ และวิธีการใช้สารป้องกันความเย็นอีกด้วย (กรกช และจรัสศรี, 2560 ; Ishikawa. et al., 1996 ; Matsumoto. et al., 2001 ; Pennecooke and Towill, 2000 ; Reinhoud. et al., 1995 ; Thinh. et al., 2000)

2.3.2 การเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชโดยการชะลอการเจริญเติบโต (slow growth)

การเก็บรักษาพืชโดยการชะลอการเจริญเติบโตทำได้โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบน อาหารที่มีส่วนประกอบของสารชะลอการเจริญเติบโตบางชนิด ที่มีผลทำให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ช้า ลง ซึ่งเป็นประโยชน์ เนื่องจากประหยัดแรงงานและค่าใช้จ่ายในส่วนของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ จำเป็นต้องเปลี่ยนบ่อยตามความต้องการของพืชแต่ละชนิด (อนุรักษ์ และคณะ, 2555) โดยการชะลอ การเจริญเติบโตมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำ การใช้วุ้น และการใช้สารชะลอการ เจริญเติบโต เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้อุณหภูมิต่ำ ทำได้โดยการลดอุณหภูมิที่ใช้เพาะเลี้ยงให้ต่ำลง เนื่องจากเมื่อเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิที่ต่ำมากสามารถลดการเจริญเติบโตของต้นพืชได้ แต่การเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชโดยใช้อุณหภูมิต่ำมากจะเสียค่าใช้จ่ายที่สูง (วรินทร์พร, 2557)

การใช้วุ้น ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะมีวุ้นเป็นส่วนประกอบ แต่การใช้วุ้นที่ความเข้มข้นสูงมากเกินไป อาจยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชได้ เนื่องจากปริมาณของวุ้นที่ใช้เพิ่มขึ้นจะไปลดการยึดเกาะกันระหว่างโมเลกุลของน้ำกับโมเลกุลของสารบางชนิดที่เป็นองค์ประกอบหลักของอาหาร ซึ่งจะมีผลต่อความสามารถในการส่งน้ำ และธาตุอาหารต่างๆ ไปใช้ในการเจริญเติบโตของพืช (Debergh. *et al.*, 1981)

การใช้สารชะลอการเจริญเติบโต โดยสารชะลอการเจริญเติบโตจัดเป็นกลุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สารในกลุ่มนี้เป็นสารอินทรีย์ที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์ทางการเกษตร โดยคุณสมบัติหลักของสารในกลุ่มนี้คือ ชะลอการแบ่งเซลล์ และการยึดตัวของเซลล์ในบริเวณใต้ปลายยอดของกิ่งพืช จึงมีผลต่อพืชทำให้ต้นพืชที่ได้รับสารชะลอการเจริญเติบโตมีความสูงที่น้อยกว่าปกติ ปัจจุบันมีสารชะลอการเจริญเติบโตหลายชนิดที่ผลิตจำหน่าย เช่น ดามิโนไซด์ พาโคลบิวทราซอล เมพิควอทคลอไรด์ กรดแอบไซซิก และน้ำตาลซอร์บิทอล เป็นต้น (ครรชิต, 2547)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.4.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

Tiwari. *et al.* (2002) ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) โดยตัดชิ้นส่วนข้อความยาว 3-4 เซนติเมตร และล้างด้วยน้ำยาล้างจาน ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อในเอทิลแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 วินาที และฟอกต่อในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการหยดพวีน-20 จำนวน 2-3 หยด เขย่าเป็นเวลา 5 นาที และล้างในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 5 ครั้ง จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชมาตัด และนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อรอดชีวิต และมีการสร้างยอดใหม่ ความยาว 4 เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

Emilio. *et al.* (2007) ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) โดยตัดชิ้นส่วนพืชมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 60 วินาที และฟอกต่อในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5-10 นาที และนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง จากนั้นนำมาฟอกต่อในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับพวีน-80 จำนวน 2-3 หยด เป็นเวลา 5-10 นาที และนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง และนำปลายยอดและข้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ adenine sulphate ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนข้อมีการงอกของยอดร้อยละ 80 ออกมาบริเวณตาข้าง หลังจากการฟอกเป็นเวลา 3-4 วัน

2.4.2 การชักนำให้เกิดยอดและแคลลัส

Tiwari. *et al.* (2002) ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดหลายยอดจากชิ้นส่วนตาข้างของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 4.44 11.1 22.2 และ 33.3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.0 0.57 และ 1.43 ไมโครโมลาร์ พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ยืมได้เห็นว่าไม่เหมาะสมในการใช้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BAP ความเข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ และ BAP ความเข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.57 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอดมากที่สุดคือ 5.63 และ 5.76 ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

Akram and Aftab (2008) ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP และ TDZ ความเข้มข้น 1 2 4 6 8 และ 10 ไมโครโมลาร์ พบว่า TDZ ความเข้มข้น 1 และ 8 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดดีที่สุดที่สุทธียอดละ 100 และได้จำนวนยอดเท่ากับ 8.33 และ 14.66 ยอด ตามลำดับ

Akram and Aftab (2016) ศึกษาการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่จากชิ้นส่วนยอดอ่อนของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.1 1 4 6 8 10 และ 12 ไมโครโมลาร์ และ TDZ ร่วมกับ BAP และ IBA ความเข้มข้น 1 และ 2 ไมโครโมลาร์ ที่เติม AA ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในทุกความเข้มข้น พบว่า TDZ ความเข้มข้น 8 ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ และ AA ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ชักนำให้เกิดยอดดีที่สุด โดยมีการเกิดยอดร้อยละ 100 และมีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 16.44 ยอด หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 150 วัน

นุรมา และคณะ (2561) ศึกษาการชักนำไซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ม.อ. โดยนำเอ็มบริโอเจนิคแคลล์สมาวางเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Y_3 (Eeuwens) พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงที่เติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีเกิดไซมาติกเอ็มบริโอร้อยละ 100 และมีจำนวนไซมาติกเอ็มบริโอเฉลี่ย คือ 2.89 เอ็มบริโอต่อหลอด จึงสรุปได้ว่าเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดไซมาติกเอ็มบริโอ

Rahul. et al. (2018) ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดหลายยอดจากชิ้นส่วนข้อของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2.5 ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดมากที่สุด คือ 7 ยอด และ มีความยาวยอด 6.4 เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

2.4.3 การชักนำให้เกิดรากและการนำต้นพืชออกปลูกในธรรมชาติ

Tiwari. et al. (2002) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) โดยนำยอดยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร จากการทดลองชักนำให้เกิดยอด โดยนำยอดออกมาล้างด้วยน้ำสะอาดและซับน้ำออกให้แห้ง จากนั้นตัดปลายด้านล่างของยอดออก แล้วจุ่มปลายด้านล่างลงในเอทิลแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 4.9 9.8 และ 24.5 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 60 และ 120 วินาที จากนั้นนำไปปลูกในกระถางพลาสติกที่ประกอบด้วย ดินและเวอร์มิคูไลท์ อัตราส่วน 1:1 และรดด้วยอาหารเหลวสูตร MS จากนั้นนำไปเลี้ยงภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 33 ± 2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ที่ 90 เปอร์เซ็นต์ โดยคลุมถุงไว้เป็นเวลา 15-20 วัน หลังจากนั้นจะเลี้ยงไว้ในที่ร่ม เมื่อพืชมีอายุครบ 3 เดือน จะนำออกปลูกในแปลง

Akram and Aftab (2008) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) นำยอดยาว 3-5 เซนติเมตร จากการทดลองชักนำให้เกิดยอด นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS ที่ประกอบด้วย IAA IBA และ NAA ความเข้มข้น 5 10 15 20 และ 25 ไมโครโมลาร์ พบว่า IBA ความเข้มข้น 25 ไมโครโมลาร์ พบการเกิดรากสูงที่สุดร้อยละ 90 จำนวนรากเฉลี่ย 2.83 ราก และ ความยาวยอดเฉลี่ย 2.70 เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 35 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nor Aini. *et al.* (2009) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) โดยนำยอดที่มีความสูง 70 มิลลิเมตร จากการทดลองการชักนำให้เกิดยอด และนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 2 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดรากสูงที่สุดร้อยละ 22.5 และมีจำนวนรากเฉลี่ย คือ 6 และ 8 ราก ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 42 วัน

Mozafari. *et al.* (2015) ศึกษาการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์ต้น *Satureja avromanica* Maroofi โดยนำยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการเกิดรากสูงสุดถึงร้อยละ 93 และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 2.92 ราก หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน จากการทดลองพบว่าอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก

Akram and Aftab (2016) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากต้นกล้าและการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมหลังการออกปลูกของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) โดยนำยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรสูตร 1/2 MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 6 8 และ 10 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 8 และ 10 ไมโครโมลาร์ และ อาหารแข็งสูตร 1/2 MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ IBA ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ IBA ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ IBA ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ และ IBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ และเติมผงถ่าน ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในทุกความเข้มข้น ทำการเพาะเลี้ยงในที่มืด 7 วัน และย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า ยอดที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 8 ไมโครโมลาร์ มีการเกิดรากดีที่สุดร้อยละ 70 และรากมีความยาว 4.91 เซนติเมตร และมีจำนวนรากเฉลี่ย 4.50 ราก หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 36 วัน เมื่อได้ต้นกล้าที่มียอดและรากที่สมบูรณ์ นำออกจากขวดเพาะเลี้ยงแล้วนำต้นกล้ามาล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำไปแช่ในสารฆ่าเชื้อรา ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที และย้ายไปปลูกในกระถางที่ประกอบด้วย ทรายหยาบ ดิน และพีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1) ภายในเรือนกระจก พบว่ามีการรอดชีวิตร้อยละ 56.66

Rahul. *et al.* (2018) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากของต้นสัก (*Tectona grandis* L.) โดยนำยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA ความเข้มข้น 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากที่สุด คือ 8 ราก และมีความยาวราก 4.5 เซนติเมตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นนำยอดมาตัดใบให้เหลือ 2-3 ใบ นำยอดมาล้างผ่านน้ำและนำไปปลูกลงในกระถางที่ประกอบด้วย ดิน ทราย และปุ๋ยคอก อัตราส่วน 1:1:1 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่ามีการรอดชีวิตร้อยละ 70

2.4.4 การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพเยือกแข็งและการชะลอการเจริญเติบโต

Lambardi. *et al.* (2000) ศึกษาการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรม (cryopreservation) ของต้นไวท์พอลาร์จากชิ้นส่วนปลายยอด โดยเทคนิค vitrification ตัดชิ้นส่วนปลายยอดยาว 1-2 มิลลิเมตร และเสี้ยนผ่านศูนย์กลาง 1-1.5 มิลลิเมตร ของต้นเนื้อเยื่อที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารปรับสภาพสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ประกอบด้วย วุ้นอะการ์ ความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ และ น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.09 0.3 และ 0.7 โมลาร์ เป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงภายใต้การให้แสง 8 ชั่วโมง ต่อมานำปลายยอดใส่หลอดพลาสติก cryotube ขนาด 1.8 มิลลิตร จำนวน 10-12 ยอด และใส่สาร LS (ประกอบด้วย สารกลีเซอรอล ความเข้มข้น 2 โมลาร์ และ น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์) เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาดูดสาร LS ออก แล้วใส่สาร PVS2 (ประกอบด้วย สารกลีเซอรอล ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ สารเอทิลีนไกลคอล ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ สารไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ และ น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์) เป็นเวลา 20 และ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 25 และ 0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากนั้นดูดสาร PVS2 ออก แล้วใส่ PVS2 ใหม่ ปริมาตร 0.6 มิลลิตร และแช่ลงในไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อนำออกจากไนโตรเจนเหลว รักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 วินาที จากนั้นละลายน้ำแข็งในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 วินาที และดูดสาร PVS2 ออก แล้วใส่สาร US ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ เป็นเวลา 20 วินาที เมื่อครบเวลานำปลายยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอด พบว่า ปลายยอดที่ผ่านการเพาะเลี้ยงบนอาหารปรับสภาพ ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.09 โมลาร์ เป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และแช่สาร LS เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตามด้วยแช่สาร PVS2 เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส พบว่า มีการรอดชีวิตที่สูงที่สุดร้อยละ 89.7 หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์

Moges. *et al.* (2003) ศึกษาการเก็บรักษาต้นแอฟริกันไวโอเล็ต โดยการชะลอการเจริญเติบโต โดยใช้การออสโมติก และการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆ โดยจะตัดยอดจากต้นในหลอดทดลอง และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0 0.09 0.18 0.26 และ 0.35 โมลาร์ น้ำตาลแมนนิทอลและน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0 0.16 0.33 0.49 และ 0.66 โมลาร์ และทำการทดลองเกี่ยวกับอุณหภูมิ โดยทำการเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.09 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 2 10 และ 24 องศาเซลเซียส ในที่มืด พบว่า การเก็บรักษายอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.18 โมลาร์ น้ำตาลแมนนิทอลและน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.16 โมลาร์ ภายใต้การเพาะเลี้ยงโดยให้แสง 16 ชั่วโมง สามารถชะลอการเจริญเติบโตของยอดและรักษาคุณภาพของชิ้นส่วนยอด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ นอกจากนี้ การเก็บรักษายอดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ในที่มืด สามารถชะลอการเจริญเติบโต และรักษาคุณภาพของชิ้นส่วนพืชได้ในสภาพที่ดีเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

Wang. *et al.* (2005) ศึกษาการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรม (cryopreservation) ปลายยอดของต้นราสเบอร์รี่ (*Rubus idaeus* L.) โดยใช้เทคนิค encapsulation-vitrification และ encapsulation-dehydration นำปลายยอดมาทำเม็ดยอดในอาหารเหลวสูตร MS ที่ประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ และหยดลงไปในสารละลาย สารแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับ กลีเซอรอล ความเข้มข้น 2 โมลาร์ และน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ จากนั้นนำเมดบิตส์มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปรับสภาพโดยตรงบนอาหารแข็งสูตร BM (Basic medium) ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.25 0.5 0.75 และ 1 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปรับสภาพตามลำดับ โดยจะนำเมดบิตส์มาเพาะเลี้ยงเริ่มต้นบนอาหารแข็งสูตร BM ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงโดยเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 0.25 โมลาร์ ทุกวันจนถึงความเข้มข้นสุดท้ายที่กำหนดไว้ และเมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปรับสภาพครบเวลาแล้ว จะนำเมดบิตส์มาเข้าขั้น ตอน encapsulation-vitrification และ encapsulation-dehydration พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปรับสภาพตามลำดับจนถึงความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ 0.75 โมลาร์ และทำการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค encapsulation-vitrification ชิ้นส่วนปลายยอดภายในเมดบิตส์ มีการรอดชีวิตร้อยละ 85 และการเจริญสูงสุดร้อยละ 75 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเทคนิค encapsulation-vitrification เป็นวิธีที่ง่าย และมีประสิทธิภาพสำหรับการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมต้นราชเบอร์รี่ในระยะยาว

Scocchi. *et al.* (2007) ศึกษาการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรม (cryopreservation) ของ โขมาติกเอ็มบริโอ ต้นเลี่ยน (*Melia azedarach* L.) โดยใช้เทคนิค encapsulation-dehydration นำโขมาติกเอ็มบริโอที่สมบูรณ์ ความยาว 5 มิลลิเมตร นำมาทำการห่อหุ้มในรูปแคปซูล (encapsulation) โดยใส่ลงไปในอาหารที่ปราศจากสารแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งประกอบด้วย สารโซเดียมแอลจีเนต 3 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการหยดลงไปในสารแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จะได้เมดบิตส์ เส้นผ่านศูนย์กลาง 4-5 มิลลิเมตร ที่มี 1 เอ็มบริโออยู่ภายใน ทั้งไว้ในสารแคลเซียมคลอไรด์ 3-4 นาที จากนั้นนำเมดบิตส์ มาปรับสภาพ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จากความเข้มข้น 0.5 0.75 จนถึง 1.0 โมลาร์ จากนั้นนำ 10 เมดบิตส์ มาดิงน้ำออกในภาชนะขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่มีสารดูดความชื้น (silica gel) 30 กรัมต่อภาชนะ เป็นเวลา 0 2 3 และ 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำไปใส่ในหลอดพลาสติก cryotube ขนาด 5 มิลลิลิตร ใส่ 10 เมดบิตส์ต่อหลอด จากนั้นนำไปลดอุณหภูมิลงอย่างช้า (slow freezing) ที่ละ 1 องศาเซลเซียส จาก 20 องศาเซลเซียส ถึง -30 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องแช่แข็ง Controlled Rate Freezing System Model 9000 ต่อมานำไปแช่ไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำไปละลายน้ำแข็งอย่างรวดเร็วในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นโขมาติกเอ็มบริโอจะถูกย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหาร 1/4 MS ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า เมดบิตส์ที่ผ่านการปรับสภาพ และดิงน้ำออกด้วยสารดูดความชื้น เป็นเวลา 3 ชั่วโมง มีการรอดชีวิตร้อยละ 36 หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

Sharaf. *et al.* (2012) ศึกษาการเก็บรักษาพืชในหลอดทดลองโดยการชะลอการเจริญเติบโตของยอดของต้น *Artemisia herba-alba* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ที่ประกอบด้วย กรดแอสซิก ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สามารถชะลอการเจริญเติบโต และเกิดการแตกยอดใหม่ หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

San José. *et al.* (2015) ศึกษาการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรม (cryopreservation) ของโขมาติกเอ็มบริโอของต้น *Alnus glutinosa* (L.) โดยคัดเลือกโขมาติกเอ็มบริโอที่มีรูปร่าง globular หรือ heart จากนั้นนำโขมาติกเอ็มบริโอ มาเพาะเลี้ยงในอาหารปรับสภาพสูตร 1/2 MS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 3 วัน และย้ายไปใส่ในหลอดพลาสติก cryotube ขนาด 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นใส่สาร LS (ประกอบด้วย สารกลีเซอรอล ความเข้มข้น 2 โมลาร์ และน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์) ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลา ดูดสาร LS ออก และใส่สาร PVS2 (ประกอบด้วย สารกลีเซอรอล ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ สารเอทิลีนไกลคอล ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ สารไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์) ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 15 30 45 60 75 และ 90 นาที เมื่อครบเวลา ดูดสาร PVS2 ออก แล้วใส่สาร PVS2 ใหม่ลงไปปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร แล้วนำลงไปจุ่มลงในไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาละลายน้ำแข็งในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นดูดสาร PVS2 ออก แล้วใส่สาร US (ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์) เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นย้ายไปเพาะเลี้ยงในเพลทแก้วที่มีกระดาศกรงบนอาหารเพาะเลี้ยง ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีกระดาศกรง ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ในที่มืด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และย้ายไปเพาะเลี้ยงในสภาพปกติ และทำการย้ายอาหารทุกๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่า โชมaticเอ็มบริโอที่แช่สาร LS เป็นเวลา 20 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 60 นาที พบว่า มีการฟื้นตัวของโชมaticเอ็มบริโอร้อยละ 90 หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

Nakkanong and Nualsri (2018) ศึกษาการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรม (cryo-preservation) ของไซโกติกเอ็มบริโอของต้นยางพารา (*Hevea brasiliensis*) โดยใช้เทคนิค vitrification และ encapsulation-dehydration ในการทดลองได้นำไซโกติกเอ็มบริโอมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปรับสภาพเป็นเวลา 3 วัน ในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ และนำไปเข้าขั้นตอนการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรม ในเทคนิค vitrification พบว่าการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมของไซโกติกเอ็มบริโอของต้นยางพาราสำเร็จ เมื่อไซโกติกเอ็มบริโอถูกแช่ในสาร LS เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาดูดสาร LS ออก และทำการแช่ต่อในสาร PVS2 เป็นเวลา 120 นาที ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส โดยมีการรอดชีวิตร้อยละ 88.87 และการเจริญเติบโตร้อยละ 66.33 หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และเทคนิค encapsulation-dehydration พบว่า การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมของไซโกติกเอ็มบริโอของต้นยางพาราสำเร็จ โดยวิธีการนำไซโกติกเอ็มบริโอที่ถูกห่อหุ้มเมดปีดส์ มาวางตากบนเพลทภายในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบการรอดชีวิตร้อยละ 37.50 และการเจริญเติบโตร้อยละ 27.98 หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างพืชที่ใช้ศึกษา

เนื้อเยื่อต้นหมเดสลักซ์ และสักระยะยามีนิทร์ที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ ได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) เขตดุสิต จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ต้นกล้วยหมเดสลักซ์ และสักระยะยามีนิทร์ที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ ได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เยี่ยม ซึ่งได้ส่งจองผ่านที่ทำการไปรษณีย์ไทย เพื่อร่วมสมทบทุนกับมูลนิธิ อพ.สธ

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

- อาหารสังเคราะห์สำเร็จสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)
- อาหารสังเคราะห์สำเร็จสูตร WPM (McCOWN and LLOYD, 1981)
- อาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ปราศจากสารแคลเซียมคลอไรด์

3.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

- 6-Benzyladenine (BAP)
- Thaidiazuron (TDZ)
- *meta*-topolin (*mT*)
- Indole-3-Butyric Acid (IBA)
- 1-Naphthaleneacetic acid (NAA)
- Gibberellic acid (GA₃)
- กรดแอบไซซิก (Absciscic acid; ABA)

3.2.3 สารเคมีที่ใช้ปรับความเป็นกรด-ด่าง

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, 1 N NaOH)
- สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, 1 N HCl)

3.2.4 สารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ผงวุ้นเจลแลนกัน (Phyto technology laboratory Inc.)
- น้ำตาลซูโครส (Sucrose)
- น้ำตาลซอร์บิทอล (Sorbitol)
- ผงถ่าน (Activated charcoal)
- กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid; AA)
- สารดูดความชื้น (Silica gel)
- สารไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide ; DMSO)
- สารกลีเซอรอล (Glycerol)
- สารเอทิลีนไกลคอล (Ethylene glycol)

- สารโซเดียมแอลจิเนต (Sodium alginate ; Na-alginate)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สารแคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride ; CaCl_2)
- เมอร์คิวริกคลอไรด์ (Mercuric chloride; HgCl_2)
- ทวิน-20 (Tween-20)
- สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (Distilled water)

3.2.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และฝาพลาสติกทนความร้อน (Tissue culture bottle)
- เพลทแก้ว (Petri dish)
- ขวดปริมาตร (Volumetric flask)
- กระบอกตวง (Cylinder)
- ปีกเกอร์ (Beaker)
- ช้อนตักสาร (Spatula)
- ถ้วยชั่งสาร (Cup)
- ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tips)
- ไมโครปิเปตทิปปลายตัด (Micropipette tips)
- ไมโครปิเปต (Micropipettes)
- หลอดพลาสติกไครโอ (Cryotube)
- กล่องเก็บความเย็น (Cryo box)
- ด้ามมีดและใบมีดผ่าตัด (Scalpel handle and Scalpel blade)
- กรรไกรผ่าตัด (Scissors)
- ปากคีบ (Forceps)
- ตะแกรง (Test tube rack)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol lamp)
- ไฟแช็ค (Lighter)
- พาราฟิล์ม (Parafilm)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (Balance)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter)
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
- เตาไมโครเวฟ (Microwave oven)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
- ถังไนโตรเจนเหลว (Liquid nitrogen container)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- กล้องถ่ายภาพ (Camera)
- เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (Vernier calipers)
- ดิน (Soil)
- เพอร์ไลต์ (Perlite)
- กระถางต้นไม้ (Flowerpot)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการดำเนินงาน

3.3.1 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อนำไปใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัส ยอดใหม่ และราก ทำได้โดยชั่งอาหารสังเคราะห์สำเร็จสูตร MS ปริมาณ 4.43 กรัมต่อลิตร และ WPM ปริมาณ 2.41 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้นเจลาแลนกัม 2.6 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปปรับค่า pH ของอาหารให้เป็น 5.6-5.8 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูงอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3.3.2 การศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์

นำต้นกล้าของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ มาตัดชิ้นส่วนปลายยอดและข้อล่างในน้ำให้สะอาด และตัดให้ได้ชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ ความยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปในขวดที่มีเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เช้าเป็นเวลา 30 วินาที และฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวรี-คลอไรด์ ความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับวุ้น-20 จำนวน 2 หยด เช้าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที และนำชิ้นส่วนพืชมาวางผึ่งให้แห้งบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วภายในตู้ปลอดเชื้อ ทำการตัดแต่งให้ได้ความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงในที่ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมง และที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยเพาะเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหาร 5 ชิ้นต่อสูตรอาหาร จำนวน 3 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองและคำนวณร้อยละการปนเปื้อนจากสูตร (3.1) และคำนวณร้อยละการเกิดยอดจากสูตร (3.2) โดยสังเกตการเจริญเติบโตหลังจากการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

คำนวณร้อยละการปนเปื้อนจากสูตร

$$\text{ร้อยละการปนเปื้อน} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชที่ปนเปื้อน}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.1)$$

คำนวณร้อยละการเกิดยอดจากสูตร

$$\text{ร้อยละการเกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชที่เกิดยอด}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.3.3 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์

นำเนื้อเยื่อในขวดเพาะเลี้ยงของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ มาตัดให้ได้ชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ *mT* ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงในที่มืด 1 สัปดาห์ จากนั้นเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมง และที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยเพาะเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหาร 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้นของปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐาน บันทึกผลการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่ควรนำเอกสารนี้ไปเผยแพร่หรือใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่นใดโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสาร

ทดลองและคำนวณจำนวนยอดเฉลี่ยจากสูตร (3.3) และคำนวณความยาวยอดเฉลี่ยจากสูตร (3.4) โดยสังเกตการเจริญเติบโตหลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์

คำนวณจำนวนยอดเฉลี่ยจากสูตร

$$\text{จำนวนยอดเฉลี่ย} = \frac{\text{จำนวนยอดใหม่ที่เกิดขึ้น}}{\text{จำนวนปลายยอด/ข้อ/ข้อที่ติดฐานทั้งหมด}} \quad (3.3)$$

คำนวณความยาวยอดเฉลี่ยจากสูตร

$$\text{ความยาวยอดเฉลี่ย} = \frac{\text{ความยาวยอดใหม่ที่เกิดขึ้น}}{\text{จำนวนปลายยอด/ข้อ/ข้อที่ติดฐานที่เกิดยอด}} \quad (3.4)$$

3.3.4 การศึกษาดำรงของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์

นำเนื้อเยื่อในขวดเพาะเลี้ยงของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ มาตัดให้ได้ชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงในที่มืด 1 สัปดาห์ จากนั้นเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบเวลาทำการตัดแบ่งให้ได้ชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม (subculture) และเพาะเลี้ยงในที่มืด 1 สัปดาห์ จากนั้นเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบเวลาทำการตัดแบ่งให้ได้ชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร และเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม และเพาะเลี้ยงในที่มืด 1 สัปดาห์ จากนั้นเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยในการเพาะเลี้ยงเริ่มต้น จะใช้ชิ้นส่วนพืชในการเพาะเลี้ยงจำนวน 12 ปลายยอด/ข้อ/ข้อที่ติดฐาน และบันทึกผลการทดลองและคำนวณจำนวนยอดเฉลี่ยจากสูตร (3.3) โดยสังเกตการเจริญเติบโตทุก 5 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 15 สัปดาห์

3.3.5 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนแคลลัสของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์

นำแคลลัสของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์จากการทดลองที่ 3.3.4 มาตัดให้ได้ขนาดประมาณ 1x1x1 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นนำมาวางเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในทุกความเข้มข้น จากนั้นเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบเวลาทำการย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมที่โดยไม่เติมกรดแอสคอร์บิก แต่เติมผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในทุกความเข้มข้น จากนั้นเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยเพาะเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหาร 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น บันทึกผลการทดลองและคำนวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดแคลลัสเฉลี่ยจากสูตร (3.5) และคำนวณจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดจากแคลลัสจากสูตร (3.6) และคำนวณความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากแคลลัสจากสูตร (3.7) โดยสังเกตการเจริญเติบโตหลังเพาะเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

คำนวณขนาดแคลลัสเฉลี่ยจากสูตร

$$\text{ขนาดแคลลัสเฉลี่ย} = \frac{\text{ขนาดแคลลัสที่เกิด}}{\text{จำนวนแคลลัสทั้งหมด}} \quad (3.5)$$

คำนวณจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดจากแคลลัสจากสูตร

$$\text{จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดจากแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนยอดทั้งหมดที่เกิดจากแคลลัส}}{\text{จำนวนแคลลัสทั้งหมด}} \quad (3.6)$$

คำนวณความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากแคลลัสจากสูตร

$$\text{ความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากแคลลัส} = \frac{\text{ผลรวมของความยาวยอดทั้งหมด}}{\text{จำนวนแคลลัสทั้งหมด}} \quad (3.7)$$

3.3.6 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากจากชิ้นส่วนปลายยอด ช่อ และข้อที่ติดฐานของต้นมะลิลำไย และสัคสยามินทร์

นำเนื้อเยื่อในขูดเพาะเลี้ยงของต้นมะลิลำไย และสัคสยามินทร์ มาตัดให้ได้ชิ้นส่วนปลายยอด ช่อ และข้อที่ติดฐานความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้น 0 0.05 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.05 และ NAA ความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในที่มืด 1 สัปดาห์ โดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหาร 3 ข้ำ ข้ำละ 5 ชิ้นของปลายยอด ช่อ และข้อที่ติดฐาน บันทึกผลการทดลองและคำนวณจำนวนยอดเฉลี่ยจากสูตร (3.3) และคำนวณความยาวยอดเฉลี่ยจากสูตร (3.4) และคำนวณจำนวนรากเฉลี่ยจากสูตร (3.8) และคำนวณความยาวรากเฉลี่ยจากสูตร (3.9) สังเกตการเจริญเติบโตหลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์

คำนวณจำนวนรากเฉลี่ยจากสูตร

$$\text{จำนวนรากเฉลี่ย} = \frac{\text{จำนวนรากใหม่ที่เกิด}}{\text{จำนวนปลายยอด/ข้อ/ข้อที่ติดฐานทั้งหมด}} \quad (3.8)$$

คำนวณความยาวรากเฉลี่ยจากสูตร

$$\text{ความยาวรากเฉลี่ย} = \frac{\text{ผลรวมของความยาวรากทั้งหมด}}{\text{จำนวนรากทั้งหมด}} \quad (3.9)$$

3.3.7 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอด สมบูรณ์ของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์

คัดเลือกเนื้อเยื่อในเขตเพาะเลี้ยงของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ ที่มีความสูงประมาณ 5 เซนติเมตร นำมาทำการทดลองจุ่มลงในสารควบคุมการเจริญเติบโตเร่งราก โดยนำเนื้อเยื่อออกจากเขตเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างระมัดระวัง จากนั้นนำยอดมาล้างบริเวณโคนยอดเพื่อเอาฝุ่นออก และแช่ยอดลงในสารละลายคาร์เบนดาซิม ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 1 นาที เมื่อครบเวลาดัดแต่งใบออกเล็กน้อย และนำส่วนโคนยอดจุ่มลงในสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 3 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลานำออกปลูกในกระถางที่มี ดิน และเพอร์ไลต์ (อัตราส่วน 1:1) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นรดน้ำให้ชุ่ม และทำการคลุมถุงพลาสติกที่เจาะรูประมาณ 20 รู จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องที่ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มีมืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบเวลาทำการเปิดถุงพลาสติกออกและเลี้ยงภายในห้องที่ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มีมืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ รวมออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยออกปลูกในแต่ละสูตร 3 ยอดต่อสูตร บันทึกผลการทดลองและคำนวณร้อยละการเกิดรากจากสูตร (3.10) และคำนวณร้อยละการรอดชีวิตของต้นพืชจากสูตร (3.11) และทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงของต้นพืชเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงทุก 4 สัปดาห์

คำนวณร้อยละการเกิดรากจากสูตร

$$\text{ร้อยละการเกิดราก} = \frac{\text{จำนวนยอดที่เกิดราก}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.10)$$

คำนวณร้อยละการรอดชีวิตของต้นพืชจากสูตร

$$\text{ร้อยละการรอดชีวิตของต้นพืช} = \frac{\text{จำนวนต้นพืชที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.11)$$

3.3.8 การนำต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ออกปลูก

นำต้นพืชที่สมบูรณ์มีต้นและรากที่แข็งแรง จากการทดลองที่ 3.3.6 โดยนำต้นพืชออกจากเขตเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างระมัดระวัง จากนั้นล้างบริเวณรากที่มีฝุ่นติดอยู่ออกให้หมด และแช่ลงในสารละลายคาร์เบนดาซิม ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 1 นาที เมื่อครบเวลาดัดแต่งใบออกเล็กน้อย จากนั้นย้ายปลูกในกระถางที่มี ดินและเพอร์ไลต์ (อัตราส่วน 1:1) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นรดน้ำให้ชุ่ม และทำการคลุมถุงพลาสติกที่เจาะรูประมาณ 20 รู จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องที่ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มีมืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบเวลาทำการเปิดพลาสติกคลุมถุงและเลี้ยงภายในห้องที่ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มีมืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบเวลาทำการย้ายออกมาเลี้ยงภายนอกห้องควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยออกปลูกในแต่ละสูตร 3 ต้นต่อสูตร บันทึกผลการทดลองและคำนวณร้อยละการรอดชีวิตของต้นพืชจากสูตร (3.11) และทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงของต้นพืชเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงทุก 4 สัปดาห์

3.3.9 การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสของต้นมัลลิกซ์ และ สักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) โดยใช้เทคนิค vitrification (vi) dehydration (de) encapsulation-vitrification (envi) และ encapsulation-dehydration (ende)

3.3.9.1 การปรับสภาพเนื้อเยื่อ (preculture)

นำเนื้อเยื่อยอดในขวดเพาะเลี้ยง มาตัดปลายยอดความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร และนำแคลลัสที่ผ่านการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และย้ายแคลลัสมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย GA₃ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มาตัดให้ได้ขนาดประมาณ 5x5x5 ลูกบาศก์มิลลิเมตร จากนั้นนำปลายยอดและ แคลลัสมาเพาะเลี้ยงแบบปรับสภาพตามลำดับ บนอาหารปรับสภาพที่ประกอบด้วยอาหารแข็งสูตร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ร่วมกับ น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ และผงวุ้น เจลแลนกัน 5.2 กรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ในที่มืด 24 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และย้ายปลายยอดและแคลลัสมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ปราศจาก สารควบคุมการเจริญเติบโต ร่วมกับ น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ และผงวุ้นเจลแลนกัน ความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ในที่มืด 24 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

3.3.9.2 การดึงน้ำออกจากเซลล์พืช

- วิธี vitrification (vi)

นำชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสมาใส่หลอดพลาสติก cryotube จำนวน 5 ชิ้นต่อหลอด จากนั้นใช้ไมโครปิเปตต์ดูดสาร LS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด พลาสติก cryotube แช่เป็นเวลา 0 20 40 และ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เมื่อครบ เวลาดูดสาร LS ออก แล้วใส่สาร PVS2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดพลาสติก cryotube แช่เป็น เวลา 0 และ 10 นาที ที่ 0 องศาเซลเซียส

- วิธี dehydration (de)

นำชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสมาวางลงในเพลท 5 ชิ้นต่อเพลท วิธีที่ 1 นำชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสวางในเพลทแก้วเปิดฝาวางเพลทในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 0 2 4 และ 6 ชั่วโมง และวิธีที่ 2 นำชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสวางในเพลทแก้วในภาชนะแก้วปิดฝาที่มี สารดูดความชื้น เป็นเวลา 0 2 4 และ 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำเม็ดปิดสีใส่ลงในหลอดพลาสติก cryotube

- วิธี encapsulation-vitrification (envi)

ทำเม็ดปิดสีโดยนำชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสใส่ลงไปในอาหาร MS ที่ปราศจากสารแคลเซียมคลอไรด์ ที่ประกอบด้วยสารโซเดียมแอลจิเนต ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นใช้ไมโครปิเปตต์ที่ใส่ที่ปลายตัดดูดชิ้นส่วนพืช และอาหาร ขึ้นมาปริมาณ 150 ไมโครลิตร โดยให้ชิ้นส่วนพืชอยู่ตรงกลาง และหยดลงในอาหาร MS ที่ประกอบด้วยสาร แคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทิ้งไว้ 30 นาที จะได้เม็ดปิดสีขนาด 8 มิลลิเมตร จากนั้น นำเม็ดปิดสีใส่หลอดพลาสติก cryotube 5 ชิ้นต่อหลอด และใช้ไมโครปิเปตต์ดูดสาร LS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดพลาสติก cryotube แช่เป็นเวลา 0 20 40 และ 60 นาที ที่อุณหภูมิ

25±2 องศาเซลเซียส จากนั้นดูดสาร LS ออก แล้วใส่สาร PVS2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดพลาสติก cryotube แช่เป็นเวลา 0 และ 10 นาที ที่ 0 องศาเซลเซียส

- วิธี encapsulation-dehydration (ende)

ทำเม็บบิดส์โดยนำชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสใส่ลงไปในอาหาร MS ที่ปราศจากสารแคลเซียมคลอไรด์ ที่ประกอบด้วยสารโซเดียมแอลจิเนต ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นใช้ไมโครปิเปตต์ที่ใส่ทิปปลายตัดดูดชิ้นส่วนพืช และอาหารขึ้นมาปริมาณ 150 ไมโครลิตร โดยให้ชิ้นส่วนพืชอยู่ตรงกลาง และหยดลงในอาหาร MS ที่ประกอบด้วยสารแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทิ้งไว้ 30 นาที จะได้เม็บบิดส์ขนาด 5 มิลลิเมตร และนำมาดึ่งน้ำออก (dehydration) โดยวางเม็บบิดส์ลงในเพลท 5 ชั้นต่อเพลท วิธีที่ 1 นำเม็บบิดส์วางในเพลทแก้วเปิดฝาวางเพลทในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 0 2 4 และ 6 ชั่วโมง และวิธีที่ 2 นำเม็บบิดส์วางในเพลทแก้วในภาชนะแก้วปิดฝามีสารดูดความชื้น เป็นเวลา 0 2 4 และ 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำเม็บบิดส์ใส่ลงในหลอดพลาสติก cryotube

3.3.9.3 การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมแบบแช่แข็งและการละลายผลึกน้ำแข็ง

ขั้นตอนต่อมาจะนำเม็บบิดส์และชิ้นส่วนพืชที่อยู่ภายในหลอดพลาสติก cryotube ที่ผ่านการดึ่งน้ำออกแล้ว มาลดอุณหภูมิโดยแช่ลงในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และเมื่อครบเวลาจะนำไปละลายผลึกน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ในวิธี vi และ envi ดูดสาร LS หรือ PVS2 ออก แล้วใส่สาร US ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แช่สารเป็นเวลา 20 นาที ส่วนในวิธี de และ ende นำเม็บบิดส์และชิ้นส่วนพืชไปเพาะเลี้ยงต่อในขั้นตอนต่อไป

3.3.9.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการบันทึกผลการทดลอง

นำเม็บบิดส์หรือชิ้นส่วนพืชออกจากสาร US จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และนำไปเพาะเลี้ยงในที่มืด เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นทำการย้ายชิ้นส่วนปลายยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยเพาะเลี้ยงในแต่ละการทดลอง 5 ชั้นต่อสูตร บันทึกผลการทดลองและคำนวณร้อยละการรอดชีวิตจากสูตร (3.12) และคำนวณร้อยละการเจริญเติบโตจากสูตร (3.13)

คำนวณร้อยละการรอดชีวิตจากสูตร

$$\text{ร้อยละการรอดชีวิตของปลายยอด/แคลลัส} = \frac{\text{จำนวนปลายยอด/แคลลัสที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนปลายยอด/แคลลัสทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.12)$$

คำนวณร้อยละการเจริญเติบโตจากสูตร

$$\text{ร้อยละการเจริญเติบโตของปลายยอด/แคลลัส} = \frac{\text{จำนวนปลายยอด/แคลลัสที่เจริญเติบโต}}{\text{จำนวนปลายยอด/แคลลัสทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.13)$$

3.3.10 การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อและแคลล์สของต้นมเหล็กซ์ และสักสยามินทร์ โดยการชะลอการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (slow growth)

นำเนื้อเยื่อในขวดเพาะเลี้ยงมาตัดให้ได้ชิ้นส่วนข้อความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร และแคลล์สขนาด $3 \times 3 \times 3$ ลูกบาศก์มิลลิเมตร จากนั้นนำมาวางเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และที่เติมกรดแอบไซซิก ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์ โดยอาหารทุกสูตรจะเติม ผงวุ้นเจลาเลนกัม 2.6 กรัมต่อลิตร และทำการเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และสังเกตการเปลี่ยนแปลงทุก 4 8 และ 12 สัปดาห์ โดยเพาะเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหาร 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ชั่น บันทึกผลการทดลองและคำนวณความยาวยอดเฉลี่ยจากสูตร (3.4) และคำนวณขนาดแคลล์สเฉลี่ยจากสูตร (3.5) และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงครบ 12 สัปดาห์ ทำการย้ายชิ้นส่วนข้อและแคลล์สไปเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดการเจริญเติบโตใหม่ โดยชิ้นส่วนข้อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และแคลล์สนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยบันทึกผลการทดลองโดยสังเกตการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนข้อและแคลล์สที่ผ่านการชะลอการเจริญเติบโตว่าสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้หรือไม่

3.3.11 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS (Statistics Package for the Social Sciences) เวอร์ชัน 23 (IBM SPSS Statistics 23) โดยใช้วิธี Duncan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การศึกษาการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

จากการศึกษาการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นมะเขือเทศ และ สักสยามินทร์ โดยพอกฆ่าเชื้อด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และเมอร์คิวริคคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับพืชน้ำ-20 2 หยด เขย่าเป็นเวลา 20 นาที จากนั้น นำชิ้นส่วนพืชมานำแช่ในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ ของต้นมะเขือเทศที่พอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ 0.05 เปอร์เซ็นต์ พบการปนเปื้อนของ เชื้อจุลินทรีย์ร้อยละ 100 ในอาหารทุกความเข้มข้น และพบการเกิดยอดร้อยละ 80 ในชิ้นส่วนพืชที่ เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบการเกิด ยอดร้อยละ 20 ในชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะชิ้นส่วนพืชเป็นสีเขียว แต่มีเชื้อราปกคลุมทั่วชิ้นส่วนพืช (รูปที่ 4.1 ก) โดยการพอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ใน อาหารทุกความเข้มข้น ยกเว้นชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ร้อยละ 20 และพบการเกิดยอดร้อยละ 100 ในชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ พบการเกิดยอดร้อยละ 40 ในชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะชิ้นส่วนพืชเป็นสีเขียว มีการแตกยอดออกมาจากบริเวณตาข้าง (รูปที่ 4.1 ข) และการพอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการปนเปื้อนของ เชื้อจุลินทรีย์ในอาหารทุกความเข้มข้น แต่พบการเกิดยอดร้อยละ 20 ในชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบน อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะชิ้นส่วนพืชเปลี่ยนจากสีเขียว เป็นสีน้ำตาลดำ (รูปที่ 4.1 ค) (ตารางที่ 4.1) และพบว่าชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นสักสยามินทร์ที่ พอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ร้อยละ 100 ในอาหารทุกความเข้มข้น และพบการเกิดยอดร้อยละ 40 ในชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบการเกิดยอดร้อยละ 20 ในชิ้นส่วน พืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะชิ้นส่วน พืชเป็นสีเขียวและสีน้ำตาลบางบริเวณ แต่มีเชื้อราปกคลุมทั่วชิ้นส่วนพืช (รูปที่ 4.2 ก) โดยการพอกฆ่า เชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารทุกความ เข้มข้น ยกเว้นชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ร้อยละ 20 และพบการเกิดยอดร้อยละ 100 ใน ชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ พบการเกิดยอดร้อยละ 20 ในชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะชิ้นส่วนพืชเป็นสีเขียว มีการแตกยอดออกมาจากบริเวณตาข้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาดูงาน ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

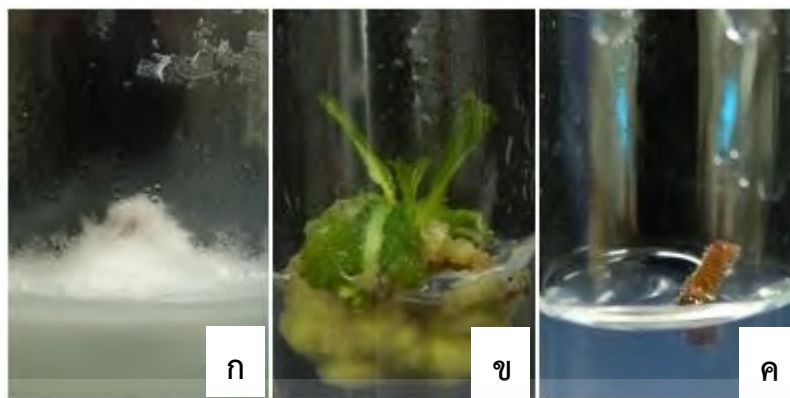
(รูปที่ 4.2 ข) และการพอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และไม่พบการเกิดยอดในอาหารทุกความเข้มข้น ลักษณะขึ้นส่วนพืชเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลดำ (รูปที่ 4.2 ค) (ตารางที่ 4.2) ซึ่งสังเกตเห็นได้ว่าการพอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ 0.05 เปอร์เซ็นต์ พบร้อยละการเกิดยอดที่สูง แต่ก็พบร้อยละการปนเปื้อนที่สูงเช่นกัน ดังนั้นถ้าต้องการพอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ 0.05 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มเวลาในการพอกฆ่าเชื้อให้นานขึ้น เพื่อให้ขึ้นส่วนพืชอยู่ในสารพอกฆ่าเชื้อนานขึ้นและทำให้ลดร้อยละการปนเปื้อนลงได้ แต่การพอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ พบร้อยละการเกิดยอดที่น้อยมากเนื่องจากขึ้นส่วนพืชตาย ถ้าวัดเวลาในการพอกฆ่าเชื้อให้น้อยลง อาจจะทำให้มีร้อยละการเกิดยอดที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Benmahioul. *et al.* (2016) ได้กล่าวไว้ว่า สารเมอร์คิวริคคลอไรด์ที่ใช้ในการพอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนพืช สามารถส่งผลในระยะยาวต่อขึ้นส่วนพืชได้ โดยอาจทำให้เกิดสีน้ำตาลและตายได้ และ Wei. *et al.* (2015) ที่ได้ศึกษาการพอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนตาข้างของต้น *Bambusa ventricosa* พบว่า การพอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลาสั้นๆ สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการพอกฆ่าเชื้อโดยจะพบร้อยละการรอดชีวิตของขึ้นส่วนพืชเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.1 ผลการศึกษาการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของขึ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	สารพอกฆ่าเชื้อเมอร์คิวริคคลอไรด์ (เปอร์เซ็นต์)	ร้อยละการปนเปื้อน ¹²	ร้อยละการเกิดยอด ¹²
0.00	0.05	100	0
0.25	0.05	100	80
0.50	0.05	100	20
1.00	0.05	100	0
2.00	0.05	100	0
0.00	0.10	0	0
0.25	0.10	0	100
0.50	0.10	0	40
1.00	0.10	20	0
2.00	0.10	0	0
0.00	0.20	0	0
0.25	0.20	0	20
0.50	0.20	0	0
1.00	0.20	0	0
2.00	0.20	0	0

หมายเหตุ ^{1/} ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสาร^{2/} ค่าร้อยละที่แสดงในตารางเป็นค่าที่คำนวณจากผลรวมของขึ้นส่วนปลายยอดและข้อไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



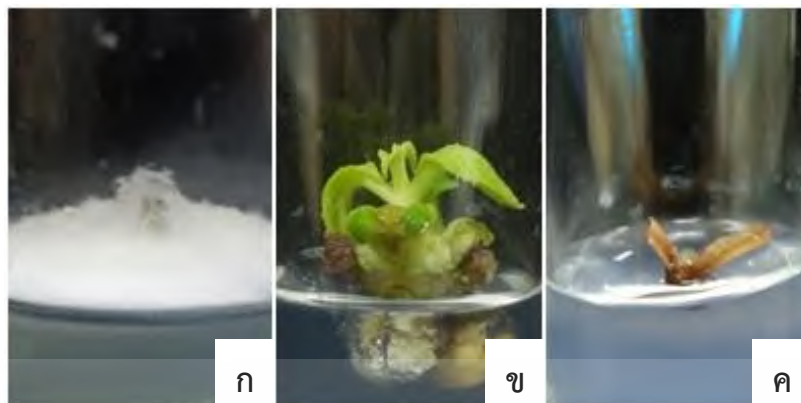
รูปที่ 4.1 ลักษณะขึ้นส่วนของพืชของต้นมะเขือเทศที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พอกด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ ความเข้มข้น (ก) 0.05 เปอร์เซ็นต์ (ข) 0.1 เปอร์เซ็นต์ (ค) 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ผลการศึกษาการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นสัคสยามินทร์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	สารพอกฆ่าเชื้อเมอร์คิวริคคลอไรด์ (เปอร์เซ็นต์)	ร้อยละการปนเปื้อน ¹²	ร้อยละการเกิดยอด ¹²
0.00	0.05	100	0
0.25	0.05	100	40
0.50	0.05	100	20
1.00	0.05	100	0
2.00	0.05	100	0
0.00	0.10	0	0
0.25	0.10	0	100
0.50	0.10	0	20
1.00	0.10	20	0
2.00	0.10	20	0
0.00	0.20	0	0
0.25	0.20	0	0
0.50	0.20	0	0
1.00	0.20	0	0
2.00	0.20	0	0

หมายเหตุ ^{1/} ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

^{2/} ค่าร้อยละที่แสดงในตารางเป็นค่าที่คำนวณจากผลรวมของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ลักษณะชิ้นส่วนพืชของต้นสักสยามินทร์ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ฟอกด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ ความเข้มข้น (ก) 0.05 เปอร์เซ็นต์ (ข) 0.1 เปอร์เซ็นต์ (ค) 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4.2 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่

จากการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ช่อ และข้อที่ติดฐานเพื่อชักนำให้เกิดยอดใหม่ของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ โดยการนำชิ้นส่วนพืชมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ *mT* ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงในที่มืด 1 สัปดาห์ จากนั้นเพาะเลี้ยงต่อโดยให้แสงสว่าง 4 สัปดาห์ มีการรายงานผลที่คล้ายกันในงานวิจัยของ Das. *et al.* (1996) ได้กล่าวว่า เมื่อนำชิ้นส่วนพืชของต้น *Anacardium occidentale* L. มาเพาะเลี้ยงในที่มืด 1 สัปดาห์ ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในที่ที่มีแสง พบว่า ทำให้พืชมีการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นจากเดิมร้อยละ 15 เพิ่มเป็นร้อยละ 90 จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์สามารถชักนำให้เกิดยอดและแคลลัสได้ในทุกสูตรอาหาร ในแต่ละสูตรอาหารจะมีความสามารถในการชักนำให้เกิดจำนวนยอด ความยาวยอด และขนาดแคลลัสที่ต่างกัน โดยจะสังเกตเห็นการเกิดยอดใหม่ออกมาอย่างชัดเจนจากชิ้นส่วนพืช หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และพบตุ่มของแคลลัสเกิดขึ้นในบริเวณฐานของชิ้นส่วนพืชในทุกสูตรอาหาร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยในต้นมเหสักข์ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (ตารางที่ 4.3) สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ทำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุดและมีความยาวยอดมากที่สุดคือ *mT* ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 2.30 ยอด และความยาวยอดเฉลี่ย คือ 2.58 เซนติเมตร โดยยอดที่เกิดใหม่มีลักษณะลำต้นเดี่ยว ใบมีขนาดใหญ่ และแคลลัสเกาะกันเป็นก้อนแข็ง (รูปที่ 4.7 ก) รองลงมาคือสารควบคุมการเจริญเติบโต *mT* ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 2.13 ยอด และความยาวยอดเฉลี่ย คือ 1.57 เซนติเมตร โดยยอดที่เกิดใหม่มีลักษณะลำต้นเดี่ยว ช่่วงข้อสั้น ใบมีขนาดเล็ก และแคลลัสเกาะกันเป็นก้อนแข็ง (รูปที่ 4.7 ข) และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM (ตารางที่ 4.4) สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ทำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุดและมีความยาวยอดมากที่สุดคือ BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 2.60 ยอด และ ความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.76 เซนติเมตร โดยยอดที่เกิดใหม่มีลักษณะลำต้นสูง ช่่วงข้อยาว ใบมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดใหญ่ และแคลลัสเกาะกันเป็นก้อนแข็ง (รูปที่ 4.7 ค) รองลงมาคือสารควบคุมการเจริญเติบโต mT ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 2.10 ยอด และ ความยาวยอดเฉลี่ย คือ 1.61 เซนติเมตร โดยยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีลักษณะลำต้นเตี้ย ช่วงข้อสั้น ใบมีขนาดใหญ่ และแคลลัสเกาะกันเป็นก้อนแข็ง (รูปที่ 4.7 ง) และในต้นสัคสยามินทร์ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (ตารางที่ 4.5) สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ทำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุดและมีความยาวยอดมากที่สุดคือ BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 1.83 ยอด และ ความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.12 เซนติเมตร โดยยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีลักษณะลำต้นสูง ช่วงข้อยาว ใบมีขนาดใหญ่ และแคลลัสเกาะกันเป็นก้อนแข็ง (รูปที่ 4.12 ก) รองลงมาคือสารควบคุมการเจริญเติบโต mT ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 1.80 ยอด และ ความยาวยอดเฉลี่ย คือ 2.95 เซนติเมตร โดยยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีลักษณะลำต้นเตี้ย ช่วงข้อสั้น ใบมีขนาดเล็ก และแคลลัสเกาะกันเป็นก้อนแข็ง (รูปที่ 4.12 ข) และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM (ตารางที่ 4.6) สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ทำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุดและมีความยาวยอดมากที่สุดคือ BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 2.00 ยอด และ ความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.78 เซนติเมตร โดยยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีลักษณะลำต้นสูง ช่วงข้อยาว ใบมีขนาดใหญ่ และแคลลัสเกาะกันเป็นก้อนแข็ง (รูปที่ 4.12 ค) รองลงมาคือสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 1.70 ยอด และ ความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.01 เซนติเมตร โดยยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีลักษณะลำต้นสูง ช่วงข้อยาว ใบมีขนาดใหญ่ และแคลลัสเกาะกันเป็นก้อนแข็ง (รูปที่ 4.12 ง) ซึ่งสอดคล้องกับมณฑิรา (2534) ที่ได้กล่าวว่า ชิ้นส่วนข้อสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุดบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP และ Anjusha and Gangaprasad (2016) ได้กล่าวว่า การชักนำให้เกิดยอดใหม่สามารถเกิดได้ดีเมื่อใช้ BAP ที่ความเข้มข้นต่ำ

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ขั้ว และข้อที่ติดฐานของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ *mT* ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์

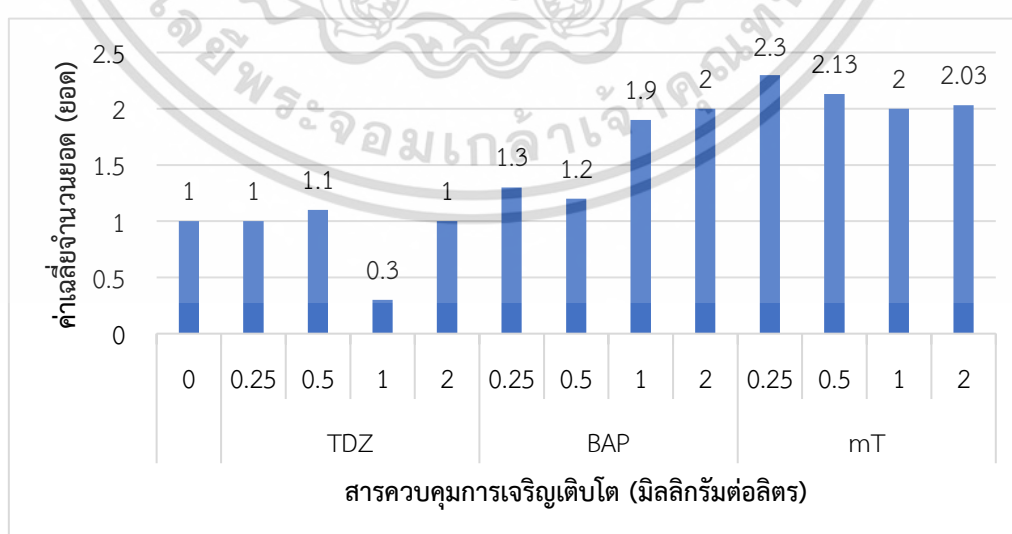
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			จำนวนยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (เซนติเมตร)
TDZ	BAP	<i>mT</i>		
0.00	0.00	0.00	1.00 ^b ± 0.34	0.43 ^e ± 0.37
0.25	-	-	1.00 ^b ± 0.00	0.65 ^{de} ± 0.38
0.50	-	-	1.10 ^b ± 0.30	0.83 ^{cde} ± 0.40
1.00	-	-	0.30 ^c ± 0.10	0.31 ^e ± 0.52
2.00	-	-	1.00 ^b ± 0.00	0.60 ^{de} ± 0.29
-	0.25	-	1.30 ^b ± 0.26	2.52 ^a ± 1.02
-	0.50	-	1.20 ^b ± 0.26	1.91 ^{ab} ± 0.44
-	1.00	-	1.90 ^a ± 0.45	1.97 ^{ab} ± 0.49
-	2.00	-	2.00 ^a ± 0.53	1.83 ^{abc} ± 0.99
-	-	0.25	2.30 ^a ± 0.53	2.58 ^a ± 0.39
-	-	0.50	2.13 ^a ± 0.65	1.57 ^{abcd} ± 0.63
-	-	1.00	2.00 ^a ± 0.20	1.35 ^{bcde} ± 0.49
-	-	2.00	2.03 ^a ± 0.21	0.83 ^{cde} ± 0.27

หมายเหตุ ¹ / ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้น

² / ค่าเฉลี่ยที่แสดงในตารางเป็นค่าที่คำนวณจากผลรวมของปลายยอด ขั้ว และข้อที่ติดฐาน

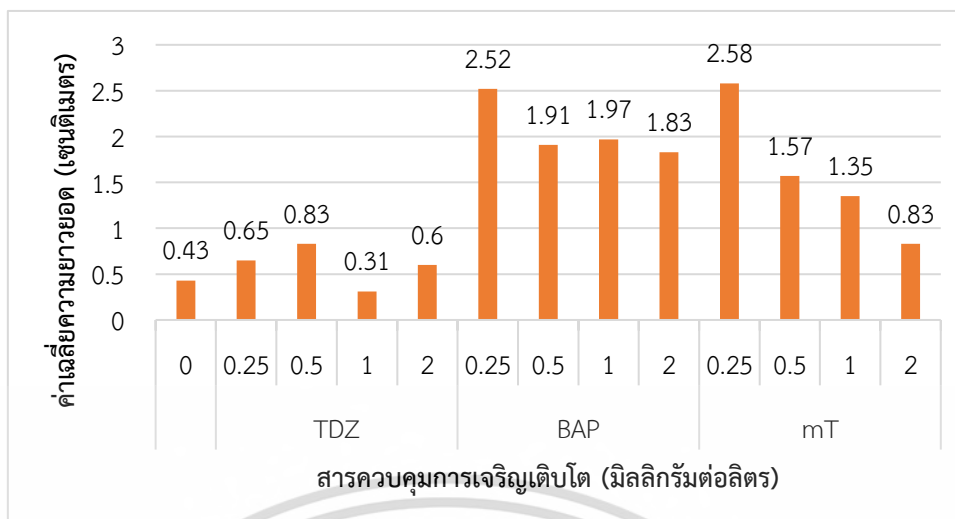
³ / ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

⁴ / ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's



รูปที่ 4.3 จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ *mT* ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นหมะลักซ์ บอนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ mT ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์

ตารางที่ 4.4 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอดข้อ และข้อที่ติดฐานของต้นหมะลักซ์ บอนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ mT ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			จำนวนยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (เซนติเมตร)
TDZ	BAP	mT		
0.00	0.00	0.00	1.60 ^{bc} ± 0.56	1.53 ^{bc} ± 0.67
0.25	-	-	1.30 ^{bc} ± 0.40	1.67 ^{bc} ± 0.52
0.50	-	-	1.00 ^c ± 0.00	0.59 ^c ± 0.70
1.00	-	-	2.03 ^{ab} ± 0.65	0.43 ^c ± 0.21
2.00	-	-	1.03 ^c ± 0.15	0.51 ^c ± 0.48
-	0.25	-	2.60 ^a ± 0.80	3.76 ^a ± 0.78
-	0.50	-	1.30 ^{bc} ± 0.26	2.67 ^{ab} ± 0.29
-	1.00	-	1.67 ^{bc} ± 0.25	2.29 ^b ± 1.23
-	2.00	-	1.70 ^{bc} ± 0.20	2.83 ^{ab} ± 1.00
-	-	0.25	2.03 ^{ab} ± 0.06	2.08 ^b ± 1.19
-	-	0.50	1.40 ^{bc} ± 0.17	1.55 ^{bc} ± 0.46
-	-	1.00	2.00 ^{ab} ± 0.72	2.16 ^b ± 1.05
-	-	2.00	2.10 ^{ab} ± 0.36	1.61 ^{bc} ± 0.49

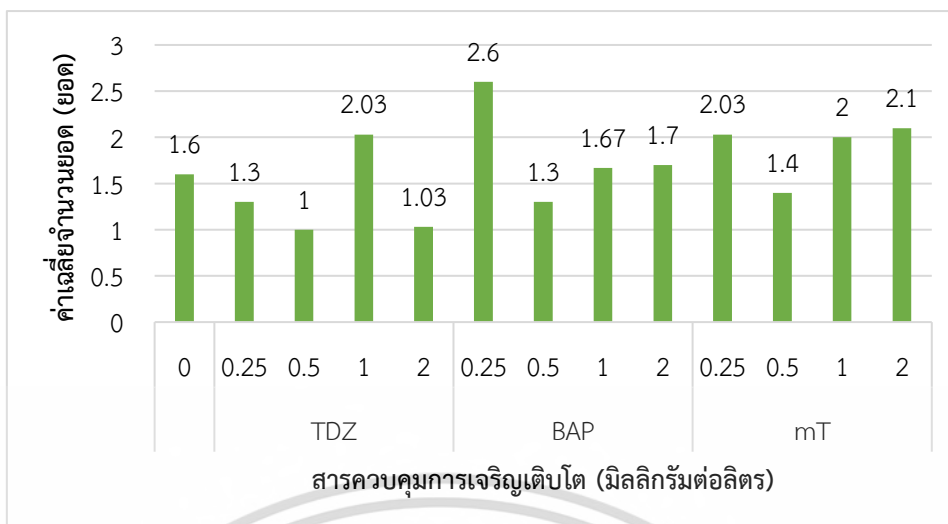
หมายเหตุ ^{1/} ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้น

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่แสดงในตารางเป็นค่าที่คำนวณจากผลรวมของปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐาน

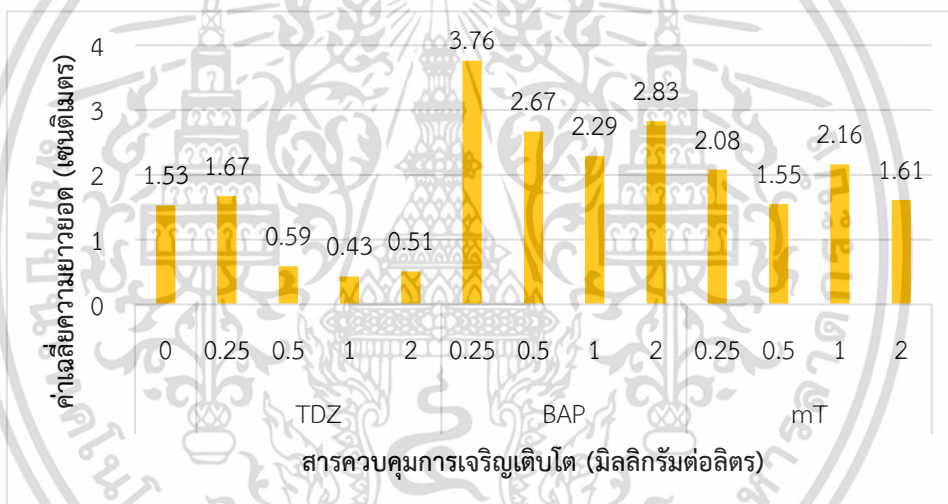
^{3/} ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

^{4/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's

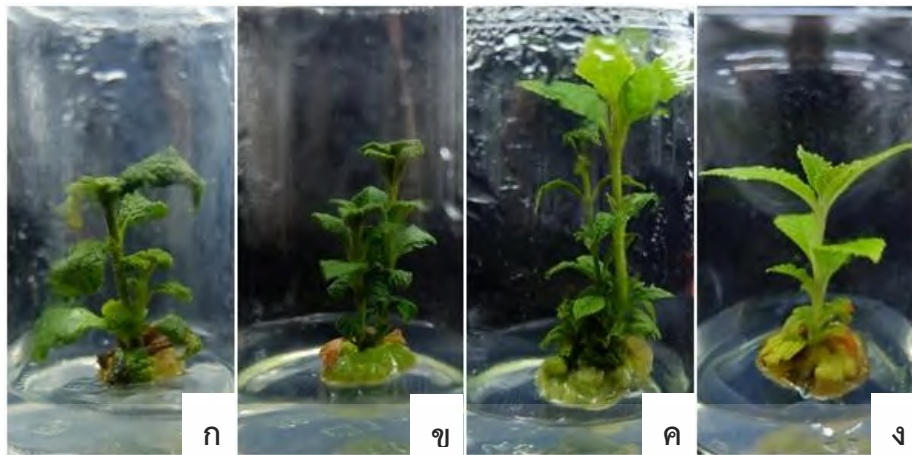
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บอนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ mT ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์



รูปที่ 4.6 ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บอนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ mT ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์



รูปที่ 4.7 ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่ของต้นมะเขือขี้ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ บนอาหาร (ก) MS ที่ประกอบด้วย *mT* ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) MS ที่ประกอบด้วย *mT* ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) WPM ที่ประกอบด้วย *mT* ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 ผลการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานของต้นสัปปะรดบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ *mT* ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			จำนวนยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (เซนติเมตร)
TDZ	BAP	<i>mT</i>		
0.00	0.00	0.00	0.80 ^a ± 0.10	1.55 ^{cd} ± 0.14
0.25	-	-	0.80 ^a ± 0.36	0.81 ^{de} ± 0.72
0.50	-	-	1.10 ^a ± 0.44	0.50 ^e ± 0.56
1.00	-	-	0.93 ^a ± 0.87	0.91 ^{de} ± 0.47
2.00	-	-	1.03 ^a ± 0.93	1.01 ^{de} ± 0.71
-	0.25	-	1.80 ^a ± 0.17	1.81 ^{bcd} ± 0.42
-	0.50	-	1.40 ^a ± 0.79	2.04 ^{abcd} ± 0.10
-	1.00	-	1.83 ^a ± 0.68	3.12 ^a ± 1.08
-	2.00	-	1.00 ^a ± 0.78	2.79 ^{ab} ± 0.48
-	-	0.25	1.80 ^a ± 0.56	2.95 ^{ab} ± 0.75
-	-	0.50	1.20 ^a ± 0.78	2.57 ^{abc} ± 0.33
-	-	1.00	1.23 ^a ± 0.75	3.05 ^{ab} ± 1.08
-	-	2.00	1.00 ^a ± 0.72	3.09 ^a ± 0.86

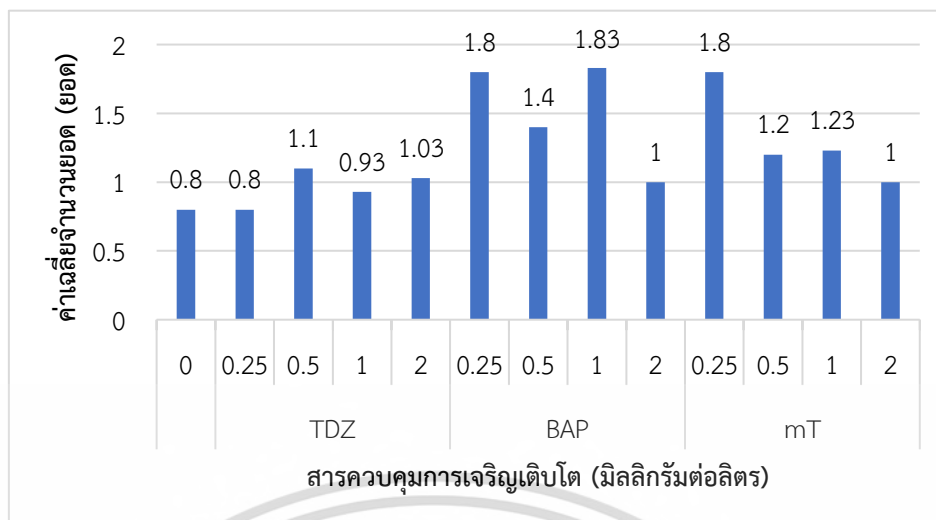
หมายเหตุ ^{1/} ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้น

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่แสดงในตารางเป็นค่าที่คำนวณจากผลรวมของปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐาน

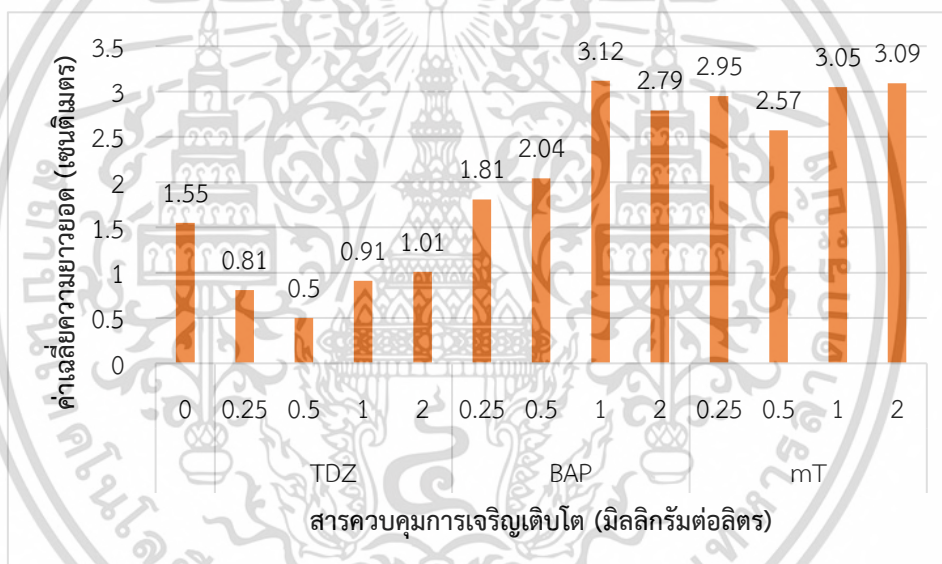
^{3/} ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

^{4/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นสัคสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ mT ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์



รูปที่ 4.9 ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นสัคสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ mT ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์

ตารางที่ 4.6 ผลการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ช่อ และข้อที่ติดฐานของต้นสักระยะ 1 ปี บอนอาหารเชิงสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ *mT* ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์

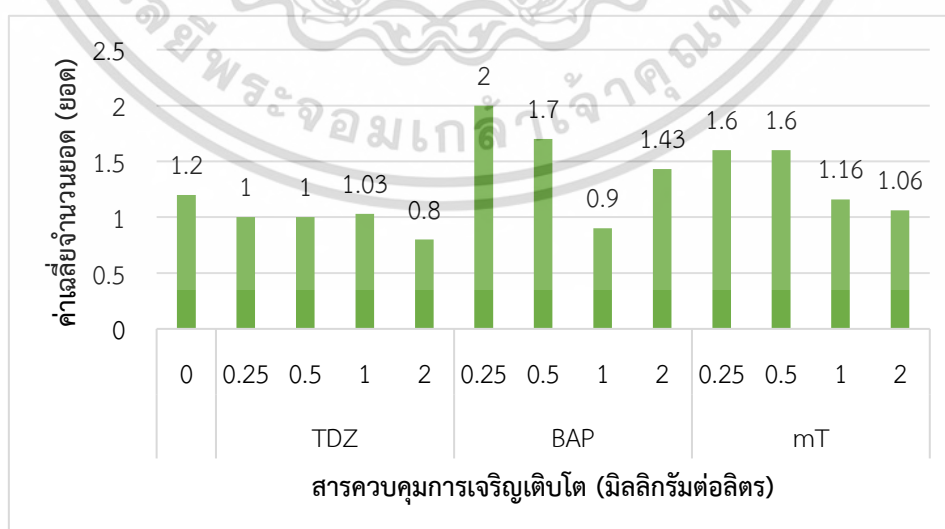
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			จำนวนยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (เซนติเมตร)
TDZ	BAP	<i>mT</i>		
0.00	0.00	0.00	1.20 ^{abc} ± 0.20	1.96 ^{cd} ± 0.30
0.25	-	-	1.00 ^{bc} ± 0.56	1.44 ^{de} ± 0.48
0.50	-	-	1.00 ^{bc} ± 0.00	0.93 ^e ± 0.12
1.00	-	-	1.03 ^{bc} ± 0.23	0.76 ^e ± 0.28
2.00	-	-	0.80 ^c ± 0.17	0.77 ^e ± 0.29
-	0.25	-	2.00 ^a ± 0.72	3.78 ^a ± 1.15
-	0.50	-	1.70 ^{ab} ± 0.10	3.01 ^{ab} ± 0.78
-	1.00	-	0.90 ^{bc} ± 0.00	2.00 ^{cd} ± 0.14
-	2.00	-	1.43 ^{abc} ± 0.65	2.76 ^{bc} ± 0.07
-	-	0.25	1.60 ^{abc} ± 1.04	2.04 ^{cd} ± 0.09
-	-	0.50	1.60 ^{abc} ± 0.10	2.25 ^{bcd} ± 0.55
-	-	1.00	1.16 ^{abc} ± 0.42	1.60 ^{de} ± 0.42
-	-	2.00	1.06 ^{bc} ± 0.06	0.97 ^e ± 0.16

หมายเหตุ ¹ / ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้น

² / ค่าเฉลี่ยที่แสดงในตารางเป็นค่าที่คำนวณจากผลรวมของปลายยอด ช่อ และข้อที่ติดฐาน

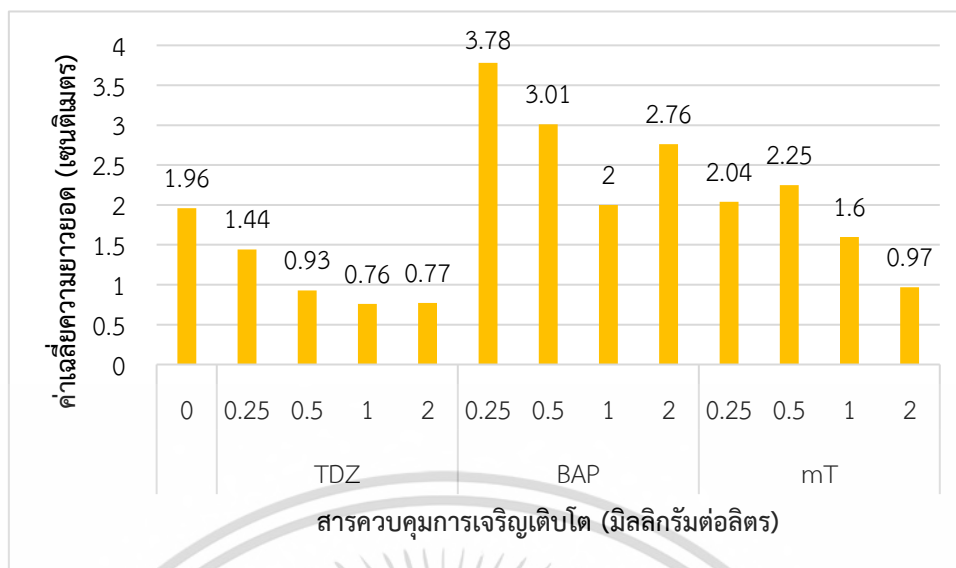
³ / ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

⁴ / ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's



รูปที่ 4.10 จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นสักระยะ 1 ปี บอนอาหารเชิงสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ *mT* ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นสัณฐานินทรีย์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย TDZ BAP และ mT ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์



รูปที่ 4.12 ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ของต้นสัณฐานินทรีย์ (ก) เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ประกอบด้วย mT ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

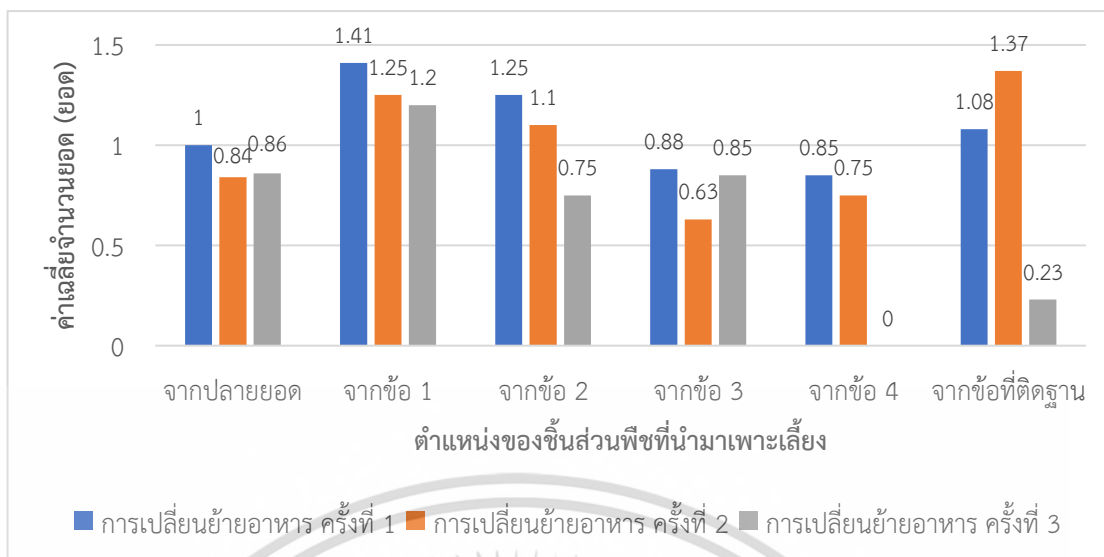
4.3 การศึกษาตำแหน่งของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด

จากการศึกษาตำแหน่งของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ โดยการนำชิ้นส่วนพีชมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ นับเป็นการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1 เมื่อครบเวลาทำการย้ายชิ้นส่วนพีชมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม และทำการเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 5 สัปดาห์ อีกจำนวน 2 ครั้ง ทำการเพาะเลี้ยงทั้งหมดเป็นเวลา 15 สัปดาห์ พบว่า ต้นมเหสักข์ (ตารางที่ 4.7) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ครั้งที่ 1 มีตำแหน่งที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด คือ ชิ้นส่วนข้อที่ 1 มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.41 ยอด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยยอดมีลักษณะลำต้นยืดยาว และตำแหน่งของแต่ละข้อห่างกัน (รูปที่ 4.14 ก) หลังจากนั้นทำการเปลี่ยนอาหารให้ชิ้นส่วนพีชโดยย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม นับเป็นการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 2 พบว่า ตำแหน่งที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด คือ ชิ้นส่วนข้อที่ติดฐาน มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.37 ยอด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยยอดที่เกิดขึ้นมีการแตกเป็นยอดหลายยอด และลำต้นมีลักษณะยืดยาวแค่เพียงบางยอด ยอดที่ยืดยาวตำแหน่งของแต่ละข้อจะห่างกัน แต่ยอดที่สั้นตำแหน่งของแต่ละข้อจะชิดกัน และมีการเกิดแคลลัสสีน้ำตาลในบริเวณฐานของยอด (รูปที่ 4.14 ข) หลังจากนั้นทำการเปลี่ยนอาหารให้ชิ้นส่วนพีชโดยย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม นับเป็นการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 3 พบว่าตำแหน่งที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด คือ ชิ้นส่วนข้อที่ 1 มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.20 ยอด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยยอดที่เกิดขึ้นมีการแตกเป็นยอดหลายยอด และลำต้นมีลักษณะยืดยาวแค่เพียงบางยอด และมีการเกิดแคลลัสสีเขียวในบริเวณฐานของยอด (รูปที่ 4.14 ค) และต้นสักสยามินทร์ (ตารางที่ 4.8) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ครั้งที่ 1 มีตำแหน่งที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด คือ ชิ้นส่วนข้อที่ 1 มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.16 ยอด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยยอดมีลักษณะลำต้นยืดยาว และตำแหน่งของแต่ละข้อห่างกันเล็กน้อย และมีการเกิดแคลลัสสีเขียวเหลืองในบริเวณฐานของยอด (รูปที่ 4.16 ก) หลังจากนั้นทำการเปลี่ยนอาหารให้ชิ้นส่วนพีชโดยย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม นับเป็นการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 2 พบว่าตำแหน่งที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด คือ ชิ้นส่วนข้อที่ 1 มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.22 ยอด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยยอดมีลักษณะลำต้นยืดยาว และตำแหน่งของแต่ละข้อห่างกัน และมีการเกิดแคลลัสสีเขียวเหลืองในบริเวณฐานของยอด (รูปที่ 4.16 ข) หลังจากนั้นทำการเปลี่ยนอาหารให้ชิ้นส่วนพีชโดยย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม นับเป็นการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 3 พบว่าตำแหน่งที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด คือ ชิ้นส่วนข้อที่ 1 มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.00 ยอด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยยอดมีลักษณะลำต้นเตี้ย และตำแหน่งของแต่ละข้อชิดกัน และมีการเกิดแคลลัสสีเขียวเหลืองในบริเวณฐานของยอด (รูปที่ 4.16 ค)

ตารางที่ 4.7 ผลการศึกษาตำแหน่งของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดของต้นแมสสักซ์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปลี่ยนย้ายอาหารทุก 5 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง

จำนวนครั้ง การเปลี่ยนย้าย อาหารให้พืช	จำนวน ชิ้นส่วนพืช เริ่มต้นเฉลี่ย (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ปลายยอด (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ข้อที่ 1 (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ข้อที่ 2 (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ข้อที่ 3 (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ข้อที่ 4 (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ข้อที่ติดฐาน (ยอด)	จำนวนยอดเฉลี่ย ทั้งหมด (ยอด)
ครั้งที่ 1	5.41	1.00	1.41	1.25	0.88	0.85	1.08	6.49
ครั้งที่ 2	2.78	0.84	1.25	1.10	0.63	0.75	1.37	5.95
ครั้งที่ 3	3.32	0.86	1.20	0.75	0.85	0.00	0.23	3.90

หมายเหตุ ใช้ชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1 จำนวน 12 ชิ้นส่วนของปลายยอด/ข้อที่ 1/ข้อที่ 2/ข้อที่ 3/ข้อที่ 4/ข้อที่ติดฐาน



รูปที่ 4.13 จำนวนยอดเฉลี่ยจากการศึกษาตำแหน่งที่แตกต่างกันในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปลี่ยนย้ายอาหารทุก 5 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง

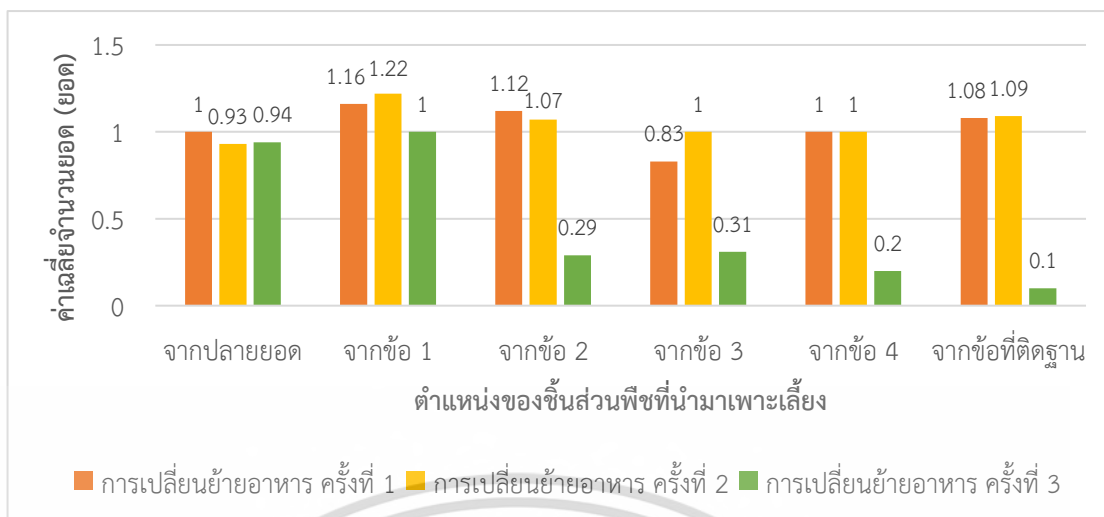


รูปที่ 4.14 ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดจากตำแหน่งพืชที่แตกต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ของต้นมเหสักข์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ชิ้นส่วนข้อที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 1 (ข) ชิ้นส่วนข้อที่ติดฐานที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 2 (ค) ชิ้นส่วนข้อที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 3 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.8 ผลการศึกษาตำแหน่งของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดของต้นสักสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปลี่ยนยาอาหารทุก 5 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง

จำนวนครั้งการ เปลี่ยนยา อาหารให้พืช	จำนวน ชิ้นส่วนพืช เริ่มต้นเฉลี่ย (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ปลายยอด (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ข้อที่ 1 (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ข้อที่ 2 (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ข้อที่ 3 (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ข้อที่ 4 (ยอด)	จำนวนยอด เฉลี่ยที่เกิดจาก ข้อที่ติดฐาน (ยอด)	จำนวนยอดเฉลี่ย รวมทั้งหมด (ยอด)
ครั้งที่ 1	4.41	1.00	1.16	1.12	0.83	1.00	1.08	6.20
ครั้งที่ 2	2.46	0.93	1.22	1.07	1.00	1.00	1.09	6.32
ครั้งที่ 3	4.05	0.94	1.00	0.29	0.31	0.20	0.10	2.85

หมายเหตุ ใช้ชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1 จำนวน 12 ชิ้นส่วนของปลายยอด/ข้อที่ 1/ข้อที่ 2/ข้อที่ 3/ข้อที่ 4/ข้อที่ติดฐาน



รูปที่ 4.15 จำนวนยอดเฉลี่ยจากการศึกษาตำแหน่งที่แตกต่างกันในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นสักระยาสูบ บอนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปลี่ยนย้ายอาหารทุก 5 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง



รูปที่ 4.16 ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดจากตำแหน่งพืชที่แตกต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ของต้นสักระยาสูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ชิ้นส่วนข้อที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 1 (ข) ชิ้นส่วนข้อที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 2 (ค) ชิ้นส่วนข้อที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารครั้งที่ 3 ตามลำดับ

4.4 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนแคลลัส

จากการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนแคลลัสของต้นมเหสักข์ และสักระยาจันทร์ โดยการนำแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 3.3.3 มาตัดให้ได้ขนาดประมาณ 1x1x1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในทุกความเข้มข้น ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมที่เติมผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในทุกความเข้มข้น จากนั้นเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ รวมทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงต้นมเหสักข์ (ตารางที่ 4.9) แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.6 ยอด โดยแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้น และเกิดเป็นยอดเล็กๆสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.20 ก) ต่อมาแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้น และยอดมีเจริญเติบโตเป็นยอดยาวขึ้นมาจากแคลลัสจำนวนหลายยอด เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 8 สัปดาห์ (รูปที่ 4.20 ง) รองลงมาคือ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต มีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 1.4 ยอด และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.24 เซนติเมตร โดยแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้น และมียอดเล็กๆสีเขียวที่เกิดขึ้น หลังจากเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.20 ข) ต่อมาแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้นเล็กน้อย และยอดมีเจริญเติบโตเป็นยอดยาว และมีลักษณะลำต้นที่ยาวขึ้นมาจากแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 8 สัปดาห์ (รูปที่ 4.20 จ) รองลงมาคือ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต มีความยาวยอดเฉลี่ย คือ 1.02 เซนติเมตร และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด คือ 2.59 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้น และมีจุดสีเขียวเกิดขึ้นบนแคลลัส หลังจากเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.20 ค) ต่อมาแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้น และบนแคลลัสมีจุดสีเขียวแต่ไม่มีการพัฒนาไปเป็นยอด เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 8 สัปดาห์ (รูปที่ 4.20 ฉ) รองลงมาคือ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 1.73 ลูกบาศก์เซนติเมตร และพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นสักระยาจันทร์ (ตารางที่ 4.10) แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 0.6 ยอด โดยแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้นเล็กน้อย และเกิดจุดสีเขียวบนแคลลัส หลังจากเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.24 ก) ต่อมาแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้น และยอดมีเจริญเติบโตเป็นยอดเล็กๆสีเขียว เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 8 สัปดาห์ (รูปที่ 4.24 ง) รองลงมาคือ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 0.4 ยอด และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.82 เซนติเมตร โดยแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้นเล็กน้อย และเกิดจุดสีเขียวบนแคลลัส หลังจากเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.24 ข) ต่อมายอดมีเจริญเติบโตเป็นยอดยาว และมีลักษณะลำต้นที่ยาวขึ้นมาจากแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่ควรนำเอกสารนี้ไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่านไป 8 สัปดาห์ (รูปที่ 4.24 จ) รองลงมาคือ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ย คือ 1.73 เซนติเมตร และ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.79 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้น และมีจุดสีเขียวเกิดขึ้นบนแคลลัส หลังจากเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.24 ค) ต่อมาแคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้น และบนแคลลัสมีจุดสีเขียวแต่ไม่มีการพัฒนาไปเป็นยอด เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 8 สัปดาห์ (รูปที่ 4.24 ฉ) รองลงมาคือ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 1.71 ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับนักวิจัยหลายคน เช่น Thongpukdee. *et al.* (2010) ที่ได้กล่าวไว้ว่า การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ร้อยละ 100 โดยการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินในความเข้มข้นสูงจะสามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นยอดได้ และ Hoseini. *et al.* (2014) ที่ได้กล่าวว่า การเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5-10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสำคัญในการเปลี่ยนไซมาติกเซลล์ให้เป็นเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงไมโครสปอร์ของฝักกาดก้านขาว และ Akram and Aftab (2016) ที่ได้กล่าวว่า การเติมกรดแอสคอร์บิกมีความสำคัญอย่างมากต่อการสร้างไซมาติกเอ็มบริโอเจนซิส และ การพัฒนาเป็นต้นใหม่ของต้นสัก

ตารางที่ 4.9 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนแคลลัสของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

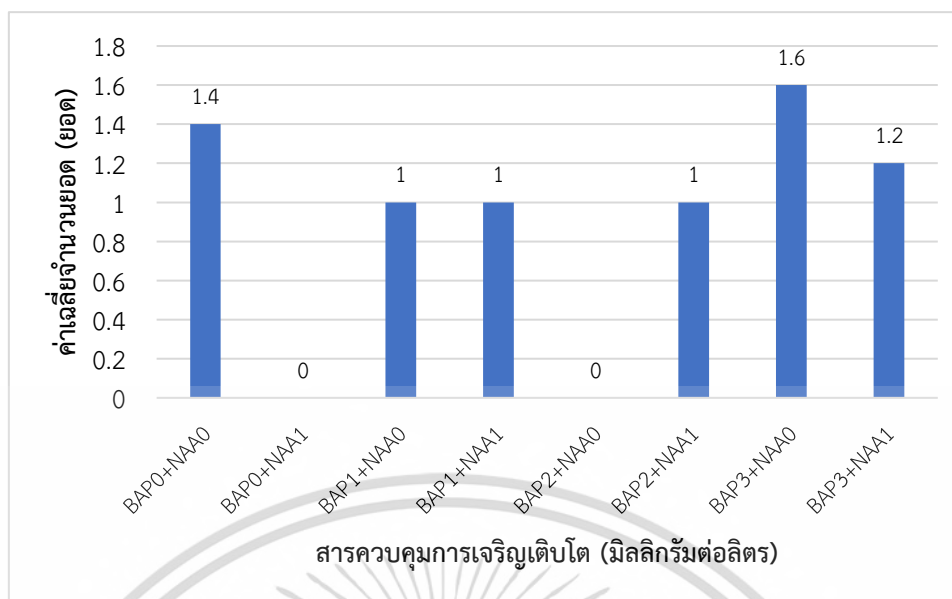
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนยอดเฉลี่ย ¹²³ (ยอด)	ความยาวยอด เฉลี่ย ¹²³ (เซนติเมตร)	ขนาดแคลลัส เฉลี่ย ¹²³ (ลูกบาศก์ เซนติเมตร)
BAP	NAA			
0.00	0.00	1.40 ^{ab} ± 0.20	1.02 ^a ± 0.89	1.03 ^a ± 0.74
0.00	1.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^b ± 0.00	1.55 ^a ± 0.74
1.00	0.00	1.00 ^b ± 0.00	0.38 ^{ab} ± 0.22	1.73 ^a ± 1.34
1.00	1.00	1.00 ^b ± 0.35	0.83 ^{ab} ± 0.90	0.89 ^a ± 0.72
2.00	0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^b ± 0.00	2.59 ^a ± 1.32
2.00	1.00	1.00 ^b ± 0.20	0.37 ^{ab} ± 0.17	0.79 ^a ± 0.19
3.00	0.00	1.60 ^a ± 0.53	0.90 ^{ab} ± 0.57	1.23 ^a ± 0.50
3.00	1.00	1.20 ^{ab} ± 0.40	1.24 ^a ± 0.33	1.53 ^a ± 1.29

หมายเหตุ ^{1/} ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

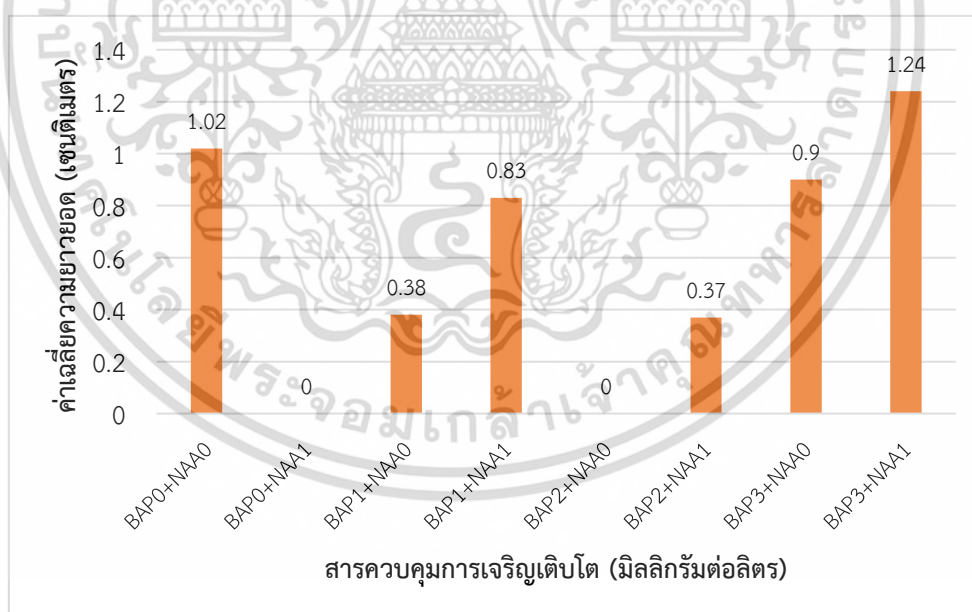
^{2/} ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

^{3/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

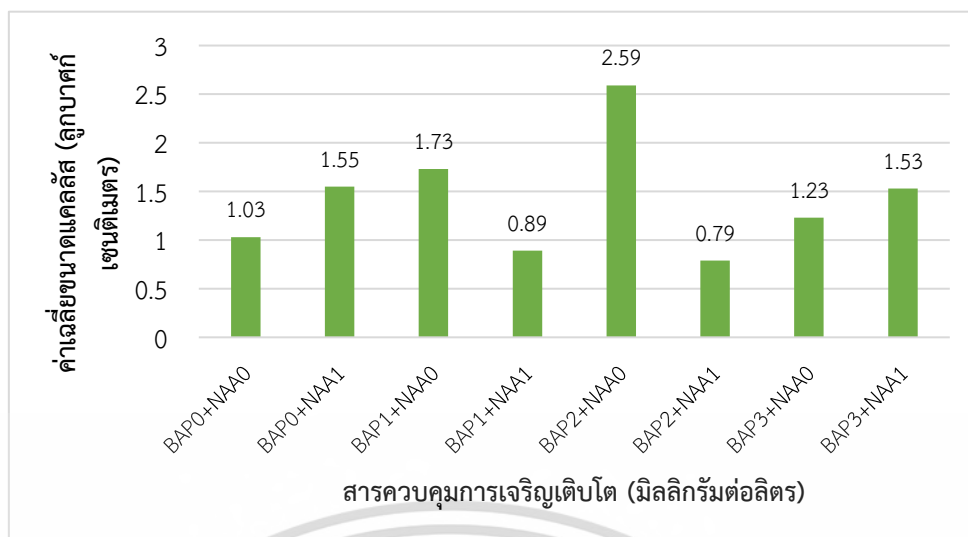


รูปที่ 4.17 จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นมะเขือขี บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์



รูปที่ 4.18 ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นมะเขือขี บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.19 ขนาดแคลลัสเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์



รูปที่ 4.20 ลักษณะแคลลัสของต้นมเหสักข์ที่ชักนำให้เกิดยอดใหม่ บนอาหารแข็งสูตร WPM (ก) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ค) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ง) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (จ) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ฉ) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

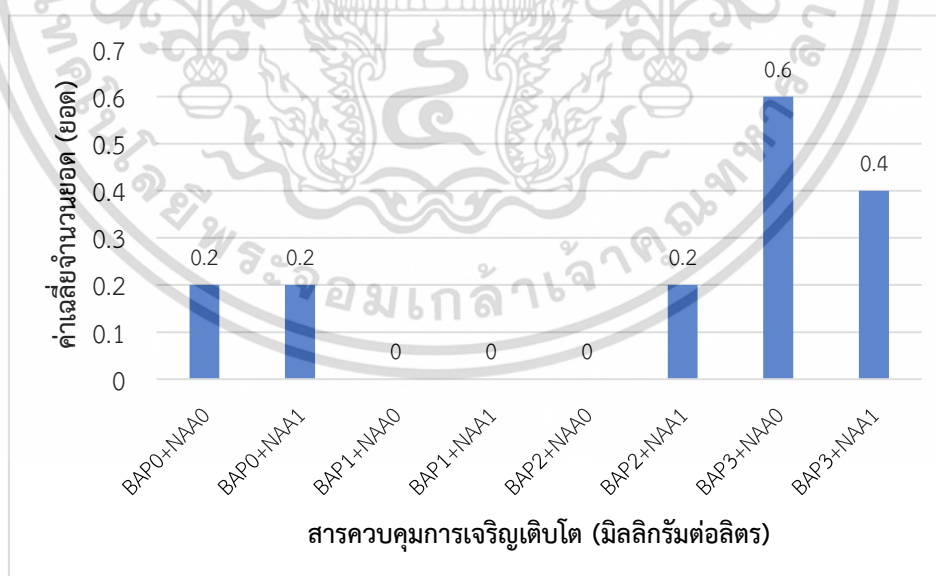
ตารางที่ 4.10 ผลการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนแคลลัสของต้นสั๊กสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนยอดเฉลี่ย ¹²³ (ยอด)	ความยาวยอด เฉลี่ย ¹²³ (เซนติเมตร)	ขนาดแคลลัส เฉลี่ย ¹²³ (ลูกบาศก์ เซนติเมตร)
BAP	NAA			
0.00	0.00	0.20 ^{bc} ± 0.20	0.86 ^b ± 0.51	0.79 ^a ± 0.68
0.00	1.00	0.20 ^{bc} ± 0.20	0.31 ^c ± 0.17	1.01 ^a ± 0.73
1.00	0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	1.39 ^a ± 1.04
1.00	1.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	1.40 ^a ± 1.04
2.00	0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	1.79 ^a ± 1.21
2.00	1.00	0.20 ^{bc} ± 0.20	1.82 ^a ± 0.43	1.71 ^a ± 0.96
3.00	0.00	0.60 ^a ± 0.20	1.73 ^a ± 0.37	1.36 ^a ± 1.06
3.00	1.00	0.40 ^{ab} ± 0.34	1.04 ^b ± 0.35	1.00 ^a ± 0.82

หมายเหตุ^{1/} ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

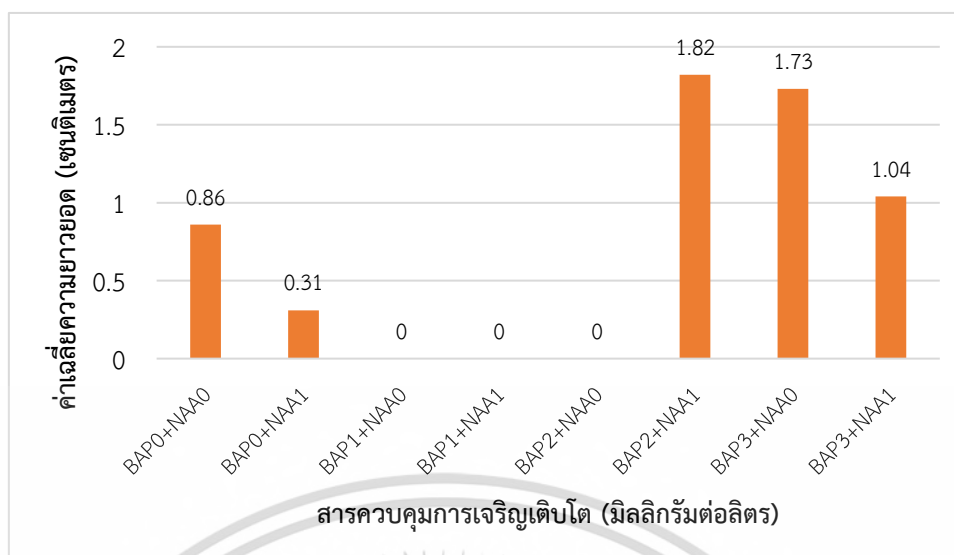
^{2/} ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

^{3/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's

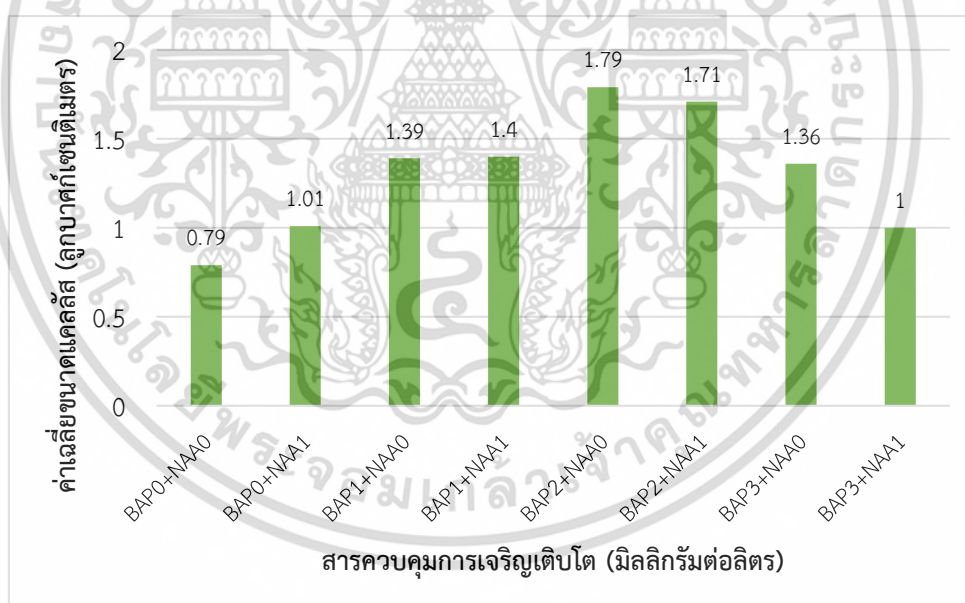


รูปที่ 4.21 จำนวนยอดเฉลี่ยของต้นสั๊กสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

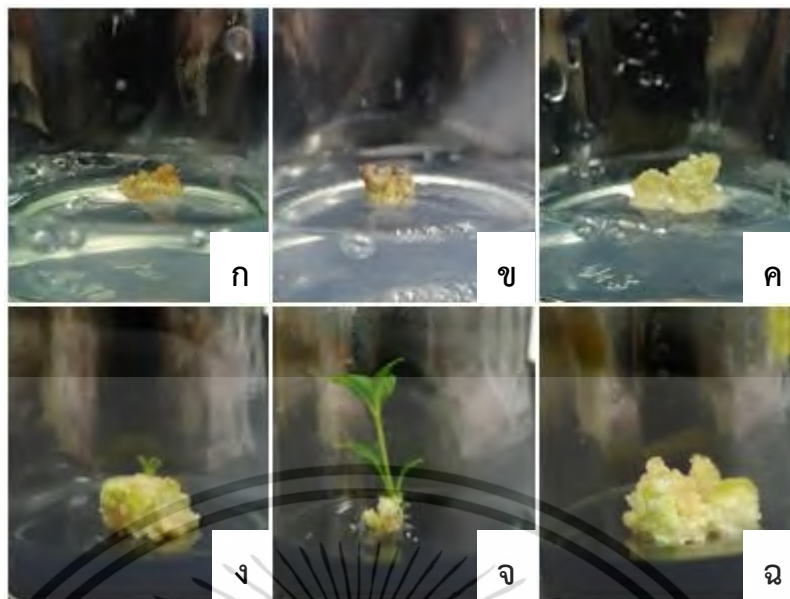
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.22 ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นสักระยะมินท์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์



รูปที่ 4.23 ขนาดแคสซิสเฉลี่ยของต้นสักระยะมินท์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้นต่างๆ และ BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และผงถ่าน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทุกความเข้มข้น หลังจากการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์



รูปที่ 4.24 ลักษณะแคลลัสของต้นสักระยาสูบที่ชักนำให้เกิดยอดใหม่ บนอาหารแข็งสูตร WPM (ก) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ค) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ง) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (จ) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ฉ) ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

4.5 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากจากชิ้นส่วนปลายยอด ขั้ว และข้อที่ติดฐาน

การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากจากชิ้นส่วนปลายยอด ขั้ว และข้อที่ติดฐานของต้นมอสสักซ์ และสักระยาสูบ โดยการนำชิ้นส่วนพืชมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้น 0 0.05 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.05 และ NAA ความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในที่มืด 1 สัปดาห์ และเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่าง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ รวมทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า ในต้นมอสสักซ์ (ตารางที่ 4.11) ชิ้นส่วนข้อสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากได้ดีที่สุด โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดคือ ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 1.33 ยอด และมีความยาวยอดเฉลี่ย คือ 2.12 เซนติเมตร แต่มีจำนวนรากเฉลี่ยเพียง 0.67 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยเพียง 2.34 เซนติเมตร เท่านั้น ดังนั้นชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด อย่างไรก็ตาม ข้อควรระวังคือ การเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมเป็นสิ่งสำคัญ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และรากได้ดีที่สุด เพราะมีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 1.26 ยอด และมีความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.64 เซนติเมตร และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 1 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 2.39 เซนติเมตร โดยยอดมีลักษณะยืดยาวลำต้นและใบมีสีเขียว และลักษณะของรากจะมีการเกิดรากออกมาจากส่วนฐานของยอด และต่อมาเกิดแคลลัสบริเวณฐานของยอดคลุมบริเวณฐานของยอดและราก รากมีลักษณะแตกแขนงออกมาเป็นรากฝอยขนาดยาว (รูปที่ 4.27) และในต้นสักสยามินทร์ (ตารางที่ 4.12) ขึ้นส่วนข้อที่ติดฐานสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากได้ดีที่สุด โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดคือ ขึ้นส่วนข้อที่ติดฐานที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 1.13 ยอด และมีความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.89 เซนติเมตร แต่มีจำนวนรากเฉลี่ยเพียง 0.67 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยเพียง 1.52 เซนติเมตรเท่านั้น ดังนั้นขึ้นส่วนข้อที่ติดฐานที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงสามารถชักนำให้เกิดยอดและรากได้ดีที่สุด โดยพบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 1 ยอด และมีความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.73 เซนติเมตร และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 0.93 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 3.65 เซนติเมตร โดยยอดมีลักษณะลำต้นและใบมีสีเขียว และลักษณะของรากจะมีการเกิดรากออกมาจากส่วนฐานของยอด และต่อมาเกิดแคลลัสบริเวณฐานของยอดคลุมบริเวณฐานของยอดและราก รากมีลักษณะแตกแขนงออกมาเป็นรากฝอยขนาดสั้น (รูปที่ 4.30) ซึ่งสอดคล้องกับ Kozgar and Shahzad (2012) ได้กล่าวว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA สามารถชักนำให้เกิดรากในต้นสักได้ดีกว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA และ IBA และ กรณ์ (2559) ได้กล่าวว่าการเกิดรากพบมากในอาหารที่ประกอบด้วย NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.11 ผลการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากจากชิ้นส่วนปลายยอด ขั้ว และข้อที่ติดฐานของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์

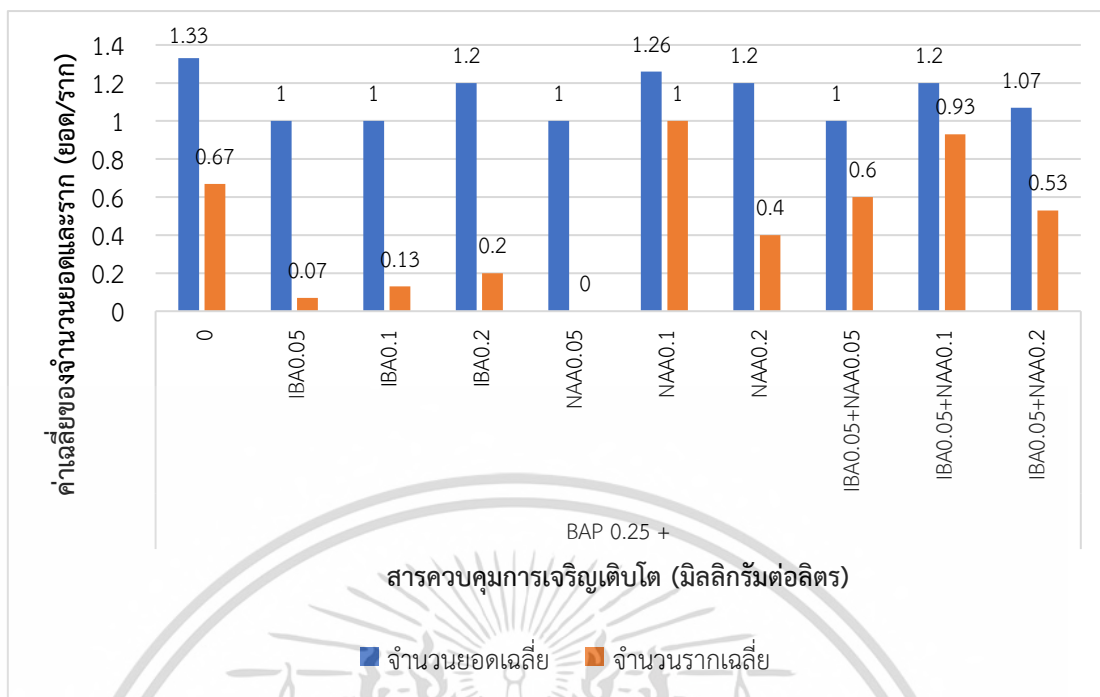
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (เซนติเมตร)	จำนวนรากเฉลี่ย ¹²³⁴ (ราก)	ความยาวรากเฉลี่ย ¹²³⁴ (เซนติเมตร)
BAP 0.25	1.33 ^a ± 0.30	2.12 ^a ± 1.01	0.67 ^{abc} ± 0.70	2.34 ^a ± 2.03
BAP 0.25 + IBA 0.05	1.00 ^a ± 0.00	2.06 ^a ± 0.15	0.07 ^c ± 0.11	0.12 ^b ± 0.21
BAP 0.25 + IBA 0.1	1.00 ^a ± 0.00	3.30 ^a ± 2.12	0.13 ^c ± 0.23	0.51 ^b ± 0.88
BAP 0.25 + IBA 0.2	1.20 ^a ± 0.35	2.29 ^a ± 0.83	0.20 ^{bc} ± 0.20	0.27 ^b ± 0.25
BAP 0.25 + NAA 0.05	1.00 ^a ± 0.00	3.93 ^a ± 1.28	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^b ± 0.00
BAP 0.25 + NAA 0.1	1.26 ^a ± 0.23	3.64 ^a ± 1.29	1.00 ^a ± 0.40	2.39 ^a ± 1.50
BAP 0.25 + NAA 0.2	1.20 ^a ± 0.35	1.40 ^a ± 0.84	0.40 ^{abc} ± 0.35	0.73 ^{ab} ± 0.53
BAP 0.25 + IBA 0.05 + NAA 0.05	1.00 ^a ± 0.00	2.23 ^a ± 0.38	0.60 ^{abc} ± 0.53	0.74 ^{ab} ± 0.43
BAP 0.25 + IBA 0.05 + NAA 0.1	1.20 ^a ± 0.20	3.31 ^a ± 1.33	0.93 ^{ab} ± 0.11	0.51 ^b ± 0.23
BAP 0.25 + IBA 0.05 + NAA 0.2	1.07 ^a ± 0.30	2.94 ^a ± 3.43	0.53 ^{abc} ± 0.61	0.73 ^{ab} ± 0.71

หมายเหตุ ^{1/} ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

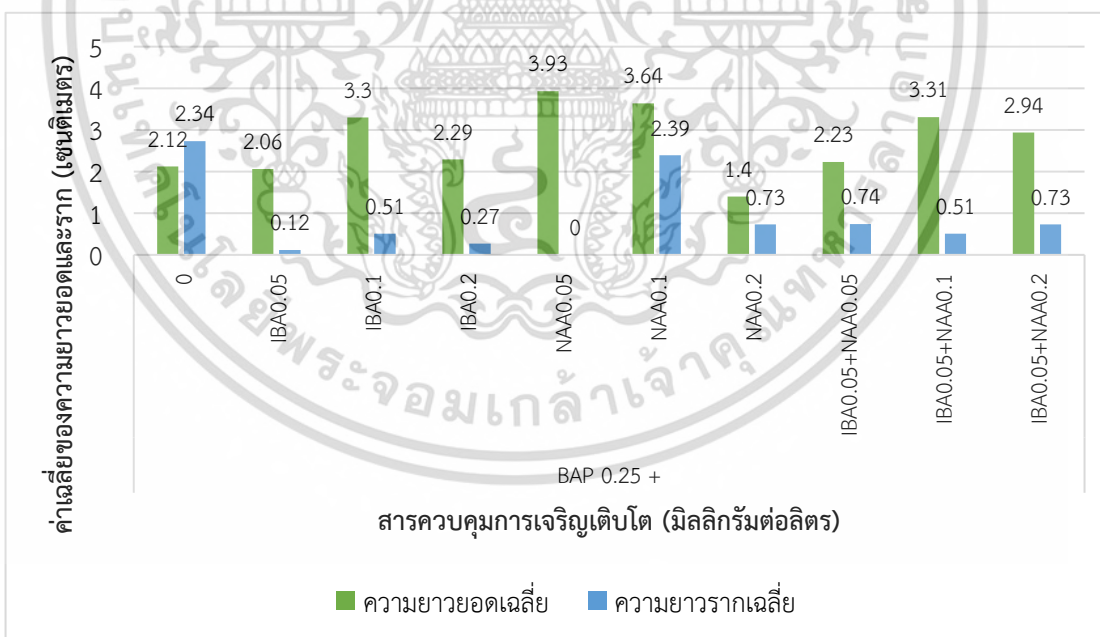
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่แสดงในตารางเป็นค่าที่คำนวณจากผลรวมของปลายยอด ขั้ว และข้อที่ติดฐาน

^{3/} ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

^{4/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's



รูปที่ 4.25 จำนวนยอดและรากเฉลี่ยของต้นมะเขือขี้ บอนอาหารเชิงสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์



รูปที่ 4.26 ความยาวยอดและรากเฉลี่ยของต้นมะเขือขี้ บอนอาหารเชิงสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.27 ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากที่ดีที่สุดของต้นมเหสักข์ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 4.12 ผลการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากจากชิ้นส่วนปลายยอด ขั้ว และข้อที่ติดฐานของต้นสัสน้ำมันทร บินอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์

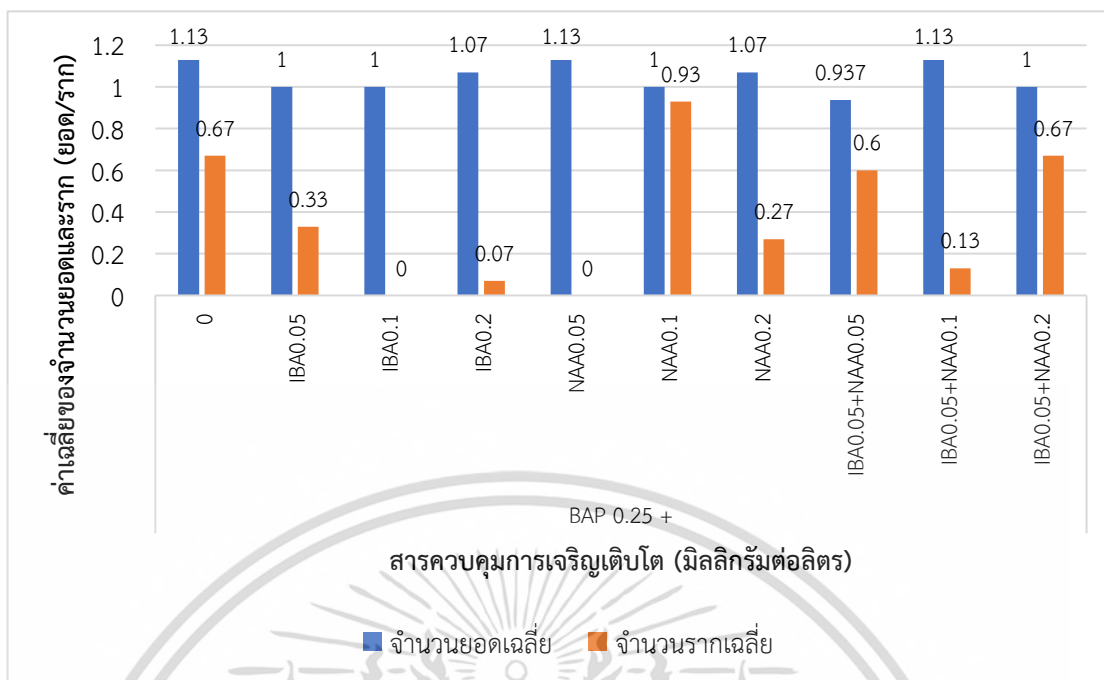
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (เซนติเมตร)	จำนวนรากเฉลี่ย ¹²³⁴ (ราก)	ความยาวรากเฉลี่ย ¹²³⁴ (เซนติเมตร)
BAP 0.25	1.13 ^a ± 0.11	3.89 ^a ± 4.22	0.67 ^{ab} ± 0.11	1.52 ^{bc} ± 1.07
BAP 0.25 + IBA 0.05	1.00 ^a ± 0.00	2.91 ^a ± 2.66	0.33 ^{bcd} ± 0.30	0.67 ^{bc} ± 0.71
BAP 0.25 + IBA 0.1	1.00 ^a ± 0.00	1.73 ^a ± 0.64	0.00 ^d ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00
BAP 0.25 + IBA 0.2	1.07 ^a ± 0.11	4.97 ^a ± 3.29	0.07 ^d ± 0.11	0.12 ^{bc} ± 0.21
BAP 0.25 + NAA 0.05	1.13 ^a ± 0.23	0.87 ^a ± 0.65	0.00 ^d ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00
BAP 0.25 + NAA 0.1	1.00 ^a ± 0.00	3.73 ^a ± 1.22	0.93 ^a ± 0.23	3.65 ^a ± 1.65
BAP 0.25 + NAA 0.2	1.07 ^a ± 0.11	2.25 ^a ± 2.23	0.27 ^{cd} ± 0.11	0.76 ^{bc} ± 0.77
BAP 0.25 + IBA 0.05 + NAA 0.05	0.94 ^a ± 0.11	1.97 ^a ± 1.36	0.60 ^{abc} ± 0.20	0.94 ^{bc} ± 0.50
BAP 0.25 + IBA 0.05 + NAA 0.1	1.13 ^a ± 0.11	2.71 ^a ± 0.88	0.13 ^d ± 0.11	0.57 ^{bc} ± 0.51
BAP 0.25 + IBA 0.05 + NAA 0.2	1.00 ^a ± 0.00	2.12 ^a ± 2.54	0.67 ^{ab} ± 0.42	1.90 ^b ± 1.97

หมายเหตุ ^{1/} ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

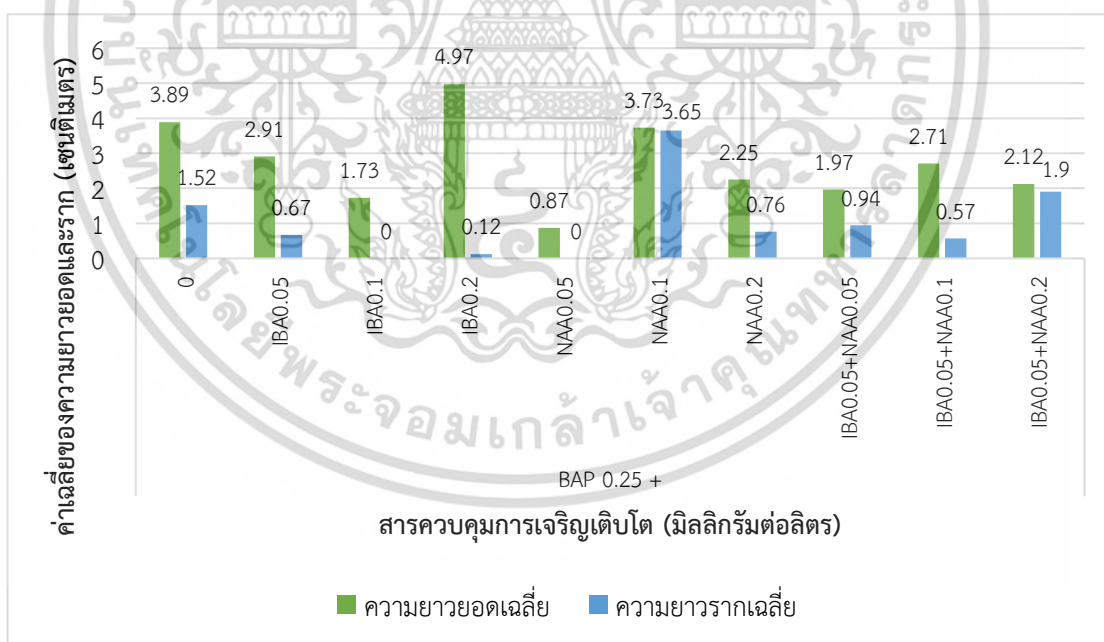
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่แสดงในตารางเป็นค่าที่คำนวณจากผลรวมของปลายยอด ขั้ว และข้อที่ติดฐาน

^{3/} ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

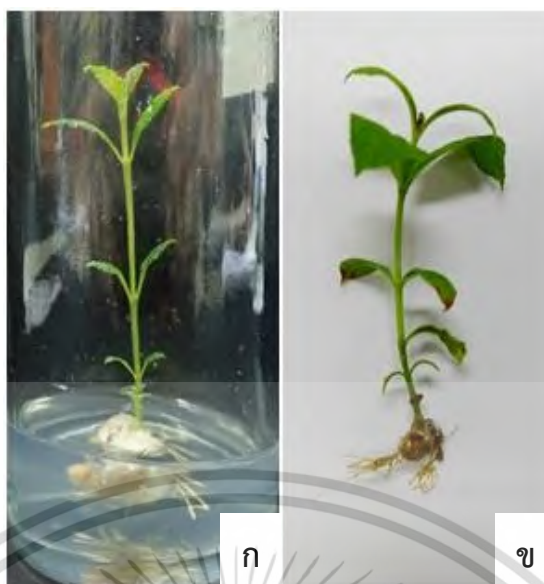
^{4/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's



รูปที่ 4.28 จำนวนยอดและรากเฉลี่ยของต้นสักสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์



รูปที่ 4.29 ความยาวยอดและรากเฉลี่ยของต้นสักสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์



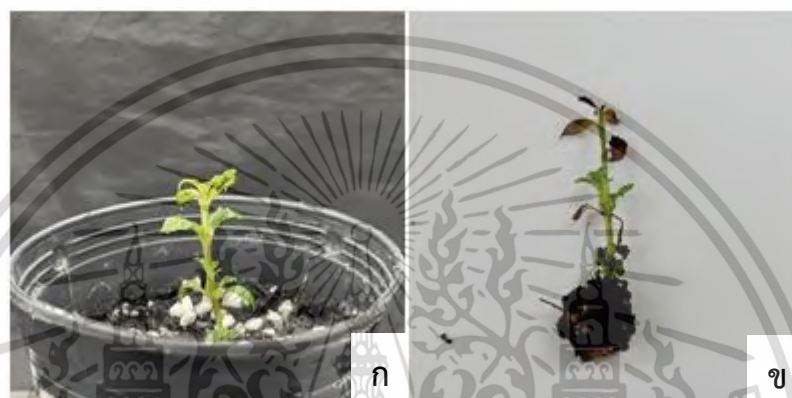
รูปที่ 4.30 ผลการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากที่ดีที่สุดของต้นสักสยามินทร์ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

4.6 การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดสมบูรณ์

จากการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดสมบูรณ์ของ ต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ โดยคัดเลือกยอดที่มีความสูงประมาณ 5 เซนติเมตร และนำมาทำการ ทดลองจุ่มลงในสารควบคุมการเจริญเติบโตเร่งราก โดยนำเนื้อเยื่อออกจากขูดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และนำส่วนโคนยอดจุ่มลงในสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 3 5 และ 7 มิลลิกรัม ต่อลิตร เป็นเวลา 10 นาที และนำไปออกปลูกในกระถางที่มีดินและเพอร์ไลต์ (อัตราส่วน 1:1) และ ทำการคลุมถุงพลาสติกที่เจาะรู จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องที่ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบเวลาทำการเปิด ถุงพลาสติกออกและเลี้ยงภายในห้องที่ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ รวมออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ต้น มเหสักข์มีการรอดชีวิตร้อยละ 100 ในทุกความเข้มข้น หลังออกปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยยอดมี ลักษณะลำต้นสูงขึ้นเล็กน้อยลำต้นและใบมีสีเขียว ช่วงกลางใบมีน้ำตาลเล็กน้อย (รูปที่ 4.31 ก) และ เมื่อทำการออกปลูกต่อ พบว่า ต้นมเหสักข์มีการรอดชีวิตร้อยละ 0 ในทุกความเข้มข้น ยกเว้นยอดที่ จุ่มลงในสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการรอดชีวิตร้อยละ 66.67 และพบการเกิดรากร้อยละ 33.33 หลังออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยยอดมีลักษณะลำต้น สูงขึ้นเล็กน้อยลำต้นและใบมีสีเขียวและน้ำตาล และมีการเกิดรากที่น้อย ลักษณะรากเป็นรากตรงไม่ แตกแขนง (รูปที่ 4.31 ข) และต้นสักสยามินทร์มีการรอดชีวิตร้อยละ 100 ในทุกความเข้มข้น หลังออก ปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยยอดมีลักษณะลำต้นสูงขึ้นเล็กน้อยลำต้นและใบมีสีเขียว (รูปที่ 4.32 ก) และเมื่อทำการออกปลูกต่อเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ต้นสักสยามินทร์มีการรอดชีวิตร้อยละ 0 ในทุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่ควรนำเอกสารนี้ไปใช้เพื่อการค้าหรือการเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้ง

ความเข้มข้น ยกเว้นยอดที่จุ่มลงในสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการรอดชีวิตร้อยละ 33.33 และพบการเกิดรากร้อยละ 33.33 หลังออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยยอดมีลักษณะลำต้นสูงขึ้นเล็กน้อยลำต้นมีสีเขียวและใบมีสีน้ำตาล และมีการเกิดรากที่น้อย ลักษณะรากเป็นรากตรงไม่แตกแขนง (รูปที่ 4.32 ข) จากผลการทดลองสังเกตเห็นได้ว่าพบร้อยละการรอดชีวิต และร้อยละการเกิดรากที่น้อย เนื่องจากความเข้มข้นที่ใช้ในการจุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ยังไม่เหมาะสมเท่าที่ควร จึงทำให้เกิดรากน้อยและมีความสามารถในการดูดซึมน้ำ และแร่ธาตุในดินได้น้อย ต้นพืชจึงมีการเจริญเติบโตที่น้อยและบางต้นไม่รอดชีวิตในที่สุด



รูปที่ 4.31 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นมะเขือขี้ โดยชักนำให้เกิดรากโดยการจุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตเร่งราก NAA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ออกปลูกแบบคลุมถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ (ข) ออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกออกครบ 8 สัปดาห์

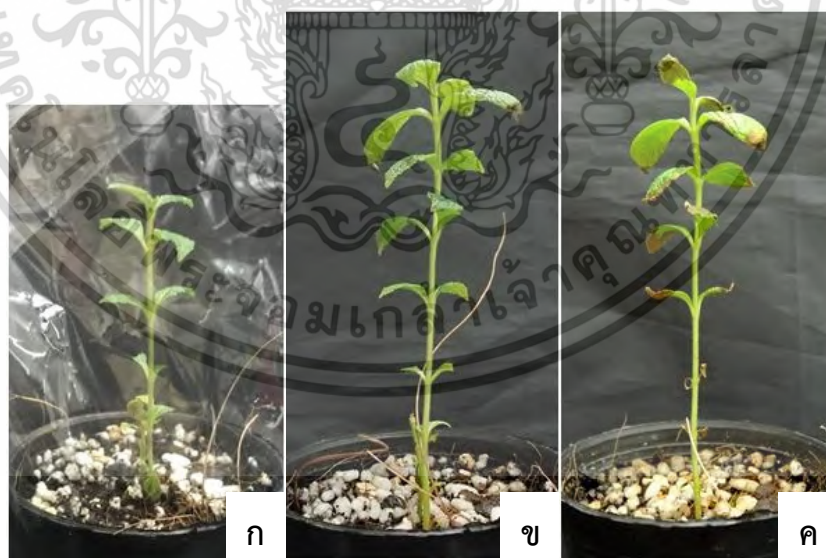


รูปที่ 4.32 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นสัถยาminster โดยชักนำให้เกิดรากโดยการจุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตเร่งราก NAA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ออกปลูกแบบคลุมถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ (ข) ออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกออกครบ 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 การนำต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ออกปลูก

จากการศึกษาการนำต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ออกปลูก โดยการคัดเลือกต้นพืชที่สมบูรณ์มีลำต้นและรากที่แข็งแรงออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาปลูกในกระถางที่มีดินและเพอร์ไลต์อัตราส่วน 1:1 ทำการปลูกทั้งหมดเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ใน 4 สัปดาห์แรกได้นำต้นมเหสักข์ และต้นสักสยามินทร์ที่ออกปลูกแบบคลุมถุงพลาสติกที่เจาะรูไปเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง โดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส พบการรอดชีวิตของต้นมเหสักข์ร้อยละ 100 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 1.77 เซนติเมตร ลำต้นยืดยาวขึ้น ลำต้นและใบมีสีเขียว (รูปที่ 4.33 ก) และพบการรอดชีวิตของต้นสักสยามินทร์ร้อยละ 100 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.26 เซนติเมตร ลำต้นตั้งตรง ลำต้นและใบมีสีเขียว (รูปที่ 4.34 ก) ต่อมาได้เปิดถุงพลาสติกออก และเลี้ยงต่อในห้องควบคุมอุณหภูมิและแสงต่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ รวมเป็น 8 สัปดาห์ พบว่า ต้นมเหสักข์ พบการรอดชีวิตร้อยละ 100 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.51 เซนติเมตร ส่วนข้อยืดยาวขึ้น ลำต้นและใบมีสีเขียว และใบมีขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 4.33 ข) และต้นสักสยามินทร์ พบการรอดชีวิตร้อยละ 100 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.12 เซนติเมตร ลำต้นและใบมีสีเขียว และใบมีขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 4.34 ข) และเมื่อออกปลูกครบ 8 สัปดาห์ จะย้ายต้นมเหสักข์และสักสยามินทร์ที่เปิดถุงพลาสติกออกแล้วมาเลี้ยงภายนอกห้องควบคุมอุณหภูมิและแสงต่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ รวมเป็น 12 สัปดาห์ พบว่า ต้นมเหสักข์ พบการรอดชีวิตร้อยละ 66.67 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.15 เซนติเมตร ลำต้นมีสีเขียว ใบมีสีเขียว ปลายใบมีสีน้ำตาล และใบมีลักษณะหงิกงอ (รูปที่ 4.33 ค) และต้นสักสยามินทร์ พบการรอดชีวิตร้อยละ 100 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.09 เซนติเมตร ลำต้นมีสีเขียว ใบมีสีเขียวและสีน้ำตาลในบางบริเวณ และใบมีขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 4.34 ค)



รูปที่ 4.33 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นกล้ามเหสักข์ (ก) เมื่อออกปลูกแบบคลุมถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง (ข) เมื่อออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง (ค) เมื่อออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายนอกห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.34 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นกล้าสัคสยามินทร์ (ก) เมื่อออกปลูกแบบคลุมถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง (ข) เมื่อออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง (ค) เมื่อออกปลูกแบบเปิดถุงพลาสติกครบ 4 สัปดาห์ ภายนอกห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง

4.8 การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสของต้นมเหสักข์ และ สัคสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) โดยใช้เทคนิค vitrification (vi) dehydration (de) encapsulation-vitrification (envi) และ encapsulation-dehydration (ende)

จากการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสของต้นมเหสักข์ และ สัคสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็ง โดยใช้เทคนิค vitrification (vi) dehydration (de) encapsulation-vitrification (envi) และ encapsulation-dehydration (ende) ก่อนนำชิ้นส่วนพืชไปทำการทดลองต้องนำชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสมาเพาะเลี้ยงแบบปรับสภาพตามลำดับก่อน โดยจะปรับสภาพเนื้อเยื่อในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้นสูง 2 ระดับ ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 2 วันต่อความเข้มข้น โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารปรับสภาพที่ประกอบด้วยอาหารแข็งสูตร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ร่วมกับน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.5 และ 0.75 โมลาร์ ที่เติมผงวุ้นเจลแลนกัน ความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงในที่มืด 24 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงสูตรละ 2 วัน ในการเพาะเลี้ยงแบบปรับสภาพทำเพื่อลดปริมาณน้ำภายในเซลล์พืชและป้องกันความเสียหายก่อนการนำไปตั้งน้ำออกจากเซลล์พืชและการแช่ในสภาพเยือกแข็ง โดย Wu. *et al.* (2003) ได้กล่าวว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมในการปรับสภาพพืชอยู่ที่ประมาณ 0.1-1 โมลาร์ เวลาประมาณ 1-5 วัน โดยขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ถ้าใช้น้ำตาลความเข้มข้นสูงเกินไปจะเป็นพิษต่อเซลล์พืช เมื่อทำการปรับสภาพเนื้อเยื่อจนครบเวลาแล้วนำเนื้อเยื่อปลายยอดและแคลลัสมาตั้งน้ำออกจากเซลล์พืชด้วยวิธี vi envi de และ ende โดยวิธี envi และ ende จะนำปลายยอดและแคลลัส มาห่อหุ้มด้วยสารโซเดียมแอลจีเนต ได้เป็นเม็ดปัดส์ที่มีเนื้อเยื่อพืชอยู่ด้านในก่อนนำมาตั้งน้ำออกจากเซลล์พืช และทำการบันทึกร้อยละการรอดชีวิต และร้อยละการเจริญเติบโตของพืช โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของพืช หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ถ้าปลายยอดและแคลลัสมีสีเขียวแสดงว่าพืชมีการรอดชีวิต แต่ถ้าปลายยอดมีสีเขียวยาว และยอดมีความยาวเพิ่มขึ้น หรือแคลลัสมีสีเขียว และมีขนาดใหญ่ขึ้น แสดงว่าพืชมีการเจริญเติบโต ในการทดลองวิธี vi และ envi จะนำปลายยอดและแคลลัสมาแช่สาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารของศูนย์วิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

LS เป็นเวลา 0 20 40 และ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส และเมื่อครบเวลานำมาแช่สาร PVS2 ต่อเป็นเวลา 0 และ 10 นาที ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส พบว่าวิธี vi ขึ้นส่วนปลายยอดของต้นมเหสักข์ (ตารางที่ 4.13) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของปลายยอดมีลำต้นที่ยืดยาว ลำต้นและใบเป็นสีเขียว (รูปที่ 4.35 ก) แต่ในชิ้นส่วนปลายยอดที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของปลายยอดไม่มีการเจริญเติบโต และมีสีน้ำตาลดำ (รูปที่ 4.35 ข) และพบว่าวิธี vi ขึ้นส่วนปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ (ตารางที่ 4.14) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของปลายยอดมีการแตกยอดใหม่ ลำต้นและใบเป็นสีเขียว (รูปที่ 4.35 ค) ยกเว้นสูตรที่แช่สาร LS เป็นเวลา 60 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 10 นาที ที่ไม่พบการรอดชีวิต และในชิ้นส่วนปลายยอดที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของปลายยอดไม่มีการเจริญเติบโต และมีสีน้ำตาลดำ (รูปที่ 4.35 ง) และพบว่าวิธี vi แคลลัสของต้นมเหสักข์ (ตารางที่ 4.15) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของแคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีสีเขียว (รูปที่ 4.36 ก) และแคลลัสที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) พบการรอดชีวิตร้อยละ 20 และพบการเจริญเติบโตร้อยละ 20 เมื่อแช่สาร LS เป็นเวลา 20 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 10 นาที และเมื่อแช่สาร LS เป็นเวลา 40 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 10 นาที เป็นระยะเวลาในการแช่สารที่เหมาะสมที่สุด โดยพบการรอดชีวิตร้อยละ 40 และพบการเจริญเติบโตร้อยละ 40 โดยลักษณะของแคลลัสพบการเจริญเติบโตเป็นแคลลัสสีขาวออกมาจากแคลลัสสีน้ำตาล (รูปที่ 4.36 ข) และพบว่าวิธี vi แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ (ตารางที่ 4.16) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของแคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีสีเขียว (รูปที่ 4.36 ค) แต่ในแคลลัสที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลดำ (รูปที่ 4.36 ง) และพบว่าวิธี envi ปลายยอดของต้นมเหสักข์ (ตารางที่ 4.17) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของปลายยอดมีการแตกยอดออกมาจากเมดปิตส์ ลำต้นและใบมีสีเขียว (รูปที่ 4.37 ก) แต่ในชิ้นส่วนปลายยอดที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยปลายยอดมีลักษณะสีน้ำตาลอยู่ภายในเมดปิตส์ (รูปที่ 4.37 ข) และพบว่าวิธี envi ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ (ตารางที่ 4.18) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของปลายยอดมีการแตกยอดออกมาจากเมดปิตส์ ลำต้นและใบมีสีเขียว (รูปที่ 4.37 ค) แต่ในชิ้นส่วนปลายยอดที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยปลายยอดมีลักษณะสีน้ำตาลอยู่ภายในเมดปิตส์ (รูปที่ 4.37 ง) และพบว่าวิธี envi แคลลัสของต้นมเหสักข์ (ตารางที่ 4.19) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของแคลลัสมีการเจริญเติบโตออกมาจากเมดปิตส์และมีสีเขียว (รูปที่ 4.38 ก) แต่ในแคลลัสที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลดำอยู่ภายในเมดปิตส์ (รูปที่ 4.38 ข) และพบว่าวิธี envi แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ (ตารางที่ 4.20) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของแคลลัสมีการเจริญเติบโตออกมาจากเมดปิตส์และมีสีเขียว (รูปที่ 4.38 ค) ยกเว้นสูตรที่แช่สาร LS เป็นเวลา 40 และ 60 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 10 นาที ที่ไม่พบการรอดชีวิต และในแคลลัสที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลดำอยู่ภายในเมดปิตส์ (รูปที่ 4.38 ง) ซึ่งสอดคล้องกับ Chen. *et al.* (2011) ที่ได้กล่าวว่า เวลาที่เหมาะสมในการแช่สาร PVS2 ของพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมาก และการแช่สาร PVS2 เป็นเวลานานทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พีช และ Pennycooke and Towill (2000) พบว่า การแพร่สาร PVS2 เป็นเวลา 16 นาที หลังจากการแพร่สาร LS เป็นเวลา 60 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการเก็บรักษาปลายยอดของต้นมันเทศในสภาพเยือกแข็ง

ในวิธี de และ ende จะนำปลายยอดและแคลลัสมาดึ่งน้ำออกจากเซลล์พีชโดยการวางตากไว้ในตู้ปลอดเชื้อ หรือใช้สารดูดความชื้น เป็นเวลา 0 2 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่าวิธี de ปลายยอดของต้นมเหสักข์ (ตารางที่ 4.21) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยปลายยอดมีลักษณะลำต้นและใบมีสีเขียว (รูปที่ 4.39 ก) แต่ในชิ้นส่วนปลายยอดที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยปลายยอดมีลักษณะเหี่ยวแห้งและมีสีน้ำตาลดำ (รูปที่ 4.39 ข) และพบว่าวิธี de ปลายยอดของต้นสักระยาสูบ (ตารางที่ 4.22) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยปลายยอดมีลักษณะลำต้นและใบมีสีเขียว (รูปที่ 4.39 ค) ยกเว้นสูตรที่ดึ่งน้ำออกโดยการวางตากในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่ไม่พบการรอดชีวิต แต่ในชิ้นส่วนปลายยอดที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยปลายยอดมีลักษณะเหี่ยวแห้งและมีสีน้ำตาลดำ (รูปที่ 4.39 ง) และพบว่าวิธี de แคลลัสของต้นมเหสักข์ (ตารางที่ 4.23) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของแคลลัสมีสีเขียวและสีน้ำตาลในบางบริเวณ (รูปที่ 4.40 ก) ยกเว้นสูตรที่ดึ่งน้ำออกโดยการวางตากในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่ไม่พบการรอดชีวิต แต่ในแคลลัสที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยแคลลัสมีลักษณะเหี่ยวแห้งและมีสีน้ำตาลดำ (รูปที่ 4.40 ข) และพบว่าวิธี de แคลลัสของต้นสักระยาสูบ (ตารางที่ 4.24) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของแคลลัสมีสีเขียวและสีน้ำตาลในบางบริเวณ (รูปที่ 4.40 ค) ยกเว้นสูตรที่ดึ่งน้ำออกโดยการวางตากในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่ไม่พบการรอดชีวิต แต่ในแคลลัสที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยแคลลัสมีลักษณะเหี่ยวแห้งและมีสีน้ำตาลดำ (รูปที่ 4.40 ง) และพบว่าวิธี ende ปลายยอดของต้นมเหสักข์ (ตารางที่ 4.25) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของปลายยอดมีการแตกยอดออกมาจากเมดปิตส์ ลำต้นและใบมีสีเขียว (รูปที่ 4.41 ก) แต่ในชิ้นส่วนปลายยอดที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของปลายยอดมีสีน้ำตาลดำอยู่ภายในเมดปิตส์ (รูปที่ 4.41 ข) และพบว่าวิธี ende ปลายยอดของต้นสักระยาสูบ (ตารางที่ 4.26) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของปลายยอดมีการแตกยอดออกมาจากเมดปิตส์ ลำต้นและใบมีสีเขียว และใบมีขนาดเล็ก (รูปที่ 4.41 ค) แต่ในชิ้นส่วนปลายยอดที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยลักษณะของปลายยอดมีสีน้ำตาลดำอยู่ภายในเมดปิตส์ (รูปที่ 4.41 ง) และพบว่าวิธี ende แคลลัสของต้นมเหสักข์ (ตารางที่ 4.27) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นสีเหลืองน้ำตาลแตกออกมาจากเมดปิตส์ (รูปที่ 4.42 ก) แต่ในแคลลัสที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลดำอยู่ภายในเมดปิตส์ (รูปที่ 4.42 ข) และพบว่าวิธี ende แคลลัสของต้นสักระยาสูบ (ตารางที่ 4.28) ที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN-) รอดชีวิตในทุกสูตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นสีเหลืองน้ำตาลแตกออกมาจากเมดปิตส์ (รูปที่ 4.42 ค) ยกเว้นสูตรที่ดึ่งน้ำออกโดยการวางตากในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่ไม่พบการรอดชีวิต แต่ในแคลลัสที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลว (LN+) ไม่พบการรอดชีวิตในทุกสูตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลดำอยู่ภายในเมดปิตส์ (รูปที่ 4.42 ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็ง โดยใช้เทคนิค vi บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

LS (นาที)	PVS2 (นาที)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	80	80	0	0
0	10	100	80	0	0
20	0	80	40	0	0
20	10	40	40	0	0
40	0	80	60	0	0
40	10	40	20	0	0
60	0	40	20	0	0
60	10	20	0	0	0

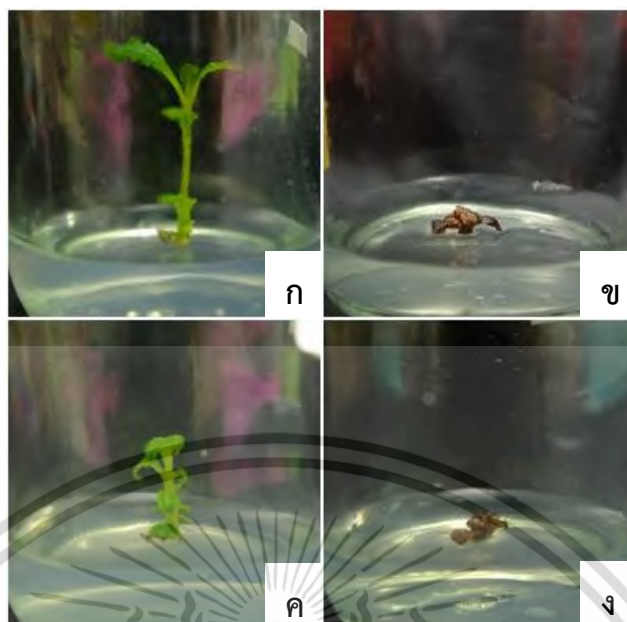
หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร

ตารางที่ 4.14 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค vi บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

LS (นาที)	PVS2 (นาที)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	100	0	0
0	10	80	80	0	0
20	0	60	60	0	0
20	10	40	40	0	0
40	0	40	40	0	0
40	10	40	20	0	0
60	0	20	20	0	0
60	10	0	0	0	0

หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.35 ลักษณะชิ้นส่วนปลายยอดเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค vi ผ่านการแช่สาร LS เป็นเวลา 0 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 0 นาที หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN- (ข) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN+

ตารางที่ 4.15 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค vi บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

LS (นาที)	PVS2 (นาที)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	100	0	0
0	10	100	100	0	0
20	0	100	80	0	0
20	10	80	80	20	20
40	0	100	60	0	0
40	10	60	60	40	40
60	0	60	40	0	0
60	10	60	40	0	0

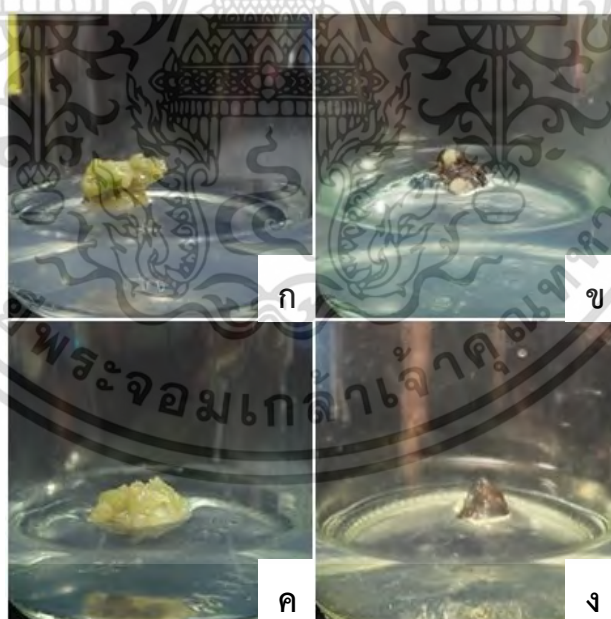
หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นสักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค vi บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

LS (นาทิจ)	PVS2 (นาทิจ)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	100	0	0
0	10	100	100	0	0
20	0	80	60	0	0
20	10	60	60	0	0
40	0	60	60	0	0
40	10	60	60	0	0
60	0	60	40	0	0
60	10	40	40	0	0

หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร



รูปที่ 4.36 ลักษณะแคลลัสเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค vi ผ่านการแช่สาร LS เป็นเวลา 40 นาทิจ และสาร PVS2 เป็นเวลา 10 นาทิจ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) แคลลัสของต้นมหะสัก LN- (ข) แคลลัสของต้นมหะสัก LN+ (ค) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นหม่หลักในสภาพเยือกแข็ง โดยใช้เทคนิค envi บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

LS (นาที)	PVS2 (นาที)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	100	0	0
0	10	100	80	0	0
20	0	80	80	0	0
20	10	60	40	0	0
40	0	60	60	0	0
40	10	40	20	0	0
60	0	20	0	0	0
60	10	20	0	0	0

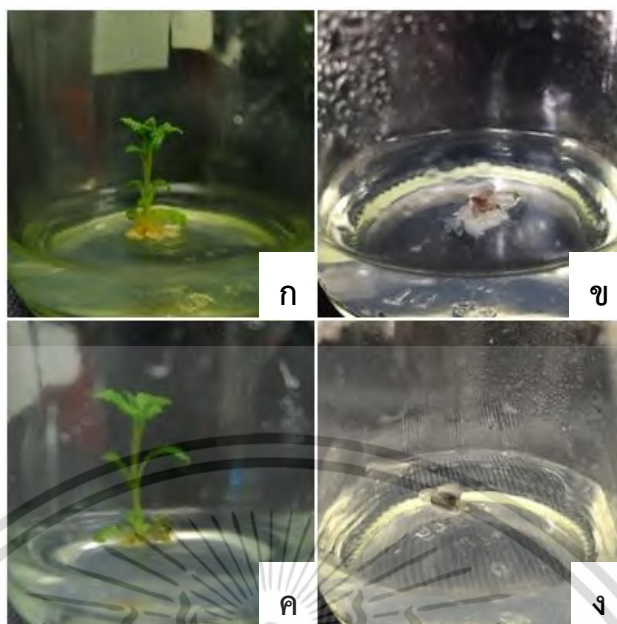
หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร

ตารางที่ 4.18 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นสักราณิธรในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

LS (นาที)	PVS2 (นาที)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	80	0	0
0	10	80	80	0	0
20	0	80	40	0	0
20	10	60	60	0	0
40	0	60	60	0	0
40	10	40	40	0	0
60	0	20	20	0	0
60	10	20	20	0	0

หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.37 ลักษณะปลายยอดเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi ผ่านการแช่สาร LS เป็นเวลา 0 นาที และสาร PVS2 เป็นเวลา 0 นาที หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN- (ข) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) ปลายยอดของต้นสัคสยามินทร์ LN- (ง) ปลายยอดของต้นสัคสยามินทร์ LN+

ตารางที่ 4.19 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

LS (นาที)	PVS2 (นาที)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	80	60	0	0
0	10	60	60	0	0
20	0	60	40	0	0
20	10	20	20	0	0
40	0	40	40	0	0
40	10	20	20	0	0
60	0	20	20	0	0
60	10	20	0	0	0

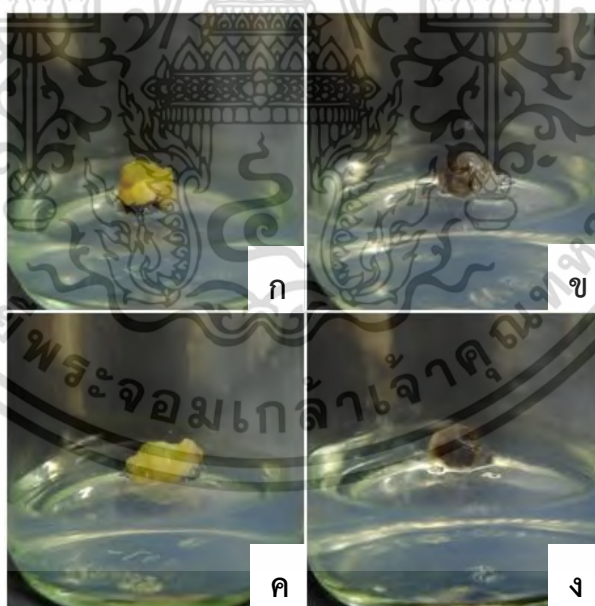
หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ขึ้นต่อสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.20 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นสักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

LS (นาทีก)	PVS2 (นาทีก)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	60	60	0	0
0	10	60	40	0	0
20	0	40	40	0	0
20	10	20	20	0	0
40	0	40	20	0	0
40	10	0	0	0	0
60	0	20	0	0	0
60	10	0	0	0	0

หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร



รูปที่ 4.38 ลักษณะแคลลัสเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค envi ผ่านการแช่สาร LS เป็นเวลา 0 นาทีก และสาร PVS2 เป็นเวลา 0 นาทีก หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN- (ข) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.21 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็ง โดยใช้เทคนิค de บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

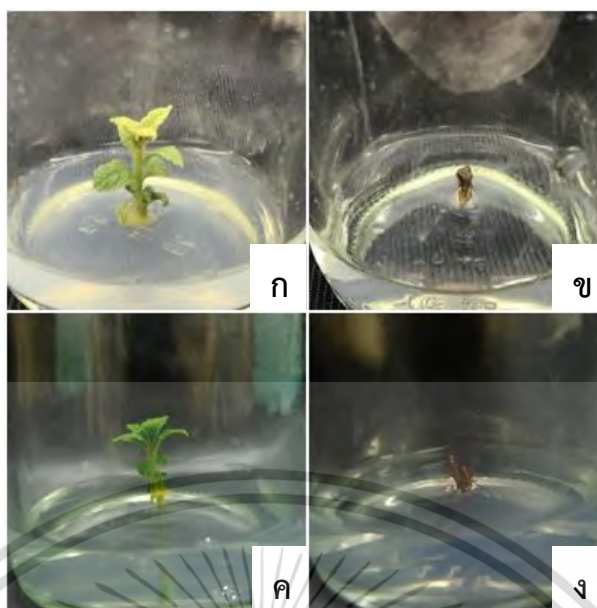
silica gel (ชั่วโมง)	air dry (ชั่วโมง)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	100	0	0
2	0	80	80	0	0
4	0	60	40	0	0
6	0	20	20	0	0
0	2	60	20	0	0
0	4	20	20	0	0
0	6	20	0	0	0

หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร

ตารางที่ 4.22 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

silica gel (ชั่วโมง)	air dry (ชั่วโมง)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	100	0	0
2	0	80	20	0	0
4	0	60	0	0	0
6	0	20	0	0	0
0	2	60	20	0	0
0	4	60	0	0	0
0	6	0	0	0	0

หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร



รูปที่ 4.39 ลักษณะชิ้นส่วนปลายยอดเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de เป็นเวลา 0 ชั่วโมง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN- (ข) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN+

ตารางที่ 4.23 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

silica gel (ชั่วโมง)	air dry (ชั่วโมง)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	100	0	0
2	0	100	80	0	0
4	0	60	40	0	0
6	0	40	20	0	0
0	2	80	60	0	0
0	4	40	20	0	0
0	6	0	0	0	0

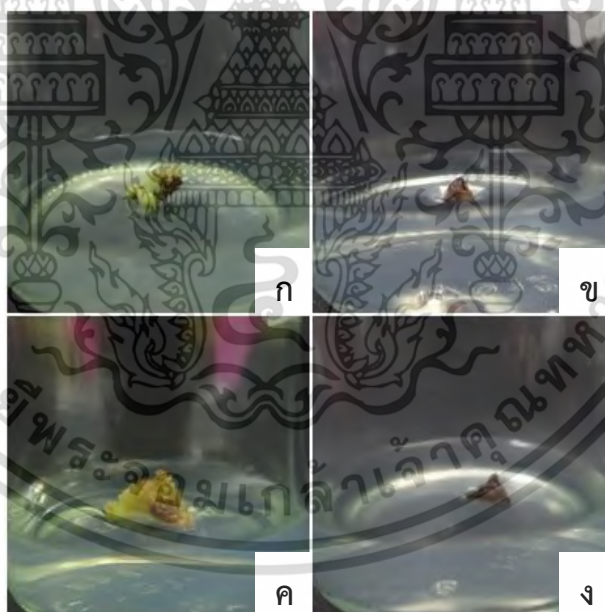
หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.24 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นสักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

silica gel (ชั่วโมง)	air dry (ชั่วโมง)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	100	0	0
2	0	80	80	0	0
4	0	40	20	0	0
6	0	20	20	0	0
0	2	40	40	0	0
0	4	20	0	0	0
0	6	0	0	0	0

หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร



รูปที่ 4.40 ลักษณะแคลลัสเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค de เป็นเวลา 0 ชั่วโมง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN- (ข) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN+

ตารางที่ 4.25 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็ง โดยใช้เทคนิค ende บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

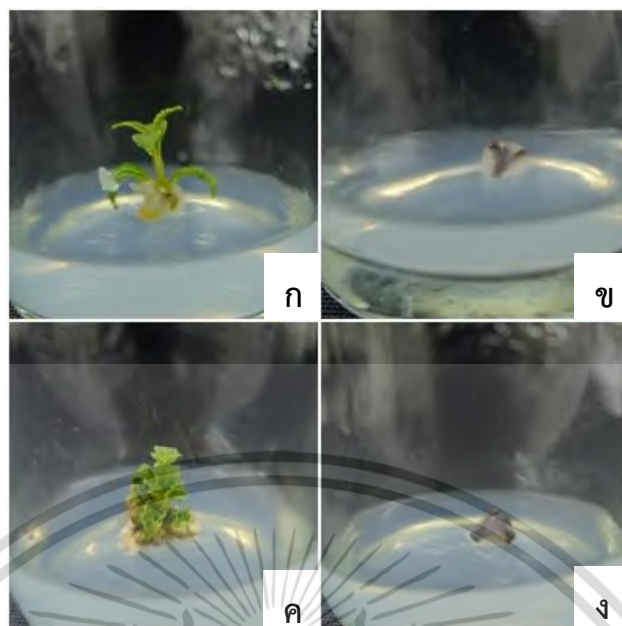
silica gel (ชั่วโมง)	air dry (ชั่วโมง)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	100	0	0
2	0	80	80	0	0
4	0	60	60	0	0
6	0	20	20	0	0
0	2	80	60	0	0
0	4	40	40	0	0
0	6	40	20	0	0

หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร

ตารางที่ 4.26 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

silica gel (ชั่วโมง)	air dry (ชั่วโมง)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	100	80	0	0
2	0	80	60	0	0
4	0	60	0	0	0
6	0	20	20	0	0
0	2	40	20	0	0
0	4	40	0	0	0
0	6	20	0	0	0

หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร



รูปที่ 4.41 ลักษณะชิ้นส่วนปลายยอดเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende เป็นเวลา 0 ชั่วโมง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN- (ข) ปลายยอดของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) ปลายยอดของต้นสักสยามินทร์ LN+

ตารางที่ 4.27 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นมเหสักข์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

silica gel (ชั่วโมง)	air dry (ชั่วโมง)	LN-		LN+	
		ร้อยละการ รอดชีวิต	ร้อยละการ เจริญเติบโต	ร้อยละการ รอดชีวิต	ร้อยละการ เจริญเติบโต
0	0	80	80	0	0
2	0	80	60	0	0
4	0	60	0	0	0
6	0	40	20	0	0
0	2	60	60	0	0
0	4	40	40	0	0
0	6	20	0	0	0

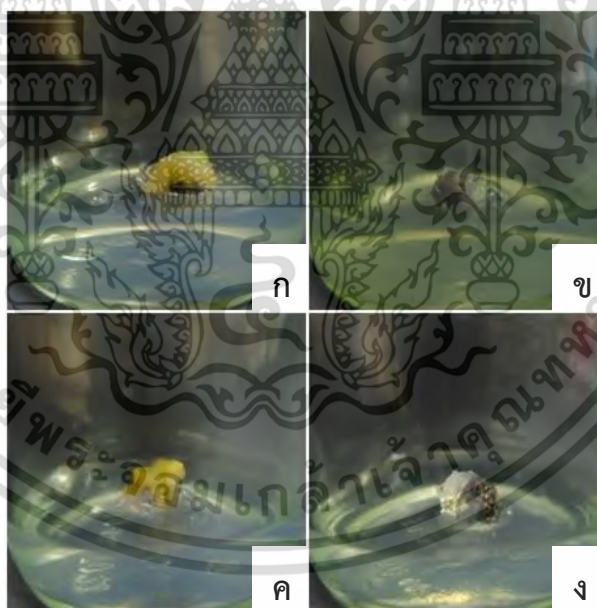
หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.28 ผลการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาแคลลัสของต้นสักสยามินทร์ในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

silica gel (ชั่วโมง)	air dry (ชั่วโมง)	LN-		LN+	
		ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเจริญเติบโต
0	0	80	60	0	0
2	0	80	60	0	0
4	0	20	20	0	0
6	0	20	20	0	0
0	2	60	40	0	0
0	4	20	0	0	0
0	6	0	0	0	0

หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างพืชในการทดลอง 5 ชิ้นต่อสูตร



รูปที่ 4.42 ลักษณะแคลลัสเมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยใช้เทคนิค ende เป็นเวลา 0 ชั่วโมง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN- (ข) แคลลัสของต้นมเหสักข์ LN+ (ค) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN- (ง) แคลลัสของต้นสักสยามินทร์ LN+

4.9 การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อและแคลลัสของต้นมเหสักข์ และ สักสยามินทร์ โดยการชะลอการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (slow growth)

จากการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อและแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโตของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ โดยนำชิ้นส่วนข้อและแคลลัสมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และเติมกรดแอบไซซิก ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์ และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากผลการทดลอง พบว่า ชิ้นส่วนข้อของต้นมเหสักข์มีความยาวยอดเฉลี่ยที่แตกต่างกัน โดยชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์ และอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะไม่พบการเกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนข้อ โดยข้อมีลักษณะแข็งแรงและมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.44 ก) และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อพบว่า ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์ และอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ไม่พบการเกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนข้อเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ แต่ชิ้นส่วนข้อตาย และมีสีน้ำตาล ดังนั้น ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จึงสามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะมีความยาวยอดเฉลี่ยที่น้อยกว่าสูตรอาหารอื่น คือ 0.25 เซนติเมตร และชิ้นส่วนข้อยังมีลักษณะแข็งแรงและมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (รูปที่ 4.44 ข) และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อพบว่า ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จึงสามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะมีความยาวยอดเฉลี่ยที่น้อยกว่าสูตรอาหารอื่น คือ 0.29 เซนติเมตร และชิ้นส่วนข้อยังมีลักษณะแข็งแรงและมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (รูปที่ 4.44 ค) (ตารางที่ 4.29) และแคลลัสของต้นมเหสักข์มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยที่แตกต่างกัน โดยแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยที่น้อยที่สุด คือ 0.15 ลูกบาศก์เซนติเมตร รองลงมาคือแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ มีขนาดแคลลัสเฉลี่ย คือ 0.17 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นเกาะเป็นก้อนมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.46 ก) และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อพบว่า แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยที่น้อยที่สุด คือ 0.16 ลูกบาศก์เซนติเมตร รองลงมาคือแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ มีขนาดแคลลัสเฉลี่ย คือ 0.17 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นเกาะเป็นก้อนมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (รูปที่ 4.46 ข) และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อพบว่า แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยที่น้อยที่สุด คือ 0.16 ลูกบาศก์เซนติเมตร แต่แคลลัสตายมีลักษณะเป็นก้อนสีน้ำตาลดำ ดังนั้นแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ จึงสามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยที่น้อยที่สุด คือ 0.17 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยแคลลัสมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะเป็นเกาะเป็นก้อนมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (รูปที่ 4.46 ค) (ตารางที่ 4.30)

และในการศึกษาชิ้นส่วนของต้นสัคสยามินทร์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อมีความยาวยอดเยี่ยมที่แตกต่างกัน โดยชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมกรดแอสซิก ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะไม่พบการเกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนข้อ รองลงมาคือ ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ มีความยาวยอดเยี่ยมคือ 0.10 เซนติเมตร โดยข้อมีลักษณะแข็งแรงและมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.48 ก) และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อพบว่า ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมกรดแอสซิก ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบการเกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนข้อ เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ แต่ชิ้นส่วนข้อตาย และมีสีน้ำตาล ดังนั้นชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมกรดแอสซิก ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ จึงสามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะมีความยาวยอดเยี่ยมที่น้อยกว่าสูตรอาหารอื่น คือ 0.24 เซนติเมตร และชิ้นส่วนข้อยังมีลักษณะแข็งแรงและมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (รูปที่ 4.48 ข) และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อพบว่า ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมกรดแอสซิก ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเยี่ยมที่น้อยกว่าสูตรอาหารอื่น แต่ชิ้นส่วนข้อตาย และมีสีน้ำตาล ดังนั้นชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ จึงสามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะมีความยาวยอดเยี่ยมที่น้อยกว่าสูตรอาหารอื่น คือ 0.28 เซนติเมตร และชิ้นส่วนข้อยังมีลักษณะแข็งแรงและมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (รูปที่ 4.48 ค) (ตารางที่ 4.31) และพบว่า แคลลัสของต้นสัคสยามินทร์ มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยที่แตกต่างกัน โดยแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยที่น้อยที่สุด คือ 0.19 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นเกาะเป็นก้อนมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (รูปที่ 4.50 ก) และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อพบว่า แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยที่น้อยที่สุด คือ 0.24 ลูกบาศก์เซนติเมตร รองลงมาคือแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ มีขนาดแคลลัสเฉลี่ย คือ 0.26 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นเกาะเป็นก้อนมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (รูปที่ 4.50 ข) และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อพบว่า แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด เพราะมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยที่น้อยที่สุด คือ 0.26 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นเกาะเป็นก้อนมีสีเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (รูปที่ 4.50 ค) (ตารางที่ 4.32) ซึ่งสอดคล้องกับ Moges. *et al.* (2003) ที่ได้ศึกษาการเก็บรักษาพืชโดยการชะลอการเจริญเติบโตของยอดต้นแอฟริกันไวโอเล็ต พบว่า ยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และเติมน้ำตาลแมนนิทอล และ ซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.16 โมลาร์ สามารถลดเจริญเติบโตของยอด และรักษาสภาพของชิ้นส่วนพืชไว้ได้อย่างดี หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เนื่องจากการได้มีการทำการทดลองเพาะเลี้ยงต่อเนื่องกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา 16 สัปดาห์ ขึ้นส่วนข้อและแคล์สกลายเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด จึงได้แสดงผลการทดลอง หลังจากการเพาะเลี้ยงเพียง 12 สัปดาห์ เท่านั้น

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงครบ 12 สัปดาห์ ทำการย้ายขึ้นส่วนข้อหรือแคล์สไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อดู การเจริญเติบโตของพืชหลังจากผ่านการชะลอการเจริญเติบโต โดยขึ้นส่วนข้อนำไปเพาะเลี้ยงใน อาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และแคล์สนำไป เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ขึ้นส่วนข้อของต้นมเหสักข์ที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดี ที่สุด คือขึ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โม ลาร์ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงต่อสามารถเจริญเติบโตต่อได้โดยยอมีความยาวเพิ่มขึ้นหลังจากนำไป เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.44 ง) และแคล์สของต้นมเหสักข์ที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด คือแคล์สที่ เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เมื่อนำมา เพาะเลี้ยงต่อสามารถเจริญเติบโตต่อได้โดยแคล์สมิขนาดใหญ่อขึ้นหลังจากนำไปเพาะเลี้ยงในอาหาร แข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.46 ง) และขึ้นส่วนข้อของ ต้นสักสยามินทร์ที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด คือขึ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงต่อสามารถ เจริญเติบโตต่อได้โดยมีการแตกยอดใหม่และยอมีความยาวเพิ่มมากขึ้นหลังจากนำไปเพาะเลี้ยงใน อาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.48 ง) และ แคล์สของต้นสักสยามินทร์ที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด คือแคล์สที่เพาะเลี้ยงบน อาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงต่อ สามารถเจริญเติบโตต่อได้โดยแคล์สมิขนาดใหญ่อขึ้นหลังจากนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.50 ง)

ตารางที่ 4.29 ผลความยาวยอดของต้นมะลักษ์ เมื่อทำการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์

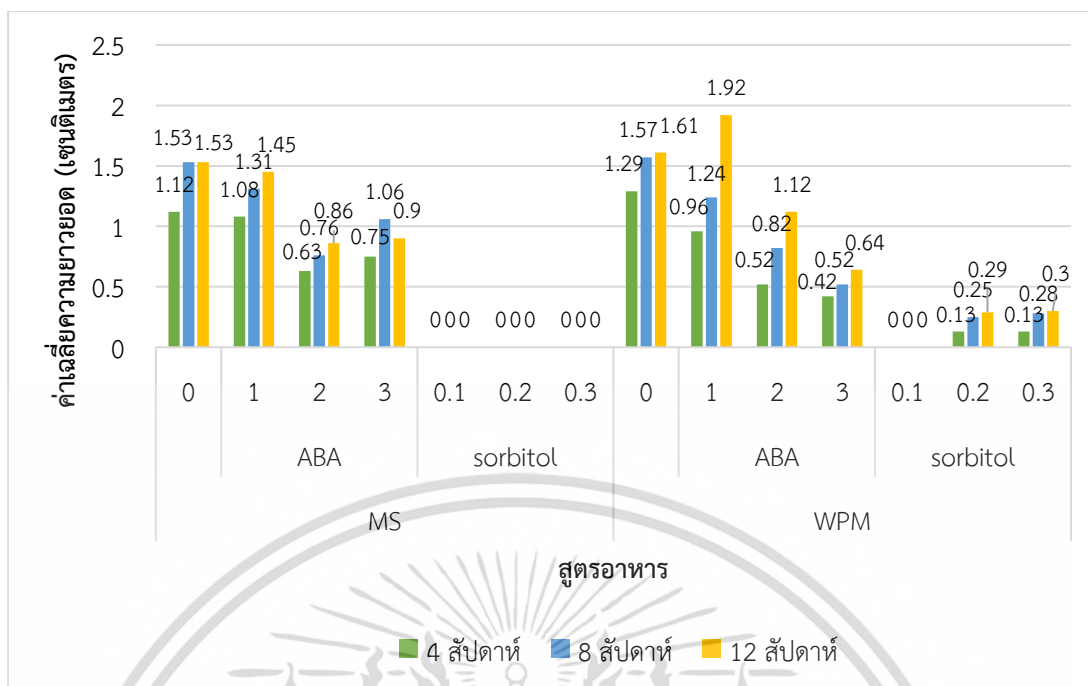
สูตรอาหาร	ความยาวยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (เซนติเมตร)		
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	12 สัปดาห์
MS + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	1.12 ^{ab} ± 0.48	1.53 ^a ± 0.68	1.53 ^{ab} ± 0.76
MS + ABA 1 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	1.08 ^{ab} ± 0.67	1.31 ^{ab} ± 0.64	1.45 ^{abc} ± 0.61
MS + ABA 2 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.63 ^{bcd} ± 0.14	0.76 ^{bcd} ± 0.22	0.86 ^{bcd} ± 0.28
MS + ABA 3 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.75 ^{bcd} ± 0.49	1.06 ^{abc} ± 0.74	0.90 ^{bcd} ± 0.74
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.1 โมลาร์	0.00 ^e ± 0.00	0.00 ^e ± 0.00	0.00 ^e ± 0.00
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์	0.00 ^e ± 0.00	0.00 ^e ± 0.00	0.00 ^e ± 0.00
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.3 โมลาร์	0.00 ^e ± 0.00	0.00 ^e ± 0.00	0.00 ^e ± 0.00
WPM + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	1.29 ^a ± 0.21	1.57 ^a ± 0.18	1.61 ^{ab} ± 0.99
WPM + ABA 1 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.96 ^{abc} ± 0.18	1.24 ^{ab} ± 0.15	1.92 ^a ± 1.76
WPM + ABA 2 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.52 ^{cde} ± 0.13	0.82 ^{bcd} ± 0.31	1.12 ^{abcd} ± 0.77
WPM + ABA 3 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.42 ^{de} ± 0.12	0.52 ^{cde} ± 0.09	0.64 ^{cde} ± 0.13
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.1 โมลาร์	0.00 ^e ± 0.00	0.00 ^e ± 0.00	0.00 ^e ± 0.00
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์	0.13 ^e ± 0.12	0.25 ^{de} ± 0.12	0.29 ^{de} ± 0.26
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.3 โมลาร์	0.13 ^e ± 0.17	0.28 ^{de} ± 0.25	0.30 ^{de} ± 0.27

หมายเหตุ ¹/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ชิ้น

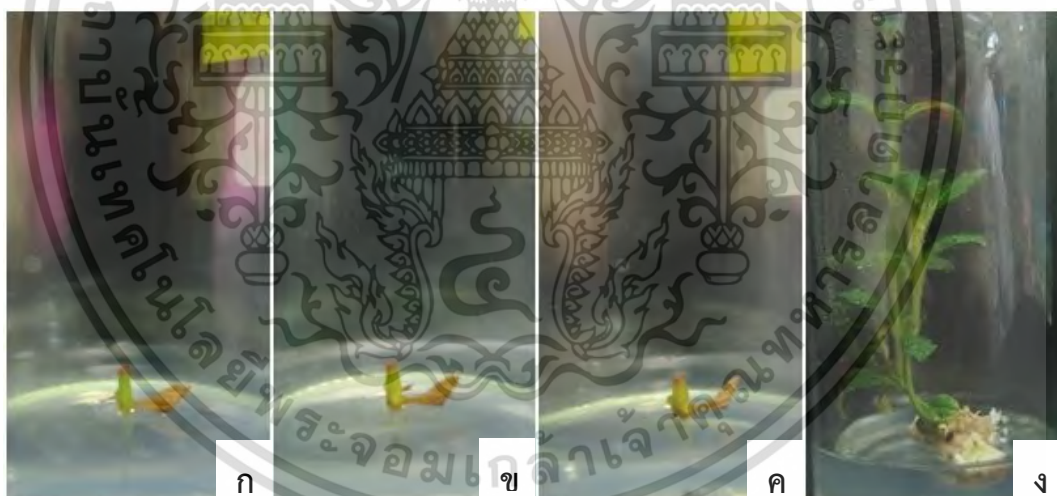
²/ ค่าความยาวเฉลี่ยที่แสดงในตาราง เป็นค่าที่วัดจากยอดที่เกิดขึ้นใหม่จากชิ้นส่วนข้อเท่านั้น

³/ ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

⁴/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's



รูปที่ 4.43 ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นมเหสักข์ บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงที่ 4 8 และ 12 สัปดาห์



รูปที่ 4.44 ลักษณะความยาวยอดของต้นมเหสักข์ เมื่อทำการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ค) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ง) หลังจากย้ายชิ้นส่วนข้อมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการเจริญเติบโตใหม่ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

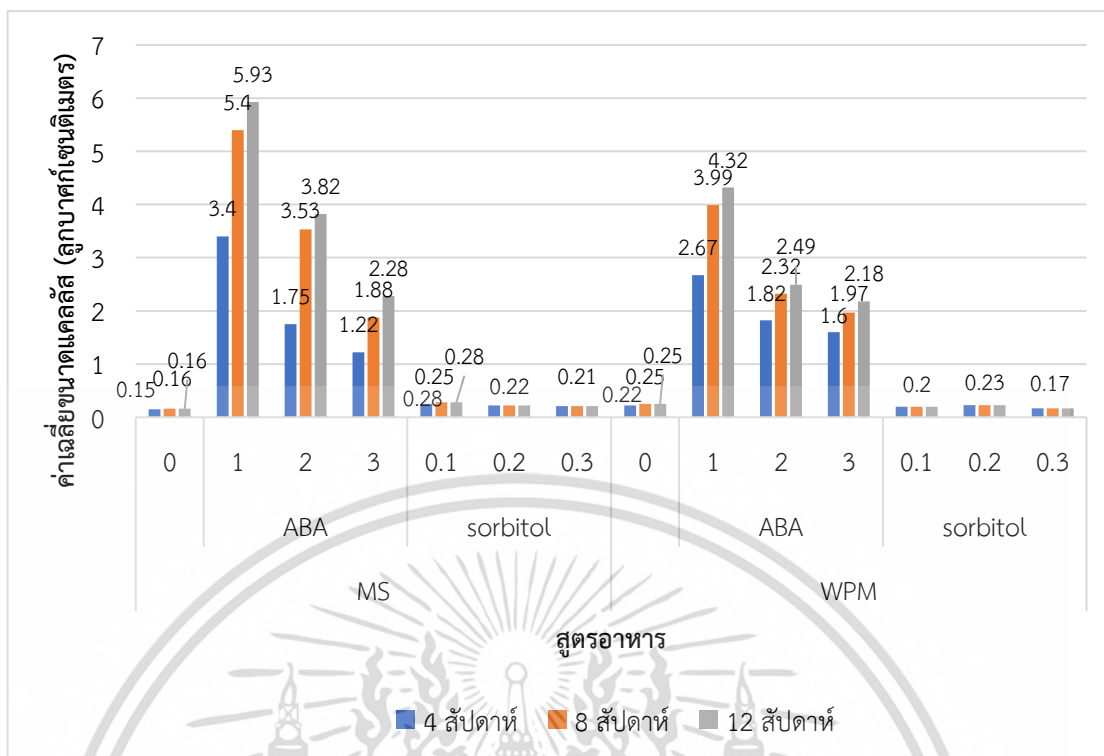
ตารางที่ 4.30 ผลขนาดแคลลัสของต้นมเหสักข์ เมื่อทำการเก็บรักษาแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ขนาดแคลลัสเฉลี่ย ¹²³ (ลูกบาศก์เซนติเมตร)		
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	12 สัปดาห์
MS + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.15 ^e ± 0.22	0.16 ^e ± 0.02	0.16 ^d ± 0.02
MS + ABA 1 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	3.40 ^a ± 1.36	5.40 ^a ± 1.67	5.93 ^a ± 1.56
MS + ABA 2 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	1.75 ^{bc} ± 1.10	3.53 ^{bc} ± 0.95	3.82 ^{bc} ± 1.03
MS + ABA 3 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	1.22 ^{cde} ± 1.03	1.88 ^{cd} ± 1.48	2.28 ^c ± 1.86
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.1 โมลาร์	0.25 ^{de} ± 0.02	0.28 ^e ± 0.02	0.28 ^d ± 0.02
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์	0.22 ^{de} ± 0.04	0.22 ^e ± 0.04	0.22 ^d ± 0.04
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.3 โมลาร์	0.21 ^{de} ± 0.02	0.21 ^e ± 0.02	0.21 ^d ± 0.02
WPM + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.22 ^{de} ± 0.01	0.25 ^e ± 0.06	0.25 ^d ± 0.06
WPM + ABA 1 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	2.67 ^{ab} ± 0.54	3.99 ^{ab} ± 0.78	4.32 ^b ± 0.75
WPM + ABA 2 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	1.82 ^{bc} ± 1.30	2.32 ^c ± 1.72	2.49 ^c ± 1.87
WPM + ABA 3 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	1.60 ^{bcd} ± 1.18	1.97 ^c ± 1.60	2.18 ^c ± 1.68
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.1 โมลาร์	0.20 ^{de} ± 0.05	0.20 ^e ± 0.05	0.20 ^d ± 0.05
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์	0.23 ^{de} ± 0.03	0.23 ^e ± 0.03	0.23 ^d ± 0.03
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.3 โมลาร์	0.17 ^e ± 0.03	0.17 ^e ± 0.03	0.17 ^d ± 0.03

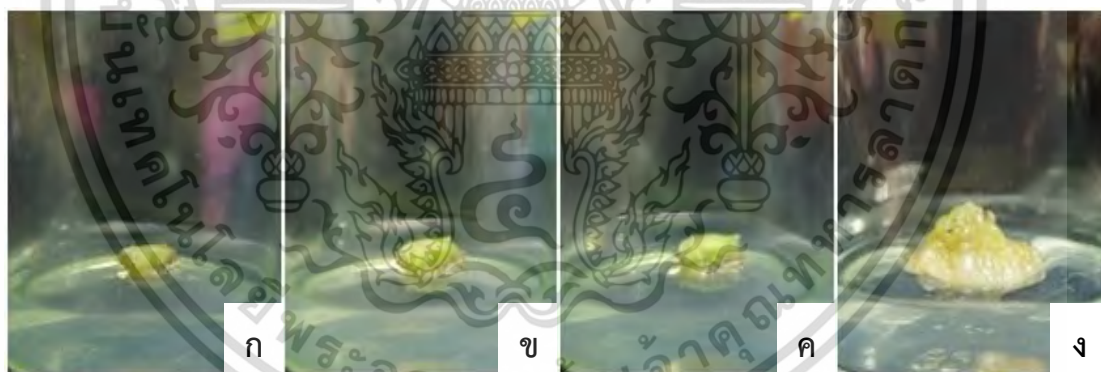
หมายเหตุ ¹/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ชั้น

²/ ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

³/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's



รูปที่ 4.45 ขนาดแคลลัสเฉลี่ยของต้นหมี่หลัก บินอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงที่ 4 8 และ 12 สัปดาห์



รูปที่ 4.46 ลักษณะขนาดแคลลัสของต้นหมี่หลัก เมื่อทำการเก็บรักษาแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ค) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ง) หลังจากย้ายแคลลัสมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการเจริญเติบโตใหม่ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.31 ผลความยาวยอดของต้นสัณฐานามินท์ เมื่อทำการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์

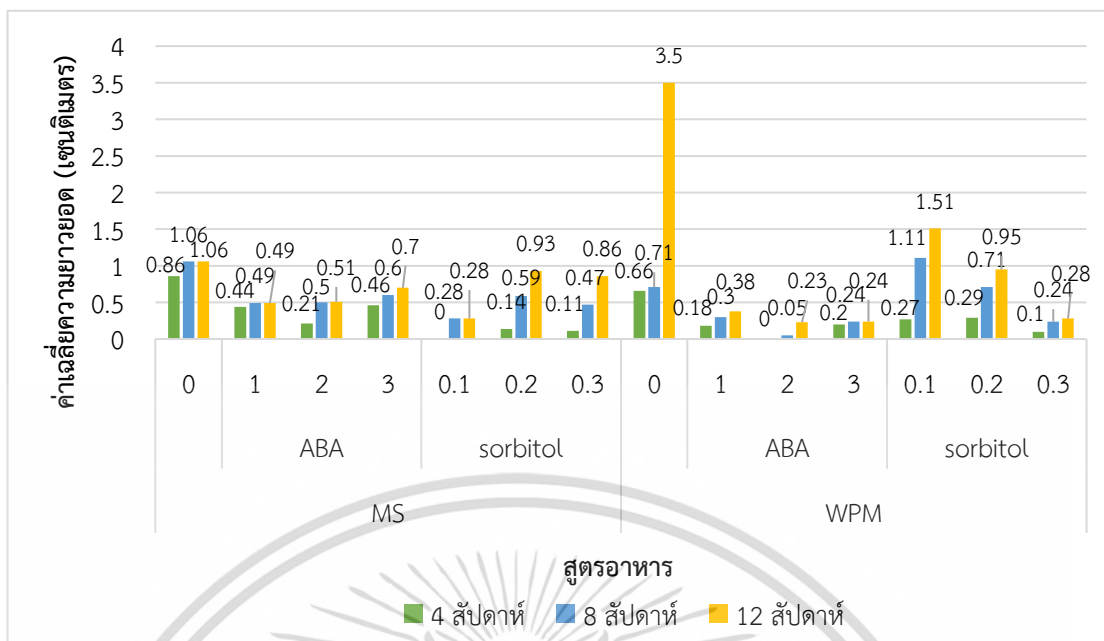
สูตรอาหาร	ความยาวยอดเฉลี่ย ¹²³⁴ (เซนติเมตร)		
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	12 สัปดาห์
MS + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.86 ^a ± 0.75	1.06 ^{ab} ± 0.94	1.06 ^b ± 0.94
MS + ABA 1 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.44 ^{abc} ± 0.18	0.49 ^{abc} ± 0.15	0.49 ^b ± 0.15
MS + ABA 2 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.21 ^{bc} ± 0.19	0.50 ^{abc} ± 0.44	0.51 ^b ± 0.45
MS + ABA 3 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.46 ^{abc} ± 0.08	0.60 ^{abc} ± 0.14	0.70 ^b ± 0.14
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.1 โมลาร์	0.00 ^c ± 0.00	0.28 ^{abc} ± 0.48	0.28 ^b ± 0.48
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์	0.14 ^{bc} ± 0.25	0.59 ^{abc} ± 0.54	0.93 ^b ± 0.82
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.3 โมลาร์	0.11 ^{bc} ± 0.20	0.47 ^{abc} ± 0.20	0.86 ^b ± 0.20
WPM + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.66 ^{ab} ± 0.65	0.71 ^{abc} ± 0.66	3.50 ^a ± 3.09
WPM + ABA 1 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.18 ^{bc} ± 0.16	0.30 ^{abc} ± 0.04	0.38 ^b ± 0.05
WPM + ABA 2 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.00 ^c ± 0.00	0.05 ^c ± 0.10	0.05 ^b ± 0.10
WPM + ABA 3 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.20 ^{bc} ± 0.18	0.24 ^{bc} ± 0.24	0.24 ^b ± 0.24
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.1 โมลาร์	0.27 ^{abc} ± 0.24	1.11 ^a ± 0.14	1.51 ^b ± 0.38
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์	0.29 ^{abc} ± 0.26	0.71 ^{abc} ± 0.47	0.95 ^b ± 0.35
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.3 โมลาร์	0.10 ^{bc} ± 0.18	0.24 ^{bc} ± 0.41	0.28 ^b ± 0.48

หมายเหตุ ^{1/} ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ชั้น

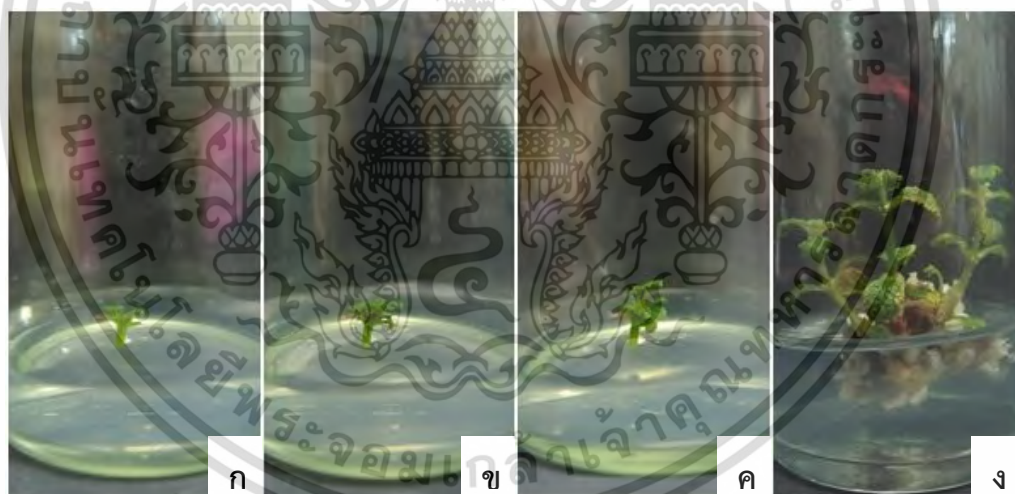
^{2/} ค่าความยาวเฉลี่ยที่แสดงในตาราง เป็นค่าที่วัดจากยอดที่เกิดขึ้นใหม่จากชิ้นส่วนข้อเท่านั้น

^{3/} ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

^{4/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's



รูปที่ 4.47 ความยาวยอดเฉลี่ยของต้นสัคสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอสซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงที่ 4 8 และ 12 สัปดาห์



รูปที่ 4.48 ลักษณะความยาวยอดของต้นสัคสยามินทร์ เมื่อทำการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ค) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ง) หลังจากย้ายชิ้นส่วนข้อมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการเจริญเติบโตใหม่ บนอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

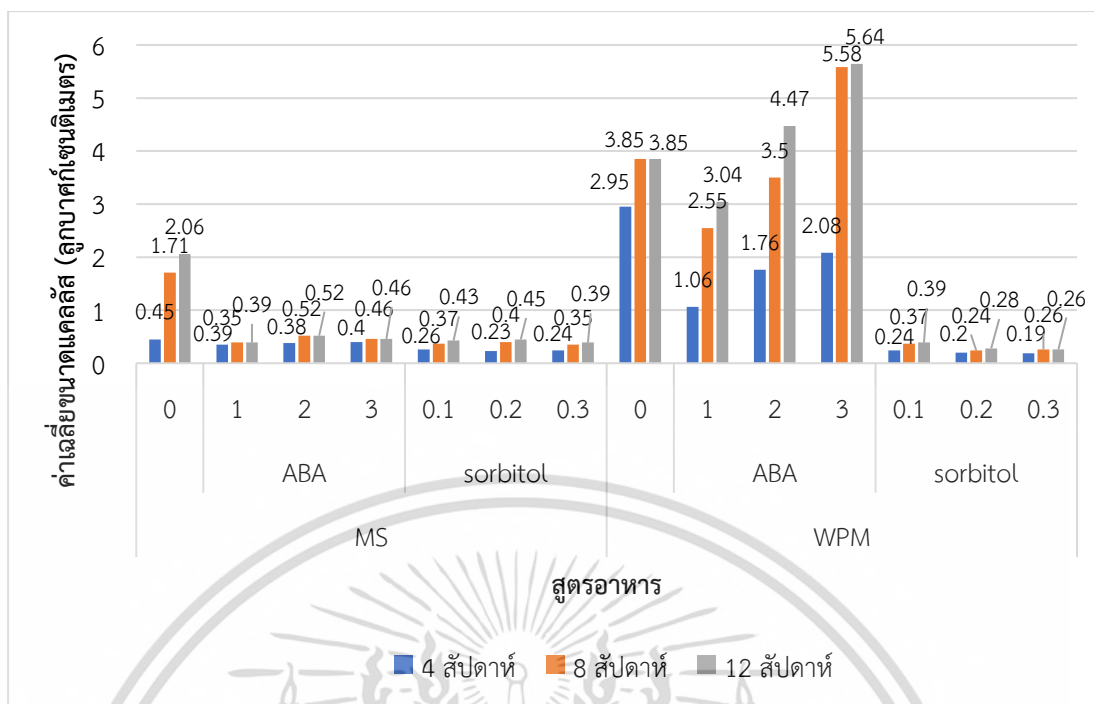
ตารางที่ 4.32 ผลขนาดแคลลัสของต้นสักระยาหมี่ เมื่อทำการเก็บรักษาแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ขนาดแคลลัสเฉลี่ย ¹²³ (ลูกบาศก์เซนติเมตร)		
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	12 สัปดาห์
MS + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.45 ^c ± 0.29	1.71 ^{bc} ± 0.41	2.06 ^{bc} ± 0.54
MS + ABA 1 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.35 ^c ± 0.18	0.39 ^c ± 0.24	0.39 ^c ± 0.24
MS + ABA 2 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.38 ^c ± 0.22	0.52 ^c ± 0.46	0.52 ^c ± 0.46
MS + ABA 3 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	0.40 ^c ± 0.08	0.46 ^c ± 0.78	0.46 ^c ± 0.07
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.1 โมลาร์	0.26 ^c ± 0.12	0.37 ^c ± 0.19	0.43 ^c ± 0.29
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์	0.23 ^c ± 0.06	0.40 ^c ± 0.15	0.45 ^c ± 0.24
MS + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.3 โมลาร์	0.24 ^c ± 0.09	0.35 ^c ± 0.13	0.39 ^c ± 0.16
WPM + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	2.95 ^a ± 1.58	3.85 ^{ab} ± 1.93	3.85 ^{ab} ± 1.93
WPM + ABA 1 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	1.06 ^{bc} ± 0.57	2.55 ^{bc} ± 1.78	3.04 ^{abc} ± 2.36
WPM + ABA 2 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	1.76 ^b ± 1.18	3.50 ^{ab} ± 2.67	4.47 ^{ab} ± 3.08
WPM + ABA 3 มก./ล. + น้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.	2.08 ^{ab} ± 0.46	5.58 ^a ± 3.29	5.64 ^a ± 3.34
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.1 โมลาร์	0.24 ^c ± 0.72	0.37 ^c ± 0.12	0.39 ^c ± 0.11
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์	0.20 ^c ± 0.09	0.24 ^c ± 0.13	0.28 ^c ± 0.18
WPM + น้ำตาลซอร์บิทอล 0.3 โมลาร์	0.19 ^c ± 0.09	0.26 ^c ± 0.14	0.26 ^c ± 0.14

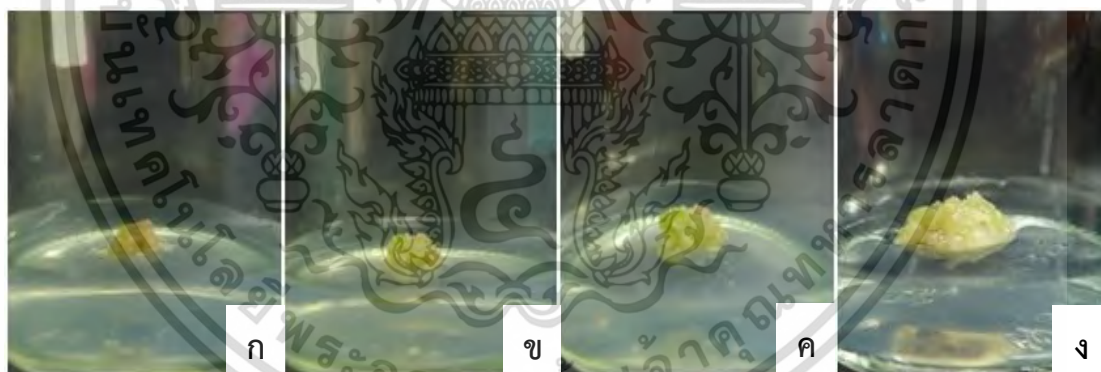
หมายเหตุ ¹/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ชัน

²/ ค่าเฉลี่ย ± SD แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

³/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's



รูปที่ 4.49 ขนาดแคลลัสเฉลี่ยของต้นสักสยามินทร์ บนอาหารแข็งสูตร MS และ WPM ที่เติมกรดแอบไซซิก และ น้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้นต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงที่ 4 8 และ 12 สัปดาห์



รูปที่ 4.50 ลักษณะขนาดแคลลัสของต้นสักสยามินทร์ เมื่อทำการเก็บรักษาแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช (ก) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ข) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ค) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ง) หลังจากย้ายแคลลัสมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการเจริญเติบโตใหม่ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษากาแฟฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นมเหสักข์ และ สักสยามินทร์ พบว่า ชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นมเหสักข์ และต้นสักสยามินทร์ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย เมอร์คิวร็อคโลไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบน อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบการเกิดยอดร้อยละ 100 หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานเพื่อชักนำให้เกิด ยอดใหม่ของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ พบว่า ชิ้นส่วนพืชของต้นมเหสักข์ เมื่อเพาะเลี้ยงบน อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม mT ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 2.30 ยอด และความยาวยอดเฉลี่ย คือ 2.58 เซนติเมตร และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 2.60 ยอด และ ความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.76 เซนติเมตร และในต้นสักสยามินทร์ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ความ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 1.80 ยอด และ ความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.12 เซนติเมตร และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม ต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 2.00 ยอด และ ความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.78 เซนติเมตร หลัง เพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นเพาะเลี้ยงโดยให้แสงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ต่อมาได้ศึกษา ตำแหน่งของชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ และข้อที่ติดฐานที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดของต้น มเหสักข์ และสักสยามินทร์ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงทุก 5 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง พบว่า การเพาะเลี้ยง ต้นมเหสักข์ ครั้งที่ 1 ตำแหน่งชิ้นส่วนข้อที่ 1 มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.41 ยอด และครั้งที่ 2 ตำแหน่งชิ้นส่วนข้อที่ติดฐาน มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.37 ยอด และครั้งที่ 3 ตำแหน่ง ชิ้นส่วนข้อที่ 1 มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.20 ยอด และการเพาะเลี้ยงต้นสักสยามินทร์ ครั้งที่ 1 ตำแหน่ง ชิ้นส่วนข้อที่ 1 มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.16 ยอด และครั้งที่ 2 ตำแหน่งชิ้นส่วน ข้อที่ 1 มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.22 ยอด และครั้งที่ 3 ตำแหน่งชิ้นส่วนข้อที่ 1 มีจำนวนยอด เฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.00 ยอด หลังเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นเพาะเลี้ยงโดยให้แสง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการศึกษาจึงพบว่าตำแหน่งข้อที่ 1 สามารถชักนำการเกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด

จากนั้นการศึกษาศาตรควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วน แคลลัสของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงต้นมเหสักข์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบน อาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ มี จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.6 ยอด และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.24 เซนติเมตร และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร แข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีขนาด แคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด คือ 2.59 ลูกบาศก์เซนติเมตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ การค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพาะเลี้ยงต้นสักระยะมินท์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 0.6 ยอด และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.82 เซนติเมตร และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.79 ลูกบาศก์เซนติเมตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ต่อมาได้การศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่และรากจากชิ้นส่วนปลายยอด ช่อ และข้อที่ติดฐานของต้นมเหสักข์ และสักระยะมินท์ พบว่า ในต้นมเหสักข์ ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดและรากได้ดีที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 1.26 ยอด และมีความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.64 เซนติเมตร และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 1 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 2.39 เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ และในต้นสักระยะมินท์ ชิ้นส่วนข้อที่ติดฐานที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดและรากได้ดีที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 1 ยอด และมีความยาวยอดเฉลี่ย คือ 3.73 เซนติเมตร และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 0.93 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 3.65 เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์

จากนั้นศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดสมบูรณ์ของต้นมเหสักข์ และสักระยะมินท์ เมื่อนำส่วนโคนยอดจุ่มลงในสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และนำไปออกปลูก พบว่า ต้นมเหสักข์ และต้นสักระยะมินท์ ที่ทำการออกปลูก มีการรอดชีวิตร้อยละ 100 ในทุกความเข้มข้น เมื่อออกปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และเมื่อทำการออกปลูกต่อต้นมเหสักข์ที่จุ่มลงในสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการรอดชีวิตร้อยละ 66.67 และพบการเกิดรากร้อยละ 33.33 และต้นสักระยะมินท์ พบการรอดชีวิตร้อยละ 33.33 และพบการเกิดรากร้อยละ 33.33 เมื่อออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นศึกษาการนำต้นมเหสักข์ และสักระยะมินท์ ออกปลูก พบว่า ต้นมเหสักข์ มีการรอดชีวิตร้อยละ 100 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 1.77 เซนติเมตร หลังจากออกปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และพบการรอดชีวิตร้อยละ 100 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.51 เซนติเมตร หลังจากออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และพบการรอดชีวิตร้อยละ 66.67 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.15 เซนติเมตร หลังจากออกปลูกเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และต้นสักระยะมินท์ พบการรอดชีวิตร้อยละ 100 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.26 เซนติเมตร หลังจากออกปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และพบการรอดชีวิตร้อยละ 100 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.12 เซนติเมตร หลังจากออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และพบการรอดชีวิตร้อยละ 100 และลำต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.09 เซนติเมตร หลังจากออกปลูกเป็นเวลา 12 สัปดาห์

การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนปลายยอดและแคลลัสของต้นมเหสักข์ และสักระยะมินท์ ในสภาพเยือกแข็ง โดยใช้เทคนิค vitrification (vi) dehydration (de) encapsulation-vitrification (envi) และ encapsulation-dehydration (ende) พบว่า ชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการเพาะเลี้ยงแบบปรับสภาพตามลำดับ และผ่านการดองน้ำออกจากเซลล์พืช และผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลวแล้ว มีเพียงแคลลัสของต้นมเหสักข์ ที่ผ่านการดองน้ำออกด้วยเทคนิค vi เท่านั้นที่พบการรอดชีวิต โดยพบในสูตรที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบการเจริญเติบโตร้อยละ 20 หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และสูตรที่แอสสาร LS เป็นเวลา 40 นาที และแอสสาร PVS2 เป็นเวลา 10 นาที พบการรอดชีวิตร้อยละ 40 และพบการเจริญเติบโตร้อยละ 40 หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งเป็นระยะเวลาในการแอสสารที่เหมาะสมที่สุด

จากนั้นศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาชิ้นส่วนข้อและแคลลัสโดยการชะลอการเจริญเติบโตของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของต้นมเหสักข์ที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด คือ ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ มีค่าเฉลี่ยความยาวยอด คือ 0.29 เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และแคลลัสของต้นมเหสักข์ที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด คือ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ มีค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัส คือ 0.17 ลูกบาศก์เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และชิ้นส่วนข้อของต้นสักสยามินทร์ที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด คือ ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ค่าเฉลี่ยความยาวยอด คือ 0.28 เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และแคลลัสของต้นสักสยามินทร์ที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตของพืชได้มากที่สุด คือ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร WPM ที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ มีค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัส คือ 0.26 ลูกบาศก์เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงครบ 12 สัปดาห์ ทำการย้ายชิ้นส่วนข้อและแคลลัสไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อดูการเจริญเติบโตของพืชหลังจากผ่านการชะลอการเจริญเติบโต พบว่า ชิ้นส่วนข้อของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ สามารถเจริญเติบโตต่อได้โดยมีความยาวเพิ่มขึ้นหลังจากนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร WPM ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และแคลลัสของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ สามารถเจริญเติบโตต่อได้โดยแคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้นหลังจากนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรทำการทดลองเพิ่มสารอาหารอื่นนอกเหนือจากสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินในการช่วยชักนำให้เกิดรากของต้นมเหสักข์ และสักสยามินทร์ให้ได้จำนวนรากมากขึ้น และรากมีความแข็งแรงมากขึ้น

5.2.2 ในการทดลองชักนำให้เกิดรากจากยอดสมบูรณ์ โดยการจุ่มราก ควรศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นๆ เพื่อให้ได้รากที่สมบูรณ์

5.2.3 ควรประยุกต์ใช้เทคนิคต่างๆ ในการเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชในสภาพเยือกแข็งร่วมกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเก็บรักษาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กรกช นาคคนอง และจรัสศรี นวลศรี. 2560. “การศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษา เอ็มบริโอของพาราพันธู์พื้นเมืองในไนโตรเจนเหลว.” มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล และลัดดาวัลย์ รักษ์ธรรม. 2558. “การขยายพันธุ์โมกมัน [*Wrightia arborea* (Dennst.) Mabb.] ในหลอดทดลอง.” *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 23(5) : 833-845
- กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล. 2559. “การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอและยอดจากการเพาะเลี้ยงใบโตเต็มที่ของ แววมยุรา.” *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 24(6) : 942-951.
- กรมป่าไม้. 2556. **เมล็ดและการเพาะเมล็ดสัก**. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- กฤษณา พงษ์พานิช. 2555. **ไม้สักและโรคของไม้สักในประเทศไทย**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.dnp.go.th/foremic/fmo/forestdiseasein/20th.html>.
- ครุฑ ธรรมศิริ. 2547. **เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้**. กรุงเทพฯ : อัมรินทร์พรินต์ติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.
- โครงการพฤษานาภิรักษ์ มหะสิทธิ์ นวมินทรานุสร. ม.ป.ป. **น้อมรำลึกถึงพระมหากรุณาธิคุณ พระบาทสมเด็จพระปรมินทรมหาภูมิพลอดุลยเดชผู้ทรงเป็นพระบิดาแห่งการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมด้วยการปลูก มหะสิทธิ์และสักสยามินทร์สักไว้บนแผ่นดินไทย**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.rspg.or.th/files/teak_rspg.pdf.
- โครงการรักษาดินไม้ เพื่อเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. 2561. **มหะสิทธิ์**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://branch.phraetn.itbaseth.com/5/public/source/36/BOTANICAL/037.pdf>.
- โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. 2557. **สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด, สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี “สัก”**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : www.rspg.or.th/plants_data/herbs/.
- ฉวีวรรณ หุตะเจริญ และสุโขติ อึ้งวิจารณ์ปัญญา. 2539. **แมลงศัตรูต้นสัก**. กรุงเทพฯ : ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- โชคชัย พรหมแพทย์. 2536. **สักทองเพื่อการค้า**. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี : ศูนย์หนังสือเกษตร.
- ธิตี วิสารรัตน์. 2556. **องค์ความรู้ไม้สักไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- นุรมา มาสากิ สุริรัตน์ เย็นซ้อน และสมปอง เตชะโต. 2561. “ผลของการสร้างบาดแผล สารต้านอนุมูลอิสระ และซิลเวอร์นาโนต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูง.” *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*. 5(3) : 1-9.
- พัชรา ลิ้มปะเนว. 2550. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. สารานุกรมไทยฉบับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวรัชกาลที่ 9. เล่มที่ 31 : เรื่องที่ 5.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- พีรเดช ทองอำไพ. 2529. **ฮอว์โมนพืชและสารสังเคราะห์แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : หจก. ไดนามิคการพิมพ์.
- มณฑิรา สาลักษณ์. 2534. “การขยายพันธุ์และการเก็บรักษาพันธุ์ยี่หุบโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รังสฤษดิ์ กาวิตะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วรินทร์พร จักรัตรสกุล. 2557. “การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กรรมพืชเนระพูสีไทยในสภาพปลอดเชื้อ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- วิเชียร สุมนต์กุล. 2522. **การปฏิบัติต่อเมล็ดสักก่อนเพาะ**. ลำปาง : ศูนย์บำรุงพันธุ์ไม้สัก. สำนักส่งเสริมการปลูกป่า กรมป่าไม้. ม.ป.ป. สัก. กรุงเทพฯ : ส่วนปลูกป่าภาคเอกชน กรมป่าไม้.
- อรดี สหวัชรินทร์. 2542. **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะเกษตร ภาควิชาพืชสวน โครงการวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.
- อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. 2550. **การกลายพันธุ์: เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อนรรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2550. **เทคโนโลยีชีวภาพของพืช**. โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. หน้า 102.
- อนรรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ และ จันทกานต์ อรณนันท. 2555. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. **เรื่อง การปรับปรุงพันธุ์ถั่ววาลเคตให้ต้านทานโรคไวรัสด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- Akram, M. and Aftab, F. 2008. “High Frequency Multiple Shoot form Nodal Explants of Teak (*Tectona grandis* L.) Induced by Thidiazuron.” *Propagation of Ornamental Plants*. 8(2) : 72-75.
- Akram, M. and Aftab, F. 2016. “Establishment of Embryogenic Cultures and Efficient Plant Regeneration System from Explants of Forced Softwood Shoots of Teak (*Tectona grandis* L.).” *Horticultural Plant Journal*. 2(5) : 293-300.
- Anjusha, S. and Gangaprasad, A. 2016. “*In Vitro* Propagation and Anthraquinone Quantification in *Gynochthodes umbellata* (L.) Razafim. & B. Bremer (Rubiaceae)-A Dye Yielding Plants.” *Industrial Crops and Products*. 81 : 83-90.
- Benmahioul, B. Harche, M.K. and Daguin, F. 2016. “*In Vitro* Regeneration of *Pistacia vera* L. from Nodal Explants.” *Journal of Forest Science*. 62(5) : 198-203.
- Chen, X.L. Li, J.H. Xin, X. Zhang, Z.E. Xin, P.P. and Lu, X.X. 2011. “Cryopreservation of *In Vitro*-Grown Apical Meristems of *Lilium* by Droplet-Vitrification.” *The South African Journal of Botany*. 77 : 397-403.
- Das, S. Timir, B. Jha, T.B. and Jha, S. 1996. “*In Vitro* Propagation of Cashewnut.” *Plant Cell Reports*. 15 : 615-619.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Debergh, P.C. Harbaoui, V. and Lemeur, R. 1981. "Mass Propagation of Globe Artichoke (*Cynara scolymus*) : Evaluation of Different Hypotheses to Overcome Vitrification with Special Reference to Water Potential." *Physiologia Plantarum*. 53 : 181-187.
- Emilio, M.D.G. Juwartina, I.R. and Eddo, R. 2007. "Efficient Method of Micropropagation and *In Vitro* Rooting of Teak (*Tectona grandis* L.) Focusing on Large-scale Industrial Plantations." *Ann. For. Sci.* 64 : 73-78.
- Engelmann, F. 2000. "Importance of Cryopreservation for The Conservation of Plant Genetic Resources." *International Plant Genetic Resources Institute*. 8-20.
- Engelmann, F. 2004. "Plant Cryopreservation: Progress and Prospects." *In vitro Cell Biol Plant*. 40 : 427-433.
- Hoseini, M. Ghadimzadeh, M. Ahmadi, B. and Silva, J.A.T. 2014. "Effects of Ascorbic Acid, Alpha-Tocopherol, and Glutathione on Microspore Embryogenesis in *Brassica napus* L." *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 50 : 26-35.
- Ishikawa, M. Tandonb, P. Suzuki, M. and Ciampid, A.Y. 1996. "Cryopreservation of Suspension Cultured Cells Bromegrass (*Bromus inermis* Leyss) Using Slow Prefreezing and Vitrification Procedures." *Plant Science*. 120 : 81-88.
- Kozgar, M.I. and Shahzad, A. 2012. "An Improved Protocol for Micropropagation of Teak Tree (*Tectona grandis* L.)." *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*. 23(2) : 195-202.
- Lambardi, M. Fabbri, A. and Caccavale, A. 2000. "Cryopreservation of White Poplar (*Populus alba* L.) by Vitrification of *In Vitro*-Grown Shoot Tips." *Plant Cell Reports*. 19 : 213-218.
- McCown, B.H. and Lloyd, G. 1981. "Woody Plant Medium (WPM)—A Mineral Nutrient Formulation for Microculture of Woody Plant Species." *HortScience*. 16 : 453-453.
- Matsumoto, T. Mochida, K. Itamura, H. and Sakai, A. 2001. "Cryopreservation of Persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) by Vitrification of Dormant Shoot Tips." *Plant Cell Reports*. 20 : 398-402.
- MedThai. 2560. สัก สรรพคุณและประโยชน์ของต้นสัก 20 ข้อ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://medthai.com/สัก/>.
- Moges, A.D. Shibli, R.A. and Karam, N.S. 2003. "Slow Growth *In Vitro* Preservation of African Violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.)." *Advances in Horticultural Science*. 17(4) : 223-230.
- Mozafari, A.A. Vafaei, Y. and Karami E. 2015. "*In Vitro* Propagation and Conservation of *Satureja avromanica* Maroofi - an Indigenous Threatened Medicinal Plant of Iran." *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 21(3) : 433-439.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Murashike, T. and Skoog, F. 1962. "A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures." *Journal of Plant Physiology*. 15 : 473-497.
- Nakkanong, K. and Nualsri, C. 2018. "Cryopreservation of *Hevea brasiliensis* Zygotic Embryos by Vitrification and Encapsulation-Dehydration." *Journal of Plant Biotechnology*. 45 : 333-339.
- Nor Aini, A.S. Goh, B.L. and Ridzuan, R. 2009. "The Effects of Different Indole-3-Butyric acid (IBA) Concentrations, Two Light Regimes of *In Vitro* Rooting and Acclimatization of *In Vitro* Teak (*Tectona grandis* L.f) Plantlets." *African Journal of Biotechnology*. 8(22) : 6158-6161.
- Pennycooke, J.C. and Towill, L.E. 2000. "Cryopreservation of Shoot Tips from *In Vitro* Plants of Sweet Potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] by Vitrification." *Plant Cell Reports*. 19 : 733-737.
- Rahul, J.R. Neha, C.S. Mugdha, M.S. and Sachin, K.S. 2018. "Rapid *In Vitro* Regeneration of Teakwood, an Important Timber and Wood Plant." *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2908-2911.
- Reinhold, P.J. Schrijnemakers, E.W.M. Van Iren, F. and Kijne, J.W. 1995. "Vitrification and Heat-Shock Treatment Improve Cryopreservation of Tobacco Cell Suspensions Compared to Two Step Freezing." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 42 : 261-267.
- San José, M.C. Corredoira, E. and Oliveira, H. 2015. "Cryopreservation of Somatic Embryos of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. and Confirmation of Ploidy Stability by Flow Cytometry." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 123 : 489-499.
- Scocchi, A. Vila, S. Mroginski, L. and Engelmann, F. 2007. "Cryopreservation of Somatic Embryos of Paradise Tree (*Melia azedarach* L.)." *CryoLetters*. 28(4) : 281-290.
- Sharaf, S.A. Shibli, R.A. Kasrawi, M.A. and Baghdadi, S.H. 2012. "Slow-Growth Preservation of Wild Shih (*Artemisia herba-alba* Asso.) Microshoots from Jordan." *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 10(2) : 1359-1364.
- Thinh, N.T. Takagi, H. and Sakai, A. 2000. "Cryopreservation of *In Vitro*-Grown Apical Meristems of Some Vegetatively Propagated Tropical Monocots by Vitrification." *International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI)*. 6 : 227-232.
- Thongpukdee, A. Thepsithar, C. and Chiensil, P. 2010. "Somaclonal Variation of *Caladium bicolor* (Ait.) vent. 'Jao Ying' after *In Vitro* Culture Propagation." *ISHS Acta Horticulturae*. 855 : 281-288.
- Tiwari, S.K. Tiwari, K.P. and Siril, E.A. 2002. "An Improved Micropropagation Protocol for Teak." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 71 : 1-6.

- Vicient, C. and Martínez, F. 1998. "The Potential Uses of Somatic Embryogenesis in Agroforestry are Not Limited to Synthetic Seed Technology." *Revista Brasileira De Fisiologia Vegetal*. 10(1) : 1-12.
- Wang, Q. Laamanen, J. Uosukainen, M. and Valkonen, J.P.T. 2005. "Cryopreservation of *In Vitro*-Grown Shoot Tips of Raspberry (*Rubus idaeus* L.) by Encapsulation-Vitrification and Encapsulation-Dehydration." *Plant Cell Reports*. 24 : 280-288.
- Wei, Q. Cao, J. Qian, W. Xu, M. Li, X. and Ding, Y. 2015. "Establishment of An Efficient Micropropagation and Callus Regeneration System from The Axillary Buds of *Bambusa ventricosa*." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 122 : 1-8.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. อาหารสังเคราะห์สูตร WPM (McCOWN and LLOYD, 1981)

องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แสดงดังตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร WPM

สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
NH_4NO_3	40
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	55.6
K_2SO_4	99
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37
KH_2PO_4	17
H_3BO_3	0.62
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	2.23
$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.86
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	9.64
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0025
Na_2EDTA	43.73
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	42.78
Glycine	0.2
Pyridoxine-HCl	0.05
Nicotinic acid	0.05
Thiamine-HCl	0.1
Myo-inositol	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and skoog, 1962)

องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แสดงดังตารางที่ 5.2

ตารางที่ 5.2 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
NH_4NO_3	1650
KNO_3	1900
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3
$\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	8.6
H_3BO_3	6.2
KI	0.33
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.25
Nicotinic acid	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Pyridoxine-HCl	0.5
Glycine	2.0
Myo-inositol	100

ขั้นตอนการเตรียมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร WPM

- 1) ชั่งอาหารเพาะเลี้ยงสังเคราะห์สูตร WPM ปริมาณ 2.41 กรัมต่อลิตร รวมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร นำมาละลายในน้ำกลั่น
- 2) ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตตามความเข้มข้นที่ต้องการ คำนวณได้จากสูตร $C_1 V_1 = C_2 V_2$
- 3) ปรับปริมาตรของอาหารด้วยน้ำกลั่น
- 4) ปรับค่า pH ของอาหารประมาณ 5.6-5.8
- 5) ใส่ผงวุ้นเจลแลนกัม 2.6 กรัมต่อลิตร
- 6) ให้ความร้อนแก่อาหารเพื่อให้ผงวุ้นละลาย
- 7) บรรจุอาหารใส่ขวดแก้ว หรือ หลอดทดลอง ปริมาตร 10-20 มิลลิลิตร
- 8) นิ่งฆ่าเชื้อความดันสูงอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 9) นำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อไปเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงนาน 2-3 วัน เพื่อสังเกตการปนเปื้อนในอาหารก่อนการนำไปใช้งาน

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS

- 1) ชั่งอาหารเพาะเลี้ยงสังเคราะห์สูตร MS ปริมาณ 4.43 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร นำมาละลายในน้ำกลั่น
- 2) ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตตามความเข้มข้นที่ต้องการ คำนวณได้จากสูตร

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$
- 3) ปรับปริมาตรของอาหารด้วยน้ำกลั่น
- 4) ปรับค่า pH ของอาหารประมาณ 5.6-5.8
- 5) ใส่ผงวุ้นเจลแลนกัม 2.6 กรัมต่อลิตร
- 6) ให้ความร้อนแก่อาหารเพื่อให้ผงวุ้นละลาย
- 7) บรรจุอาหารใส่ขวดแก้ว หรือ หลอดทดลอง ปริมาตร 10-20 มิลลิลิตร
- 8) นึ่งฆ่าเชื้อความดันสูงอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
- 9) นำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อไปเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงนาน 2-3 วัน เพื่อสังเกตการปนเปื้อนในอาหารก่อนการนำไปใช้งาน

ภาคผนวก ข

1. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลองเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation)

1.1 วิธีการเตรียมสารละลาย cryopreservation

1) การเตรียมอาหารปรับสภาพ ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ และผงวุ้นเจลาเลนกัน ความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร

- ชั่งอาหารเพาะเลี้ยงสังเคราะห์สูตร MS ปริมาณ 4.43 กรัม
- เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ หรือชั่งปริมาณ 171.14 กรัม
- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เท่ากับ 1 ลิตร
- ปรับ pH ให้เป็น 5.6-5.8
- เติมผงวุ้นเจลาเลนกัน 5.2 กรัม
- นำบีกเกอร์ไปให้ความร้อนใน ไมโครเวฟ 2 นาที จำนวน 3 ครั้ง แบ่งใส่ขวดเพาะเลี้ยงขวดละ 10 มิลลิลิตร
- นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2) การเตรียมอาหารปรับสภาพ ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ และผงวุ้นเจลาเลนกัน ความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร

- ชั่งอาหารเพาะเลี้ยงสังเคราะห์สูตร MS ปริมาณ 4.43 กรัม
- เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ หรือชั่งปริมาณ 256.72 กรัม
- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เท่ากับ 1 ลิตร
- ปรับ pH ให้เป็น 5.6-5.8
- เติมผงวุ้นเจลาเลนกัน 5.2 กรัม
- นำบีกเกอร์ไปให้ความร้อนใน ไมโครเวฟ 2 นาที จำนวน 3 ครั้ง แบ่งใส่ขวดเพาะเลี้ยงขวดละ 10 มิลลิลิตร
- นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3) การเตรียมอาหารเหลวสูตร MS ปริมาตร 1 ลิตร

- ชั่งอาหารเพาะเลี้ยงสังเคราะห์สูตร MS ปริมาณ 4.43 กรัม
- เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรเท่ากับ 1 ลิตร
- ปรับ pH ให้เป็น 5.6-5.8
- นำใส่ขวดเก็บสาร
- นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

- 4) การเตรียมอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจาก CaCl_2 ปริมาตร 1 ลิตร
 - เตรียมอาหารเหลวเป็นสต็อกอาหารสูตร MS ตามตารางที่ 5.2 โดยไม่ต้องเติม CaCl_2
 - เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรเท่ากับ 1 ลิตร
 - ปรับ pH ให้เป็น 5.6-5.8
 - นำใส่ขวดเก็บสาร
 - นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- 5) การเตรียมสารละลาย PVS2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
 - ใช้ไมโครปิเปตต์ดูดสารกลีเซอรอล ปริมาตร 30 มิลลิลิตร สารเอทิลีน-ไกลคอล ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และ สารไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร
 - เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ หรือซึ่งปริมาณ 13.69 กรัม
 - ปรับปริมาตรด้วยอาหารเหลวสูตร MS ให้ครบ 100 มิลลิลิตร
 - ปรับ pH ให้เป็น 5.6-5.8
 - แบ่งใส่ขวดเพาะเลี้ยงขวดละ 10 มิลลิลิตร
 - นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- 6) การเตรียมสารละลาย LS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
 - ใช้ไมโครปิเปตต์ดูดสารกลีเซอรอล ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร
 - เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ หรือซึ่งปริมาณ 13.69 กรัม
 - ปรับปริมาตรด้วยอาหารเหลวสูตร MS ให้ครบ 100 มิลลิลิตร
 - ปรับ pH ให้เป็น 5.6-5.8
 - แบ่งใส่ขวดเพาะเลี้ยงขวดละ 10 มิลลิลิตร
 - นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- 7) การเตรียมสารละลาย US ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
 - เตรียมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ หรือซึ่งปริมาณ 41.07 กรัม
 - ปรับปริมาตรด้วยอาหารเหลวสูตร MS ให้ครบ 100 มิลลิลิตร
 - ปรับ pH ให้เป็น 5.6-5.8
 - แบ่งใส่ขวดเพาะเลี้ยงขวดละ 10 มิลลิลิตร
 - นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8) การเตรียมสารละลาย CaCl_2 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

- เตรียม CaCl_2 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ หรือชั่งปริมาณ 2.94 กรัม
- เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ หรือชั่งปริมาณ 27.38 กรัม
- ปรับปริมาตรด้วยอาหารเหลวสูตร MS ให้ครบ 100 มิลลิลิตร
- ปรับ pH ให้เป็น 5.6-5.8
- แบ่งใส่ขวดเพาะเลี้ยงขวดละ 20 มิลลิลิตร
- นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

9) การเตรียมสารละลาย Na-alginate ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

- นำอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจาก CaCl_2 ที่เตรียมไว้มาเทใส่บีกเกอร์ให้ได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
- ปรับ pH ให้เป็น 5.6-5.8
- เติมน้ำ Na-alginate ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ หรือชั่งปริมาณ 6 กรัม
- นำบีกเกอร์ไปให้ความร้อนใน ไมโครเวฟ 2 นาที จำนวน 2 ครั้ง แบ่งใส่ขวดเพาะเลี้ยงขวดละ 10 มิลลิลิตร
- นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

2.1 กรดแอสคอร์บิก

การเตรียม stock solution ของสารละลายกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยชั่งผงกรดแอสคอร์บิกปริมาณ 100 มิลลิกรัม และละลายในเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 ปรับปริมาตรใน volumetric flask ให้มีปริมาตรสุทธิ 100 มิลลิลิตร จากนั้นกรองด้วย syringe filters ขนาด 0.2 ไมโครเมตร เก็บไว้ในขวดสีทึบและอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

คำนวณการใช้สารละลายกรดแอสคอร์บิกจากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$ โดยความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่ใช้ในงานทดลองคือ 5 มิลลิโมลาร์

2.2 กรดแอบไซซิก

การเตรียม stock solution ของสารละลายกรดแอบไซซิก ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยชั่งผงกรดแอบไซซิกปริมาณ 100 มิลลิกรัม และละลายในโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น โดยปรับปริมาตรใน volumetric flask ให้มีปริมาตรสุทธิ 100 มิลลิลิตร จากนั้นกรองด้วย syringe filters ขนาด 0.2 ไมโครเมตร เก็บไว้ในขวดเก็บสารและอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

คำนวณการใช้สารละลายกรดแอบไซซิกจากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$ โดยความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่ใช้ในงานทดลองคือ 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ประวัติผู้เขียน

- ชื่อ นางสาวพิมพ์ชนก ทองสาด
- วัน เดือน ปีเกิด 25 พฤศจิกายน พ.ศ. 2537
- ที่อยู่ปัจจุบัน 323/236 หมู่ 4 ซอยสายไหม 33 แขวงสายไหม เขตสายไหม
จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10220
- ประวัติการศึกษา
- ปี พ.ศ. 2559 จบการศึกษาในระดับปริญญาตรี ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- ปี พ.ศ. 2564 จบการศึกษาในระดับปริญญาโท ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- ทุนการศึกษาที่ได้รับ ทุนผู้ช่วยวิจัยโครงการ การเก็บรักษาพันธุ์สักร์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
ปี 2560
- ผลงานทางวิชาการ
1. Tongsad, P. Laipas, P. Chareonsap, P.P. and Poeaim, A. 2018. “The Effect of Plant Growth Regulator and *In Vitro* Conservation of Teak (*Tectona grandis* L.) by Tissue Culture.” *International Journal of Agricultural Technology*. 14(7) : 2171-2180.
 2. Tongsad, P. Laipas, P. Chareonsap, P.P. and Poeaim, A. 2020. “The Effects of Absciscic Acid and Sorbitol on the Slow Growth *In Vitro* Preservation of Mahesak (*Tectona grandis* L.)” *International Journal of Agricultural Technology*. 16(5) : 1277-1286.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้