

การศึกษาการขยายพันธุ์ของต้นกระบองเพชรสายพันธุ์
Mammillaria nivosa

STUDY ON THE PROPAGATION OF CACTUS
Mammillaria nivosa



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ขอสงวนสิทธิ์ในขอบข่ายของการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลง **ปีการศึกษา 2561** เจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY ON THE PROPAGATION OF CACTUS
Mammillaria nivosa



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารผลงานวิจัยสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ACADEMIC YEAR 2018

หัวข้อโครงการพิเศษ

การศึกษาการขยายพันธุ์ของต้นกระบองเพชรสายพันธุ์
Mammillaria nivosa

Study on The Propagation of Cactus *Mammillaria nivosa*

ชื่อนักศึกษา

นายสหพรหม สุเสนา รหัสนักศึกษา 58050825
นายสารัช วาณิชโรตม์ รหัสนักศึกษา 58050826
นายอิสสรราชัย เพชรดี รหัสนักศึกษา 58050850

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา

ชีววิทยา

ปีการศึกษา

2561

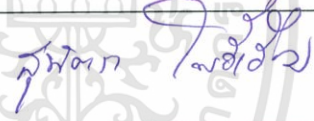


อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ดร. วิมลมาศ บุญมี

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
(เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร. สุพัตตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ดร. วิมลมาศ บุญมี กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	
ผศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่มีเหตุผลใดที่จำเป็นต้องแจ้งเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการงาน	การศึกษาการขยายพันธุ์ของต้นกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i>	
ชื่อนักศึกษา	นายสหพรหม สุเสนา	รหัสนักศึกษา 58050825
	นายสารัช วาณิชวโรตม์	รหัสนักศึกษา 58050826
	นายอิสสรราชัย เพชรดี	รหัสนักศึกษา 58050850
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
คณะ	วิทยาศาสตร์	
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)	
ปีการศึกษา	2561	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. อนุรักษ์ โปธิเอี่ยม	
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. วิมลมาศ บุญมี	

บทคัดย่อ

ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ โดยการพอกฆ่าเชื้อเมล็ดของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* พบว่าการพอกฆ่าเชื้อทั้ง 3 วิธี สามารถยับยั้งการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ และการพอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เวลา 5 วินาที สามารถส่งเสริมการงอกของเมล็ดได้ดีที่สุด ให้อัตราการงอกเท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ดที่ได้จากฝักอ่อน พบว่า เมล็ดเจริญดีที่สุดในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการงอกของเมล็ด 25 เปอร์เซ็นต์ และศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ดที่ได้จากฝักแก่ พบว่าเมล็ดเจริญดีที่สุดในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการงอกของเมล็ด 45 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำรากจากต้นอ่อน พบว่ามีการเกิดรากได้ดีที่สุดในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการงอกของราก 100 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้น พบว่ามีการเกิดยอดได้ดีที่สุดในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการงอกของยอด 100 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : การชักนำให้เกิดยอด การชักนำให้เกิดราก เมล็ด แมมมิลลาเรีย นิโวซา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Study on The Propagation of Cactus <i>Mammillaria nivos</i>		
Students	Mr. Sahaphrom	Susena	Student ID 58050825
	Mr. Sarat	Wanichawarot	Student ID 58050826
	Mr. Itsarachai	Petdee	Student ID 58050850
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2018		
Advisor	Asst. Prof. Dr. Anurug Poeaim		
Co-advisor	Dr. Wimonmat Boonmee		

Abstract

The study on optimal of Plant growth regulators (PGRs) for plant regeneration. Sterilization of seeds of *Mammillaria nivos* observed that 100 % inhibit microorganism used 3 methods. However, 70 % alcohol for 5 seconds had the best faction was 75 % of seed germination. Then, study on PGRs of cactus pods found that the highest of seeds germination of young cactus pods was 25 % cultured on MS medium supplemented with 2 mg/L 6-Benzylamminopurine (BAP) and the maximum of seeds germination of mature cactus pods was 45 % cultured on MS medium containing with 0.5 mg/L Thidiazuron (TDZ). After that study on root induction shown the best of root induction was 100 % cultured on MS medium supplemented with 0.50 mg/L TDZ plus 0.75 mg/L Indole-3-butyric acid (IBA). The study on optimal medium of trunk part for shoot induction found that the maximum of shoot induction was 100 % cultured on MS medium combined with 0.5 mg/L TDZ.

Keywords : shoots induction, roots induction, seeds, *Mammillaria nivos*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเรื่อง “การศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของต้นกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa*” ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจนสนับสนุนในด้านต่างๆ และให้ประสบการณ์ที่ดีแก่คณะผู้จัดทำ จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ และ ดร. วิมลมาศ บุญมี ที่ปรึกษาร่วมในโครงการพิเศษ ที่ให้คำแนะนำแนวทางการแก้ไขปัญหา และช่วยตรวจสอบความถูกต้องเพื่อให้โครงการพิเศษฉบับนี้สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ คุณสุธาสีสร อ่วมมงคล และคุณอิสสรราชัย เพชรดี ที่อนุเคราะห์ฝึกของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* ในการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกในการทำโครงการพิเศษฉบับนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่คอยเป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนส่งเสริมการศึกษาในทุกด้านเสมอมา รวมถึงพี่ และเพื่อนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยช่วยเหลือ และให้กำลังใจในการทำโครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สหพรหม สุเสนา
สารัช วาณชีวิโรตม์
อิสสรราชัย เพชรดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ช
คำย่อ/สัญลักษณ์.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 กระบองเพชรสายพันธุ์แมมมิลลาเรีย.....	3
2.1.1 ความเป็นมาและข้อมูลทั่วไปของแมมมิลลาเรีย.....	3
2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....	3
2.1.3 สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา.....	5
2.1.4 การปลูกและการดูแลรักษา.....	5
2.1.5 ประโยชน์ของกระบองเพชร.....	5
2.1.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแมมมิลลาเรีย.....	5
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....	6
2.2.1 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....	6
2.2.2 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช.....	8
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	11
3.1 พืชที่ใช้ในการศึกษา.....	11
3.2 สารเคมีและอุปกรณ์.....	11
3.2.1 สารเคมี.....	11
3.2.2 อุปกรณ์.....	11
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	12
3.3.1 การศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ด <i>Mammillaria nivosa</i>	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.2 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ด จากฝักอ่อน.....	12
3.3.3 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ด	13
3.3.4 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำรากจากต้นอ่อน.....	14
3.3.5 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำขึ้นส่วนของลำต้นให้เกิดยอด...	14
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	16
4.1 ศึกษาสูตรที่เหมาะสมสำหรับการพอกฆ่าเชื้อเมล็ด <i>Mammillaria nivosa</i>	16
4.2 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ดจากฝัก อ่อน.....	17
4.3 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ดจากฝักแก่	22
4.4 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากจากต้นอ่อนของ <i>Mammillaria nivosa</i>	27
4.5 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจาก ชิ้นส่วนลำต้นของ <i>Mammillaria nivosa</i>	31
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	39
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	39
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	40
เอกสารอ้างอิง.....	41
ภาคผนวก.....	43
ภาคผนวก ก.....	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	แสดงร้อยละการปนเปื้อน และร้อยละการงอกของเมล็ดจากการพอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกัน เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	16
4.2	แสดงร้อยละการงอกของเมล็ด และขนาดเฉลี่ยของต้น จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดจากฝักอ่อนบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ <i>mT</i> BAP และ 2,4-D ของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์.....	18
4.3	แสดงร้อยละการเกิดของเมล็ด และขนาดเฉลี่ยของต้น จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ <i>mT</i> BAP และ 2,4-D ของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์.....	23
4.4	แสดงร้อยละการเกิดราก และความยาวเฉลี่ยของรากจากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.50 ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	28
4.5	แสดงร้อยละการเกิดยอด และขนาดเฉลี่ยของชิ้นส่วนพืช จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้น บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ <i>mT</i> BAP 2,4-D Kn และ IBA ของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	32
4.6	แสดงร้อยละการเกิดยอด และขนาดเฉลี่ยของชิ้นส่วนพืช จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้น บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ <i>mT</i> BAP 2,4-D Kn และ IBA ของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์.....	33
4.7	แสดงร้อยละการเกิดยอด และขนาดเฉลี่ยของชิ้นส่วนพืช จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้น บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ <i>mT</i> BAP 2,4-D Kn และ IBA ของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงลักษณะใบและหนามของต้นกระบองเพชร <i>Mammillaria nivosa</i>	4
2.2	แสดงลักษณะดอกของต้นกระบองเพชร <i>Mammillaria nivosa</i>	4
2.3	แสดงลักษณะฝักของต้นกระบองเพชร <i>Mammillaria nivosa</i>	4
2.4	แสดงลักษณะลำต้น ฝัก และดอกของ <i>Mammillaria nivosa</i>	5
4.1	แสดงร้อยละการรอดของเมล็ด <i>Mammillaria nivosa</i> จากการพอกฆ่าเชื้อ สูตรที่แตกต่างกัน และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็น ระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	16
4.2	แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการงอกของเมล็ดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด <i>Mammillaria nivosa</i> ของฝักอ่อนบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP และ 2,4-D ความ เข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์.....	19
4.3	แสดงการเปรียบเทียบขนาดเฉลี่ยของต้นจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด <i>Mammillaria nivosa</i> ของฝักอ่อนบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP และ 2,4-D ความ เข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์.....	19
4.4	แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดต้นจากเมล็ดฝักอ่อนของกระบองเพชร สายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> ที่ 4 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) mT ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัม ต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) และอาหาร ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Q) ตามลำดับ.....	20
4.5	แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดต้นจากเมล็ดฝักอ่อนของกระบองเพชรสาย พันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> ที่ 8 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) mT ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัม ต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) และอาหาร ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Q) ตามลำดับ.....	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.6	แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการงอกของเมล็ดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด <i>Mammillaria nivosa</i> บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ <i>mT</i> BAP และ 2,4-D ความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์.....	24
4.7	แสดงการเปรียบเทียบขนาดเฉลี่ยของต้นจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด <i>Mammillaria nivosa</i> บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ <i>mT</i> BAP และ 2,4-D ความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์.....	24
4.8	แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดต้นจากเมล็ดของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> ที่ 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) <i>mT</i> ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Q) ตามลำดับ.....	25
4.9	แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดต้นจากเมล็ดของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> ที่ 8 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) <i>mT</i> ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Q) ตามลำดับ.....	26
4.10	แสดงร้อยละการงอกของรากจากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน <i>Mammillaria nivosa</i> บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	29
4.11	แสดงความยาวเฉลี่ยของรากจากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน <i>Mammillaria nivosa</i> บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.12 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดรากจากต้นอ่อนของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> ที่ 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-E) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (F) ตามลำดับ.....	30
4.13 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นของ <i>Mammillaria nivosa</i> บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP 2,4-D Kn และ IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์.....	35
4.14 แสดงการเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นของ <i>Mammillaria nivosa</i> บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP 2,4-D Kn และ IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 8 และ 12 สัปดาห์.....	35
4.15 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้นของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> ที่ 4 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) mT ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) Kn ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Q-T) IBA ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (U-X) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Y) ตามลำดับ.....	36
4.16 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้นของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> ที่ 8 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) mT ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) Kn ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Q-T) IBA ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (U-X) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Y) ตามลำดับ.....	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.17	<p>แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้นของกระบองเพชรสายพันธุ์ <i>Mammillaria nivosa</i> ที่ 12 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) mT ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) Kn ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Q-T) IBA ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (U-X) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Y) ตามลำดับ.....</p>
	38



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	ชื่อเต็ม
2,4-D	2,4-dichlorophenoxyacetic acid
2iP	Isopentonyl adenine
BAP	6-Benzylamminopurine
IAA	Indole-3-acetic acid
IBA	Indole-3-butyric acid
Kn	Kinetin
MS	อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962)
<i>mT</i>	<i>meta</i> -Topolin
NAA	1-Naphthaleneacetic acid
TDZ	Thidiazuron



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

กระบองเพชรหรือตะบองเพชรเป็นพืชชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่ในทะเลทราย เป็นไม้ที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายและเป็นไม้ประดับอย่างหนึ่งที่นิยมปลูกเลี้ยงกันโดยทั่วไปในประเทศไทยและต่างประเทศ จัดเป็นไม้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง โดยกระบองเพชรส่วนมากจะอยู่ในตระกูล Cactaceae เช่น *Mammillaria Echinopsis* และ *Melocactus* ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้จะมีลักษณะที่คล้ายกันคือ เป็นต้นเดี่ยว เป็นพุ่ม หนามคล้ายขนหรือเส้นผม มีถิ่นกำเนิดทางตะวันตกเฉียงใต้ของสหรัฐอเมริกา เม็กซิโก และคิวบา กระบองเพชรเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยจะนิยมปลูกกันเพื่อความสวยงามและในเชิงพาณิชย์ (ภาวพล, 2559)

กระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* หรือแมมหนามทอง เป็นกระบองเพชรสายพันธุ์ที่มีหนามจำนวนมาก นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากราคาไม่สูง และสามารถหาปลูกได้ง่าย มีผลงานวิจัยสถาบัน Recherches en Geobiologie ของสวีเดน และนักวิจัยในอเมริกา พบว่ากระบองเพชรสามารถตรึงสีที่ฉายออกมาจากหลอดไฟ โทรทัศน์ และคอมพิวเตอร์ได้ โดยทดลองนำต้นกระบองเพชรความสูง 40 เซนติเมตร ตั้งไว้หน้าจอคอมพิวเตอร์ของลูกจ้างผู้เคยได้รับความเจ็บปวดของร่างกาย ผลการทดลองปรากฏว่าสามารถตรึงสีที่ฉายออกมาได้จริง เนื่องจากต้นกระบองเพชรเป็นพืชสีเขียวที่มีคลอโรฟิลล์และรับแสงแดดในการปรุงอาหาร จึงสามารถดูดซับรังสีจากจอคอมพิวเตอร์บางส่วนได้แทนที่จะกระจายให้ผู้ใช้คอมพิวเตอร์โดยตรง (Keson, 2017)

การขยายพันธุ์กระบองเพชรมีหลายวิธีคือ การเพาะเมล็ด การทำกราฟ (grafting) การปักชำ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แต่วิธีที่เกษตรกรชำนาญคือการเพาะเมล็ด เนื่องจากวิธีการทำได้ง่าย แต่มีข้อเสียคือ ระยะเวลาที่ยังเป็นต้นกล้าใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโต และง่ายต่อการเกิดโรค เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงถูกเลือกมาใช้ในการขยายพันธุ์กระบองเพชรเนื่องจากสามารถใช้ชิ้นส่วนของพืชได้หลายส่วน เช่น เมล็ด ลำต้น ยอด และราก มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เพื่อเพิ่มจำนวนต้นพืช โดยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชได้ในระยะเวลาสั้นและเสี่ยงต่อการเกิดโรคน้อยกว่าในสภาวะธรรมชาติ (ปัทมาวดี, 2554; ภูเขา, 2553)

จากที่กล่าวมาข้างต้นผู้จัดทำจึงมีแนวทางที่จะศึกษาการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่เนื่องจาก *Mammillaria nivosa* มีมูลค่าไม่สูงมาก จึงทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อใช้นำร่องในการพัฒนาหรือทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น การฉายรังสี เพื่อให้เกิดการกลายพันธุ์ทำให้สีของต้นมีลักษณะต่างจากเดิม เพื่อเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้น และเนื่องจากสายพันธุ์นี้หาได้ง่าย จึงทำการศึกษาการขยายพันธุ์เพื่อนำไปปรับใช้กับสายพันธุ์ที่หายากหรือใกล้สูญพันธุ์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำเมล็ดให้เกิดต้นใหม่
- 1.2.2 เพื่อศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำขึ้นส่วนลำต้นให้เกิดยอด
- 1.2.3 เพื่อศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากจากต้นอ่อน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการเกิดต้นใหม่จากเมล็ด โดยใช้ฝักระบองเพชร อายุฝักอยู่ที่ 1-2 สัปดาห์ และ 1-2 เดือน โดยใช้อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้นของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* ซึ่งเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงในที่มืด 16 ชั่วโมง และในที่มืด 8 ชั่วโมง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทราบชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่างๆ ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นจากเมล็ด
- 1.4.2 ทราบสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่างๆ ที่มีผลต่อการชักนำขึ้นส่วนลำต้นให้เกิดยอด
- 1.4.3 ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำรากจากต้นอ่อนของ *Mammillaria nivosa*
- 1.4.4 สามารถขยายพันธุ์ต้นพืชได้จำนวนมากในระยะเวลาดังกล่าว
- 1.4.5 เป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อใช้นำร่องในการพัฒนาหรือทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมเพื่อเพิ่มมูลค่าของพืชชนิดนี้ และเป็นการนำไปปรับใช้สำหรับกระบองเพชรสายพันธุ์ที่ใกล้สูญพันธุ์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระบองเพชรสายพันธุ์แมมมิลลาเรีย (*Mammillaria*)

2.1.1 ความเป็นมาและข้อมูลทั่วไปของแมมมิลลาเรีย

ชื่อสกุลมาจากภาษาละตินว่า *mammilla* แปลว่า เนินหนาม มีถิ่นกำเนิดทางตะวันตกเฉียงใต้ของสหรัฐอเมริกา เม็กซิโก ประเทศแถบหมู่เกาะแคริบเบียน ถึงโคลอมเบียและเวเนซุเอลา พบขึ้นตามพื้นที่แห้งแล้ง มีสมาชิก 400 ชนิด จัดเป็นกระบองเพชรที่มีความหลากหลายสูงและนิยมปลูกเลี้ยงกันทั่วไป ในต่างประเทศมีผู้สนใจมากจนมีการจัดตั้งสมาคมแมมมิลลาเรียขึ้น ในบ้านเราเรียกสั้นๆว่า “แมม” ซึ่งปลูกเลี้ยงมานานหลายสิบปี เป็นกระบองเพชรที่ชอบแสงแดดจัด อากาศถ่ายเทสะดวก และดินปลูกต้องระบายน้ำดี ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ดหรือการแยกหน่อ นักวิทยาศาสตร์ได้ทำการแบ่งลำดับสายพันธุ์ทางวิทยาศาสตร์ของแมมมิลลาเรียไว้ดังนี้

Kingdom Planta

Clade Angiosperms

Clade Eudicots

Order Caryophyllales

Family Cactaceae

Subfamily Cactoiceae

Genus *Mammillaria*

Species *nivosa*

ที่มา : (Discover life, 2558)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กระบองเพชรเป็นพืชที่มีรูปร่างที่แตกต่างกันตามสายพันธุ์ เช่น เป็นรูปทรงกลม หรือ ทรงกระบอกและเป็นทรงเหลี่ยมในแนวตั้งตรง เป็นต้นเดี่ยวหรือเป็นต้นกลุ่ม บางพันธุ์มีขนาดต้นเล็กกะทัดรัด แต่บางพันธุ์มีขนาดยาว สูงใหญ่ ผิวลำต้นมีลักษณะเรียบ สีเขียวอ่อนหรือเขียวเข้ม ทำหน้าที่สังเคราะห์แสง ใบมีลักษณะเป็นมันคล้ายมีขี้ผึ้งเคลือบ เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ บนผิวมีตุ่มหนามเรียงกันตลอดแนวสันลำต้นส่วนรากกระบองเพชรนั้นมีระบบเป็นรากแก้วขนาดสั้นแตกเป็นรากแขนง และมีรากฝอยรอบข้างรากแขนง

ใบ และหนาม กระบองเพชรส่วนมากจะไม่มีใบ เพราะใบเปลี่ยนเป็นหนามแทน แต่บางสายพันธุ์อาจมีใบขนาดเล็กแทงขึ้นบริเวณตุ่มหนาม มีลักษณะแบ่งได้ 2 แบบ คือ หนามกลาง และหนามข้าง หนามกลางจะเกิดบริเวณกลางตุ่มหนาม 2-3 หนาม ส่วนหนามข้างนั้นจะเกิดบริเวณรอบตุ่มหนาม 6-7 หนาม หนามกระบองเพชรจะแทงขึ้นบนตุ่มหนามมีลักษณะเป็นแท่งหนามยาว ขนาดเล็ก แข็งแรง และแหลมคม หนึ่งตุ่มหนามอาจมีหนามได้มากกว่า 5 เส้น (รูปที่ 2.1) บางสายพันธุ์หนามที่ขึ้นอาจมีลักษณะเป็นขนเล็กๆ คล้ายขนสัตว์ ไม่แข็ง ปลายอาจอ่อนเป็นตะขอ หนามที่แทงออกมีได้หลากหลายสี เช่น สีขาว สีแดง สีส้ม สีนํ้าตาล สีเหลือง และสีดำ บางพันธุ์สามารถเปลี่ยนสีได้ตามลักษณะภูมิอากาศ และอายุของลำต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารพลังงานวิสาสำหรับทำรายงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่หรือใช้โดยไม่ผ่านการแก้ไข ทงสิน อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะใบและหนามของต้นกระบองเพชร *Mammillaria nivosa*
ที่มา: ภาพจากผู้จัดทำ

ดอกจะมีสีส้มสวยงาม มีรูปร่างหลายแบบ และบางพันธุ์มักมีกลิ่นหอม ลักษณะดอกอาจพบได้หลายแบบ ได้แก่ ดอกรูปทรงกรวย รูประฆัง รูปจาน และรูปทรงหลอด ดอกจะไม่มีก้าน กลีบดอกบอบบาง มีหลายสี อาทิ สีขาว สีครีม สีแดง สีส้ม สีชมพู และสีเหลือง เป็นต้น และอาจมีหลายสีในดอกเดียว ส่วนตำแหน่งของดอกจะแทงออกบริเวณตุ่ม



รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะดอกของต้นกระบองเพชร *Mammillaria nivosa*
ที่มา: ภาพจากผู้จัดทำ

ผลและฝัก ลักษณะผลเป็นรูปกลม รูปไข่ หรือทรงกระบอก เปลือกเป็นมันเรียบ และอาจมีขนหรือหนามแข็งปกคลุม ส่วนเนื้อผลมีลักษณะใส คล้ายวุ้น มีเมล็ดอยู่ด้านใน เมื่อผลแก่มักจะแห้ง และร่วงออกจากต้น



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะฝักของต้นกระบองเพชร *Mammillaria nivosa*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเมื่อการศึกษานี้ยังไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มา: ภาพจากผู้จัดทำ

2.1.3 สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา

2.1.3.1 กระจบองเพชรแมมมิลลาเลีย นิโวซา (*Mammillaria nivosa*)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mammillaria nivosa*

ชื่อสามัญ แมมเข็มทอง แมมหนามทอง

ถิ่นกำเนิด คิวบาและหมู่เกาะเวสต์อินดีส

ลักษณะ ลำต้นโตสมบูรณ์จะมีสีเขียว มีหนามยาวสีทอง และมีตุ่มหนามรอบลำต้น ดอกจะมีสีขาวล้วน ขาวอมชมพู ขาวอมเหลือง ดอกที่สมบูรณ์จะมีขนาดประมาณ 6 มิลลิเมตร

ผล มีขนาดแตกต่างกันไป ผลอ่อนจะมีสีแดงอมชมพู ผลแก่จัดจะมีสีส้มบริเวณปมหนามจะมีปุยสีขาวๆ ล้อมรอบลำต้น

สภาพปลูก ปลูกเลี้ยงง่าย โตเร็ว ทนแล้ง ออกดอกบ่อย



รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะลำต้น ฝัก และดอกของ *Mammillaria nivosa*

ที่มา: ภาพจากผู้จัดทำ

2.1.4 การปลูกและการดูแลรักษา (ภวพล, 2559)

1. วัสดุปลูก กระจบองเพชรต้องการความชื้นแต่ไม่แฉะ ควรใช้วัสดุปลูกที่โปร่ง ระบายน้ำได้ดีและสามารถเก็บความชื้นได้ดี ที่นิยมใช้ในเมืองไทยคือ กาบมะพร้าวสับ หินภูเขาไฟ และถ่าน วัสดุต่างๆนี้ สามารถดูดซับน้ำ และเก็บความชื้นได้ดี ไม่แฉะเกินไป

2. ภาชนะปลูก ควรปลูกในกระถางพลาสติก หรือกระถางดินเผา

3. แสงแดด กระจบองเพชรนั้นเป็นพืชที่ต้องการแสงแดดจัด แต่ไม่จำเป็นต้องทั้งวันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์นั้นๆ ถ้าหากได้รับแสงแดดน้อยเกินไปลำต้นจะยืดยาวไม่สมบูรณ์

2.1.5 ประโยชน์ของกระจบองเพชร (ยุพดี, 2561)

1. สารสกัดจากลำต้นช่วยลดอาการเมาค้าง และลดน้ำหนัก

2. หนามของกระจบองเพชรสามารถดูดรังสีจากโทรทัศน์ และคอมพิวเตอร์ได้

3. ผลสามารถนำไปทำเป็นอาหารได้ เช่น แยม หรือรับประทานสด

2.1.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแมมมิลลาเรีย (ภูเขา, 2553)

1. ดิน เป็นแหล่งธาตุอาหารที่สำคัญของพืช ลักษณะของดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกระจบองเพชรคือ สามารถระบายน้ำได้ดี ไม่สะสมความชื้น เพราะแมมมิลลาเรียเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ทำคอนข้างเนางาย ถ้าดินชื้นสะสมติดต่อกันนาน
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. น้ำ ช่วยลำเลียงธาตุอาหารจากดินขึ้นสู่ต้นพืช เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์แสง ช่วยระบายความร้อนออกจากต้นพืช และมีส่วนร่วมในปฏิกิริยาเคมีของพืช
3. แสงแดด อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ลม ปริมาณน้ำฝน ปัจจัยด้านลมฟ้าอากาศมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นพืช
4. ธาตุอาหาร ธาตุอาหารแต่ละชนิดมีผลต่อการเจริญเติบโตของแมมมิลลาเรียที่แตกต่างกันไป เช่น ธาตุไนโตรเจนช่วยในการแตกปมหนาม ธาตุสังกะสีช่วยในการสร้างคลอโรฟิลล์และสังเคราะห์แสง เป็นต้น
5. สายพันธุ์แมมมิลลาเรียและความสมบูรณ์ของดิน การเจริญเติบโตของต้นและฝักจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์หรือชนิดของกระบองเพชร ความสมบูรณ์ของต้นเกิดจากการจัดการหรือการดูแลจากมนุษย์มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช
6. โรคและแมลงศัตรู แมมมิลลาเรียเป็นพืชที่มีโรคและแมลงศัตรูมากมายหลายชนิด เช่น โรคราสนิม สาเหตุมาจากการที่ประเทศไทยนั้นมีอากาศร้อนชื้นจึงอาจถูกรบกวนจากแมลงและโรคพืชได้ง่าย

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นการเพาะเลี้ยงส่วนต่างๆของพืชในอาหารสังเคราะห์ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ โดยชิ้นส่วนพืชสามารถเจริญในอาหารสังเคราะห์เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมได้ เช่น อุณหภูมิ แสงสว่าง และความชื้น ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาเพื่อให้ได้ต้นพืชเป็นจำนวนมาก โดยปัจจัยที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดชิ้นส่วนอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และสภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง เป็นต้น

2.2.1 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิดขึ้นอยู่กับความเหมาะสมต่อชนิดของพืช พันธุ์พืช และสภาพของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเลี้ยง โดยในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประกอบด้วยธาตุอาหารที่พืชต้องการ คือ สารประกอบอนินทรีย์และสารประกอบอินทรีย์ แม้ต้นพืชนั้นมีความต้องการในการเจริญเติบโตไม่ซับซ้อนมาก แต่การนำชิ้นส่วนของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ทำให้พืชมีความต้องการธาตุอาหารและสารจำเป็นบางชนิดที่มีความซับซ้อน (รังสฤษฏ์, 2540; ประศาสตร์, 2538) อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประกอบด้วยหลายปัจจัย ดังนี้

2.2.1.1 องค์ประกอบของอาหาร (บุญยีน, 2544; รังสฤษฏ์, 2540; ศิวพงศ์, 2546; อนุรักษ์, 2550)

2.2.1.1.1 สารอนินทรีย์ ได้แก่ แร่ธาตุอาหารต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ แร่ธาตุอาหารหลัก ได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และซัลเฟอร์ แร่ธาตุเหล่านี้พืชต้องการนำไปใช้ในปริมาณมากและขาดไม่ได้ แร่ธาตุอาหารรอง แร่ธาตุเหล่านี้พืชต้องการนำไปใช้ในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ เช่น เหล็ก แมงกานีส โคบอลต์ สังกะสี ทองแดง โมลิบดีนัม โบรอน โดยทั่วไปพืชต้องการแร่ธาตุอาหารรองไปใช้ในปริมาณน้อยกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำที่เป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในอาหารเพาะเลี้ยง 95 เปอร์เซ็นต์ นิยมใช้น้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.1.2 สารอินทรีย์ เป็นสารอาหารที่พืชสามารถสร้างเองได้ แต่ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พืชที่มีขนาดเล็กเกินไปจะไม่สามารถสร้างสารอินทรีย์ขึ้นเองได้ จึงจำเป็นต้องเสริมเพื่อช่วยให้เกิดต้นอ่อนเพิ่มมากขึ้น

1) คาร์โบไฮเดรต เป็นแหล่งของคาร์บอนที่สำคัญในการให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อพืช เช่น น้ำตาลซูโครส ใช้ในปริมาณ 20-40 กรัม หรือ 2-4 เปอร์เซ็นต์

2) วิตามิน พืชสามารถสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้ แต่พืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาจมีขนาดเล็กและเป็นส่วนที่ไม่สร้างวิตามินได้ จึงต้องการวิตามินบางชนิดเพิ่ม เช่น ไทอะมีน ไบโอฟลาวิน ไบโอติน เป็นต้น

3) กรดอะมิโน สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชได้เป็นอย่างมากโดยกรดอะมิโนมีประมาณ 20 ชนิด และใช้ในปริมาณที่แตกต่างกัน กรดอะมิโนที่เติมลงไป ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะอยู่ในรูปของ L มากกว่าในรูปของ D

4) สารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นสารที่พืชสามารถสร้างได้ และเป็นสารสังเคราะห์ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพืช มักนิยมใช้ 2 กลุ่มคือ

- ออกซิน (auxin) สามารถชักนำการยึดของลำต้นและปล้อง การโค้งงอเข้าหาสิ่งเร้า ยับยั้งการเจริญของตาข้าง เร่งการเกิดราก ทำให้เกิดการร่วงของใบ ดอก และผล เป็นต้น ออกซินที่นิยมใช้ได้แก่ Indole-3-acetic acid (IAA) เป็นสารที่พืชสามารถสังเคราะห์เองได้ 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) Naphthalene acetic acid (NAA) และ Indole-3-butyric acid (IBA) เป็นสารเคมีสังเคราะห์ โดย IBA และ NAA กระตุ้นการแบ่งเซลล์ ทำให้เซลล์ยึดตัว และชักนำรากได้ดีกว่า IAA ส่วน 2,4-D ใช้เพื่อชักนำแคลลัส เมื่อใช้ออกซินความเข้มข้นต่ำสามารถชักนำการเจริญเติบโตได้ดี แต่ออกซินความเข้มข้นสูงเกินไปจะยับยั้งการเจริญเติบโต ความเข้มข้นของออกซินที่นิยมใช้คือ 0.001-10 มิลลิกรัมต่อลิตร

- ไซโตไคนิน (cytokinin) มีผลต่อการแบ่งเซลล์ กระตุ้นการเจริญของตาข้าง ควบคุมการงอกของเมล็ด ทำให้ใบร่วง และกระตุ้นการเจริญเป็นหน่อเล็กๆ (adventitious shoots) จากส่วนของแคลลัสหรือชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง ไซโตไคนินที่นิยมใช้ คือ ซีเอติน (zeatin) Benzylaminopurine (BAP) isopentonyl adenine (2iP) และ ไคเนติน (kinetin : Kn) ความเข้มข้นของไซโตไคนินที่นิยมใช้คือ 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร Tilkat และคณะ 2005 กล่าวว่า การใช้ BAP จะสามารถเร่งการเจริญเติบโตได้ดีกว่า Kn ซึ่งความเข้มข้นของ BAP ที่เหมาะสม คือ 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร และในบางชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BAP จะเกิดแคลลัสที่ฐานของยอดในบริเวณที่สัมผัสกับอาหาร

5) สารอื่นๆ เช่น น้ำมะพร้าวช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ได้ สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งวิตามิน คาเซอินไฮโดรไลเสต และวุ้นช่วยในการยึดเกาะของเนื้อเยื่อพืช โดยปกติใช้ความเข้มข้นประมาณ 1.25-2.60 เปอร์เซ็นต์

2.2.1.2 ความเป็นกรดและด่างของอาหาร (pH)

ค่า pH ที่นิยมใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมักอยู่ในช่วง pH 5.0-6.0 ถ้า pH สูงหรือต่ำเกินไปการเจริญของพืชอาจชะงัก โดยทั่วไปการตอบสนองของพืชมักไม่ไวต่อการไม่วางกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลง pH ในช่วงเวลาสั้น แต่อาจมีผลต่อการเจริญของพืชเมื่อเจริญมาได้ในระยะหนึ่ง นอกจากนี้ pH ยังส่งผลต่อลักษณะของอาหารเพาะเลี้ยง เช่น pH ต่ำเกินไป จะทำให้สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA และจิบเบอเรลลินสลายง่าย วัณไม่แข็งตัวพืชดูดซึมน้ำเกลือฟอสเฟตและเหล็กไม่ได้ถ้าในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีค่า pH สูงหรือต่ำเกินไป จะปรับ pH โดยใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์หรือกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1-10 โมลาร์ (รังสฤษฏ์, 2540)

2.2.1.3 สูตรอาหารสังเคราะห์ (ศิวพงศ์, 2546; มาลี และคณะ, 2549)

2.2.1.3.1 อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS, 1962) ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้เกือบทุกชนิด เหมาะสำหรับการเพาะปลูกพืชล้มลุกที่ยังหาสูตรอาหารที่เหมาะสมไม่ได้ และใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงในขั้นแรก

2.2.1.4 การฆ่าเชื้อในอาหาร

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะผ่านการฆ่าเชื้อโดยการกรองหรือหม้อนึ่งความดันไอน้ำ โดยเทคนิคที่นิยมมากที่สุดจะใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หากให้อุณหภูมิที่สูงมากเกินไป เมื่อนึ่งฆ่าเชื้ออาหารจะทำให้น้ำตาลซูโครสที่รวมกับองค์ประกอบอื่นในอาหารเกิดเป็นสีน้ำตาล (browning) ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์พืชได้ (ศิวพงศ์, 2546)

2.2.2 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

การฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อเยื่อพืชเป็นขั้นตอนที่ช่วยในการขจัดสิ่งสกปรกและเชื้อจุลินทรีย์ออกจากผิวของเนื้อเยื่อไม่ให้มีการเจริญเติบโตและทำให้เกิดความเสียหายแก่เนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยง โดยการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น ชิ้นส่วนพืชทั้งภายนอกและภายใน อาหารเพาะเลี้ยง สภาพที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง และจากผู้ปฏิบัติกรทำให้เกิดการปนเปื้อนของชิ้นส่วนพืช โดยทั่วไปควรใช้สารที่มีความเข้มข้นต่ำที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมในการทำลายสิ่งปนเปื้อนได้ ซึ่งการขจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากชิ้นส่วนพืชที่มีขนหรือผิวขรุขระทำได้ยาก (ศิวพงศ์, 2546; รังสฤษฏ์, 2540) จึงอาจใช้สารฟอกฆ่าเชื้อหลายชนิดรวมกันได้ โดยสารฟอกฆ่าเชื้อที่ใช้ทั่วไปมีดังนี้

2.2.2.1 โซเดียมไฮโปคลอไรด์หรือคลอโรกซ์ (sodium hypochlorite, chlorox) ความเข้มข้น 0.5-5 เปอร์เซ็นต์

2.2.2.2 สารเปียกใบหรือสารจับใบ (surfactant) เติมนลงในน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อ เพื่อช่วยทำลายฟองอากาศ เช่น สบู์เหลว น้ำยาล้างจาน หรือทวิน-20 (tween-20) ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ หรือ 1-2 หยด

2.2.2.3 เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์

2.2.2.4 เซฟโทแทกซิม (cefotaxime) ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะชนิดอื่น เพื่อกำจัดแบคทีเรียของไม้ยืนต้นบางชนิด และยังพบว่าสารปฏิชีวนะเซฟโทแทกซิมสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของแคลลัสและการชักนำให้เกิดเอ็มบริโอ (สรีรักษ์, 2547)

2.2.2.5 ยาปฏิชีวนะ (antibiotic antimycotic solution [100X]) ประกอบด้วย เพนนิซิลิน 10,000 หน่วยต่อมิลลิลิตร สเตรปโทไมซิน 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ แอมโฟเทอริซิน บี 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เพื่อกำจัดแบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับครูผู้จัดทำไว้เพื่อใช้ประกอบการเรียนการสอนในชั้นเรียน ไม่สามารถนำเอกสารนี้ไปเผยแพร่หรือใช้ซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Martinez. *et al.* (1989) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของกระบองเพชรสายพันธุ์ *M. haageana* *M. san-angelensis* *M. san-angelensis* และ *M. haageana* มีความคล้ายคลึงกัน ผลที่ได้จะมาจาก 2 ปัจจัย คือ BAP และ NAA พบว่าแคลลัสเกิดขึ้นน้อยมาก แต่ได้ยอดหลายยอด โดยลักษณะยอดที่เกิด มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ BAP และ NAA โดยจะมียอดแตกออกมาจากตาข้างเท่านั้นโดยยอดที่เกิดมีจำนวนมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี BAP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างเดียว BAP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร

Maria. *et al.* (2001) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria elongate* จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตุ่มหนามบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1.07 5.37 และ 26.85 ไมโครโมลาร์ และ BAP ความเข้มข้น 11.09 22.19 และ 44.79 ไมโครโมลาร์ และเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่กลายพันธุ์ (crystate form) บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0 0.54 และ 1.04 ไมโครโมลาร์ และ BAP ความเข้มข้น 0 0.44 และ 0.89 ไมโครโมลาร์ จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตุ่มหนาม พบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BAP ความเข้มข้น 1.07 และ 22.19 ไมโครโมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด และจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่กลายพันธุ์ (crystate form) พบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BAP ความเข้มข้น 0.54 และ 0.44 ไมโครโมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด

Giusti. *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาการขยายพันธุ์กระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria pectinifera* โดยทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อลำต้น มีการทดสอบ 2 อย่างคือ การเกิดยอดและการเกิดแคลลัส ทดสอบการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิดคือ NAA ความเข้มข้น 0 0.05 0.54 ไมโครโมลาร์ และ TDZ ความเข้มข้น 0.23 2.27 ไมโครโมลาร์ ทดสอบการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0 2.27 และ 4.54 ไมโครโมลาร์ จากการทดสอบการเกิดยอด พบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญ NAA และ TDZ ความเข้มข้น 0.05 และ 2.27 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการเกิดยอดมากที่สุด และจากการทดสอบการชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 2.27 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด

Malagon (2007) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria* 10 สายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของต้นบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0 5.70 11.42 และ 22.83 ไมโครโมลาร์ กับ Kn ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0 4.60 13.94 27.88 และ 46.50 ไมโครโมลาร์ ผลที่ดีที่สุดในการเกิดยอดคือ อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย Kn และ IAA ที่ความเข้มข้น 27.88 และ 46.50 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ใน *M. bocasana*

M. densispina *M. hahniana* *M. hutchisoniana* *M. orcutii* *M. pectinifera* *M. perbella* *M. picta* *M. rhodantha* และ *M. Zephyranthoides* ขึ้นอยู่กับ IAA ที่ทดสอบ ค่าเฉลี่ยการเกิด

ไม่ต่างกันแต่ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุผลและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยอดจากการเพาะเลี้ยงด้วย IAA ความเข้มข้น 5.7 หรือ 11.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 46.5 ไมโครโมลาร์ โดยจะเกิดยอด 4.8 และ 4.7 ยอดต่อชิ้น ตามลำดับ

Oscar. et al. (2010) ทำการศึกษากระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria mathildae* ในหลอดทดลอง มีการทดสอบ 3 อย่าง ได้แก่ ยอด ตาข้าง และรากของต้นเดิมที่เลี้ยงในหลอดทดลอง แล้วเลี้ยงในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย BAP ความเข้มข้น 0 22.19 44.39 ไมโครโมลาร์ และ IAA ความเข้มข้น 0 1.43 2.85 5.71 ไมโครโมลาร์ โดยการพัฒนาของแคลลัสมีดังนี้ อาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตมีอัตราการเกิดยอดใหม่จากราก 0.59 ± 0.11 ยอดและตาข้างมีร้อยละการเกิดยอดใหม่ 1.14 ± 0.07 และ 4.09 ± 0.13 ตามลำดับ การศึกษาพัฒนาการของราก ใช้อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0 4.9 9.8 19.7 และ 29.5 ไมโครโมลาร์ โดยใช้ต้นอ่อนที่ได้จากตาข้าง 15 ต้น ต้นอ่อนที่เกิดจากการพัฒนามาจากตาข้างจะมีรากที่แข็งแรงในระยะเวลา 2 เดือน ต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร จะมีความยาวรากเฉลี่ยยาวที่สุด คือ 6.99 ± 0.12 เซนติเมตร

Omar. et al. (2018) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองสำหรับกระบองเพชรที่ใกล้สูญพันธุ์ ได้แก่ *Mammillaria hernandezii* M. *Dixanthocentron* และ *M. Lanata* โดยจะใช้จากต้นกล้าในหลอดทดลอง โดยมีการประเมิน 3 ประเภท ได้แก่ ปลายยอด ราก และตาข้าง จะทำการเลี้ยงในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย BAP Kn และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.4 1.1 2.2 4.4 และ 8.9 ไมโครโมลาร์ การงอกใหม่จะอยู่ที่ส่วนของตาข้างเป็นหลัก ใน *M. hernandezii* จะมีการสร้างยอดเฉลี่ย 7.4 ยอด บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 2.2 ไมโครโมลาร์ *M. dixanthocentron* และ *M. Lanata* เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่มี mT ความเข้มข้น 1.1 ไมโครโมลาร์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 16.7 และ 17.9 ยอด ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 พืชที่ใช้ในการศึกษา

เมล็ดกระของเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* ที่ได้รับความอนุเคราะห์มาจาก สุธาภัสสร อ่วมมงคล และอิสสรราชัย เพชรดี

3.2 สารเคมีและอุปกรณ์

3.2.1 สารเคมี

- อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog, 1962 (MS)
- 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)
- N6-benzylaminopurine (BAP)
- Thidiazuron (TDZ)
- Indole-3-butyric acid (IBA)
- Kinetin (Kn)
- *meta*-Topolin (*mT*)
- เจลแลนกันัม (gellan gum)
- น้ำตาลซูโครส (sucrose)
- กรดไฮโดรคลอริก (0.5 N) (hydrochloric acid)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (1 N) (sodium hydroxide)
- ไฮเตอร์ (Haiter)
- น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว (double-distilled water)
- เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ (70% ethylalcohol)
- เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (95% ethylalcohol)
- สารลดแรงตึงผิว (Tween-20)

3.2.2 อุปกรณ์

- เครื่องชั่ง (balance)
- เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter)
- เตาอบความร้อน (hot air oven)
- หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
- เตาอบไมโครเวฟ (microwave)
- กระจกบอทดวง (graduated)
- ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture bottle)
- ช้อนตักสาร (spatula)
- อลูมิเนียมฟอยล์ (aluminium foil)
- ไมโครปิเปต (micropipette)
- ไมโครปิเปตทิป (micropipette tips)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปิเปตแก้ว (pipette)
- ลูกยางปิเปต (pipette bulb)
- ปากคีบ (forcep)
- มีดผ่าตัด (scalpel)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (burner)
- ไฟแช็ค (lighter)
- กระดาษทิชชู (tissue)
- ทิปขนาดต่างๆ (tips)
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow)
- หลอดไมโครเซนตริฟิว ขนาด 1.5 มิลลิลิตร (microcentrifuge tube 15 mL)
- เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (vernier calipers)
- กล้องถ่ายรูป (camera)

3.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.3.1 การศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ด *Mammillaria nivosa*

นำเมล็ดมาล้างน้ำเพื่อกำจัดฝุ่นและสิ่งสกปรกต่างๆออก จากนั้นนำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างกันคือ 95 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Philip (1990) 95 เปอร์เซ็นต์ 30 วินาที และ 70 เปอร์เซ็นต์ 5 วินาที จากนั้นฟอกด้วยไฮเตอร์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ที่หยดทวิน-20 1-2 หยดเป็นเวลา 3 นาที 2 ครั้ง และล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที จากนั้นวางลงบนเพลทหรือจานกระดาษแล้วทิ้งให้แห้งสนิท เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ทำการเพาะเลี้ยงวิธีละ 4 ขวด ขวดละ 2 เมล็ด ในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส สังเกตและบันทึกผลการปนเปื้อนและการงอกของเมล็ด คำนวณหาร้อยละการปนเปื้อนและร้อยละการงอก โดยสามารถคำนวณได้โดย

$$\text{ร้อยละการปนเปื้อนของเมล็ด คำนวณได้จาก : } \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่ปนเปื้อน}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{ร้อยละการงอกของเมล็ด คำนวณได้จาก : } \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.3.2 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ดจากฝักอ่อน

นำเมล็ดของ *M. nivosa* ที่ได้จากฝักอ่อนที่มีอายุประมาณ 2 สัปดาห์ มีลักษณะเป็นทรงกรวยมีสีแดงอมชมพู เมล็ดด้านในจะมีสีน้ำตาลอ่อน ล้างด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ 5 วินาที จากนั้นล้างด้วยไฮเตอร์ไฮโปคลอไรต์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่หยดทวิน-20 1-2 หยด เป็นเวลา 3 นาที 2 ครั้ง และล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที จากนั้นวางลงบนเพลทหรือจานกระดาษแล้วทิ้งให้แห้งสนิท เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ BAP mT และ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปราศจากสารควบคุมการเจริญเป็นตัวควบคุม น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเจลแลนกัม 2.6 กรัมต่อลิตร แล้วปรับค่า pH ให้เท่ากับ 5.6-5.8 จากนั้นทำการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยทำการทดลองขวดละ 2 เมล็ด จำนวน 2 ซ้ำ ในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง ยกเว้น 2,4-D เพาะเลี้ยงที่สภาวะปราศจากแสง ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียสเซลเซียส บันทึกการเจริญเติบโตโดยวัดขนาดโดยใช้เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ วัดในหน่วย ลูกบาศก์มิลลิเมตร (ความกว้าง × ความยาว × ความสูง) และร้อยละการงอกของเมล็ด ทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นนำค่ามาคำนวณปริมาตรเฉลี่ย และนำค่าที่คำนวณเฉลี่ยแล้วมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS Version 24 โดยสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{ร้อยละการงอกของเมล็ด} \quad \text{คำนวณได้จาก} : \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.3)$$

$$\text{ขนาดเฉลี่ยของต้น} \quad \text{คำนวณได้จาก} : \frac{\text{ความกว้าง} \times \text{ความยาว} \times \text{ความสูง ของต้นที่เกิด}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เกิดต้น}} \quad (3.4)$$

(ลูกบาศก์มิลลิเมตร)

3.3.3 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ด

นำเมล็ดของ *M. nivosa* ที่ได้จากฝักแก่ที่มีอายุประมาณ 2 เดือน มีลักษณะเป็นทรงกรวยมีสีแดงส้ม เมล็ดด้านในจะมีสีน้ำตาลเข้ม มาล้างด้วยแอลกอฮอล์ที่ 70 เปอร์เซ็นต์ 5 วินาที จากนั้นล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่หยดทวิน-20 1-2 หยด เป็นเวลา 3 นาที 2 ครั้ง และล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที จากนั้นวางลงบนเพลทหรือจานกระดาษแล้วทิ้งให้แห้งสนิท เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ BAP *mT* และ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเจลแลนกัม 2.6 กรัมต่อลิตร แล้วปรับค่า pH ให้เท่ากับ 5.6-5.8 จากนั้นทำการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยทำการทดลองขวดละ 3 เมล็ด จำนวน 11 ซ้ำ ในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง ยกเว้น 2,4-D เพาะเลี้ยงที่สภาวะปราศจากแสง ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียสเซลเซียส บันทึกการเจริญเติบโตโดยวัดขนาดโดยใช้เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ วัดในหน่วยลูกบาศก์มิลลิเมตร (ความกว้าง × ความยาว × ความสูง) และร้อยละการงอกของเมล็ด ทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นนำค่ามาคำนวณปริมาตรเฉลี่ย และนำค่าที่คำนวณเฉลี่ยแล้วมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS Version 24 โดยสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{ร้อยละการงอกของเมล็ด} \quad \text{คำนวณได้จาก} : \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.5)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ขนาดเฉลี่ยของต้น} \quad \text{คำนวณได้จาก :} \quad \frac{\text{ความกว้าง} \times \text{ความยาว} \times \text{ความสูง ของต้นที่เกิด}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เกิดต้น}} \quad (3.6)$$

(ลูกบาศก์มิลลิเมตร)

3.3.4 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำรากจากต้นอ่อน

นำต้น *M. Nivosa* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดจากฝักแก่บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต อายุประมาณ 8 สัปดาห์ ตัดส่วนที่เป็นเส้นรากออก จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเจลแลนกัม 2.6 กรัมต่อลิตร แล้วปรับค่า pH ให้เท่ากับ 5.6-5.8 จากนั้นทำการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หุ้มด้วยกระดาษพอยล์ โดยทำการทดลองขวดละ 1 ต้น จำนวน 4 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส บันทึกการเจริญเติบโตของรากโดยวัดขนาดโดยใช้เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ วัดในหน่วยมิลลิเมตร และสังเกตลักษณะที่เปลี่ยนแปลง ทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งตัดแปลงจากการทดลองของ Oscar (2010) จากนั้นนำค่ามาคำนวณความยาวเฉลี่ย และนำค่าที่คำนวณเฉลี่ยแล้วมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS Version 24 โดยสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{ร้อยละการเกิดราก} \quad \text{คำนวณได้จาก :} \quad \frac{\text{จำนวนรากที่งอก}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.7)$$

$$\text{ความยาวเฉลี่ยของราก} \quad \text{คำนวณได้จาก :} \quad \frac{\text{ความยาวของรากที่เกิด}}{\text{จำนวนราก}} \quad (3.8)$$

(มิลลิเมตร)

3.3.5 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำขึ้นส่วนของลำต้นให้เกิดยอด

นำต้น *M. nivosa* จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอายุ 1 ปี มาตัดบริเวณที่ติดกับยอด และรากออก นำส่วนที่อยู่บริเวณตรงกลางมาตัดเป็นชิ้น ขนาดประมาณ 0.2 เซนติเมตร นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ BAP *mT*, 2,4-D Kn และ IBA ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเจลแลนกัม 2.6 กรัมต่อลิตร แล้วปรับค่า pH ให้เท่ากับ 5.6-5.8 จากนั้นทำการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยทำการทดลองขวดละ 1 ชิ้น จำนวน 2 ซ้ำ

ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง ยกเว้น 2,4-D เพาะเลี้ยงที่สภาวะปราศจากแสง ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส บันทึกการเจริญเติบโตโดยวัดขนาดโดยใช้เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ วัดในหน่วย ลูกบาศก์มิลลิเมตร (ความกว้าง \times ความยาว \times ความสูง) และสังเกตลักษณะที่เปลี่ยนแปลง ทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งดัดแปลงจากการทดลองของ Giusti (2002); Torres (2018) จากนั้นนำค่ามาคำนวณปริมาณเฉลี่ย และนำค่าที่คำนวณเฉลี่ยแล้วมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS Version 24 โดยสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{ร้อยละการเกิดยอด} \quad \text{คำนวณได้จาก : } \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.9)$$

$$\text{ร้อยละการเกิดแคลลัส} \quad \text{คำนวณได้จาก : } \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.10)$$

$$\text{ขนาดเฉลี่ยของ} \quad \text{คำนวณได้จาก : } \frac{\text{ความกว้าง} \times \text{ความยาว} \times \text{ความสูง ของแคลลัสที่เกิด}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เกิดแคลลัส}} \quad (3.11)$$

แคลลัส
(ลูกบาศก์มิลลิเมตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปราย

4.1 ศึกษาสูตรที่เหมาะสมสำหรับการพอกฆ่าเชื้อเมล็ด *Mammillaria nivosa*

จากการทดลองพอกฆ่าเชื้อเมล็ดของ *Mammillaria nivosa* โดยใช้แอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างกันคือ 95 เปอร์เซ็นต์ เวลา 1 นาที (วิธีที่ A) 95 เปอร์เซ็นต์ 30 วินาที (วิธีที่ B) และ 70 เปอร์เซ็นต์ 5 วินาที (วิธีที่ C) วิธีละ 4 ขวด ขวดละ 2 เมล็ด เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาร้อยละการปนเปื้อนและร้อยละการงอกของเมล็ด *Mammillaria nivosa* พบว่าทั้ง 3 วิธีมีประสิทธิภาพในการพอกฆ่าเชื้อเท่ากันทั้ง 3 วิธี (ตารางที่ 4.1) และวิธีที่ใช้แอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ 5 วินาที (วิธีที่ C) ส่งเสริมการงอกของเมล็ดได้ดีที่สุดที่ร้อยละการงอกของเมล็ดเท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 แสดงร้อยละการปนเปื้อน และร้อยละการงอกของเมล็ดจากการพอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกัน เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์

วิธีการพอกฆ่าเชื้อ	จำนวนเมล็ดที่ปนเปื้อน (ร้อยละ)	จำนวนเมล็ดที่งอก (ร้อยละ)
แอลกอฮอล์ 95 % 1 นาที (A)	0 (0)	0 (0)
แอลกอฮอล์ 95 % 30 วินาที (B)	0 (0)	3 (38)
แอลกอฮอล์ 70 % 5 วินาที (C)	0 (0)	6 (75)



รูปที่ 4.1 แสดงร้อยละการงอกของเมล็ด *Mammillaria nivosa* จากการพอกฆ่าเชื้อวิธีที่ต่างกัน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับค่าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ดจากฝักอ่อน

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเมล็ดของ *Mammillaria nivosa* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP และ 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร mT ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP และ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการงอกสูงที่สุดคือร้อยละ 25 (รูปที่ 4.2) และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย mT ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดเฉลี่ยของต้นใหญ่ที่สุด คือ 11.97 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (รูปที่ 4.3 และรูปที่ 4.4G) เมล็ดที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร mT ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP และ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญ โดยเมล็ดที่งอกบนอาหารที่เสริมด้วย mT จะมีขนาดใหญ่และบวมกว่าเมล็ดที่เลี้ยงบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญอื่นๆ เมล็ดที่เลี้ยงในอาหารที่เสริมด้วย TDZ และ BAP ต้นจะมีลักษณะใกล้เคียงกันคือ เป็นวงรีไม่ยาวมาก บนอาหารที่เสริมด้วย BAP ต้นจะมีสีเขียวอ่อน เมล็ดที่เลี้ยงบนอาหารที่เสริมด้วย 2,4-D ต้นจะมีลักษณะยาวเรียวเป็นสีขาว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร mT ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต มีอัตราการงอกสูงที่สุด คือ ร้อยละ 25 (รูปที่ 4.2) และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดเฉลี่ยของต้นใหญ่ที่สุดคือ 23.86 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (รูปที่ 4.3 และรูปที่ 4.5K) เมล็ดมีการงอกใหม่บนอาหารที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญ โดยในทุกสารควบคุมการเจริญเติบโต ต้นจะใหญ่ขึ้นและไม่มีลักษณะเปลี่ยนไปจากเดิม

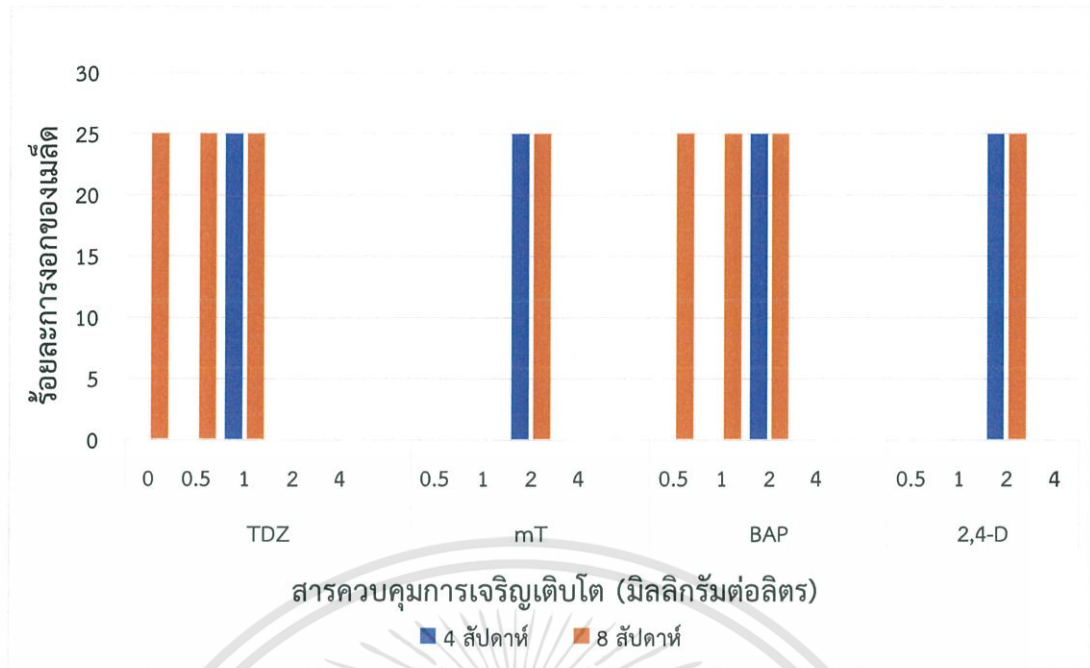
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงร้อยละการงอกของเมล็ด และขนาดเฉลี่ยของต้นจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดจาก ผักอ่อนบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP และ 2,4-D ของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

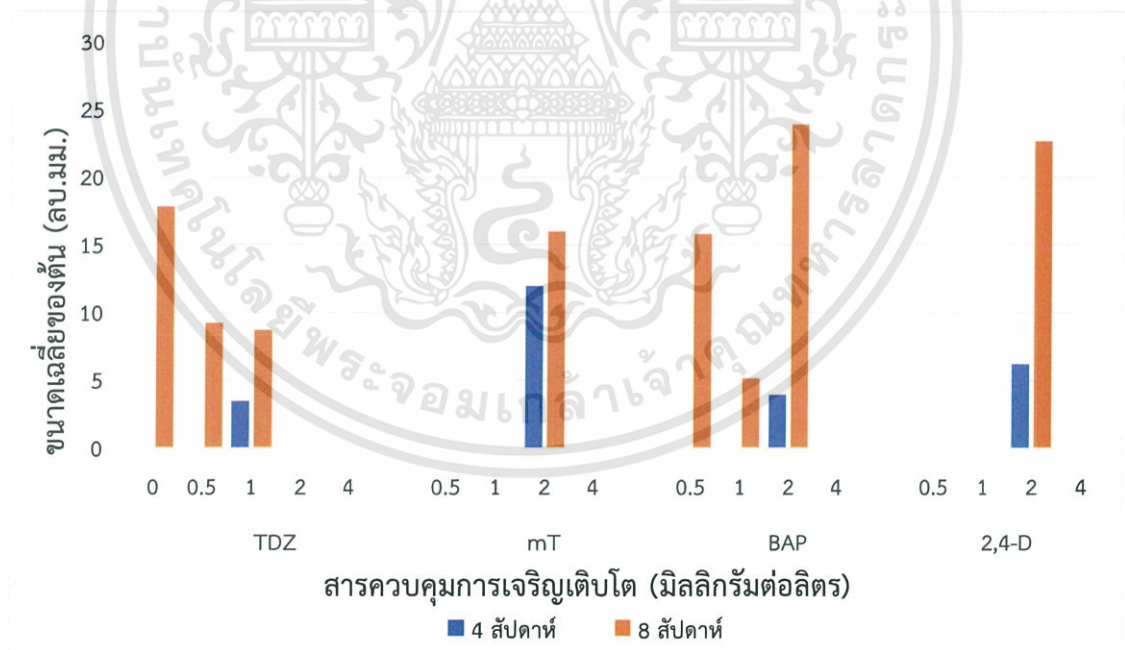
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเมล็ด	4 สัปดาห์		8 สัปดาห์		
		จำนวนเมล็ดที่งอก (ร้อยละ)	ขนาดเฉลี่ยของต้น (ลูกบาศก์ มิลลิเมตร)	จำนวนเมล็ดที่งอก (ร้อยละ)	ขนาดเฉลี่ยของต้น (ลูกบาศก์ มิลลิเมตร)	
Control	0	4	0 (0)	0	1 (25)	17.78 ^a
	0.5	4	0 (0)	0	1 (25)	9.22 ^a
TDZ	1	4	1 (25)	3.46 ^a	1 (25)	8.69 ^a
	2	4	0 (0)	0	0 (0)	0
	4	4	0 (0)	0	0 (0)	0
		0.5	4	0 (0)	0	0 (0)
mT	1	4	0 (0)	0	0 (0)	0
	2	4	1 (25)	11.97 ^a	1 (25)	15.99 ^a
	4	4	0 (0)	0	0 (0)	0
		0.5	4	0 (0)	0	1 (25)
BAP	1	4	0 (0)	0	1 (25)	5.13 ^a
	2	4	1 (25)	3.91 ^a	1 (25)	23.86 ^a
	4	4	0 (0)	0	0 (0)	0
		0.5	4	0 (0)	0	0 (0)
2,4-D	1	4	0 (0)	0	0 (0)	0
	2	4	1 (25)	6.21 ^a	1 (25)	22.65 ^a
	4	4	0 (0)	0	0 (0)	0
		0.5	4	0 (0)	0	0 (0)

หมายเหตุ: ตัวอักษร^{a,b,c,...} เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

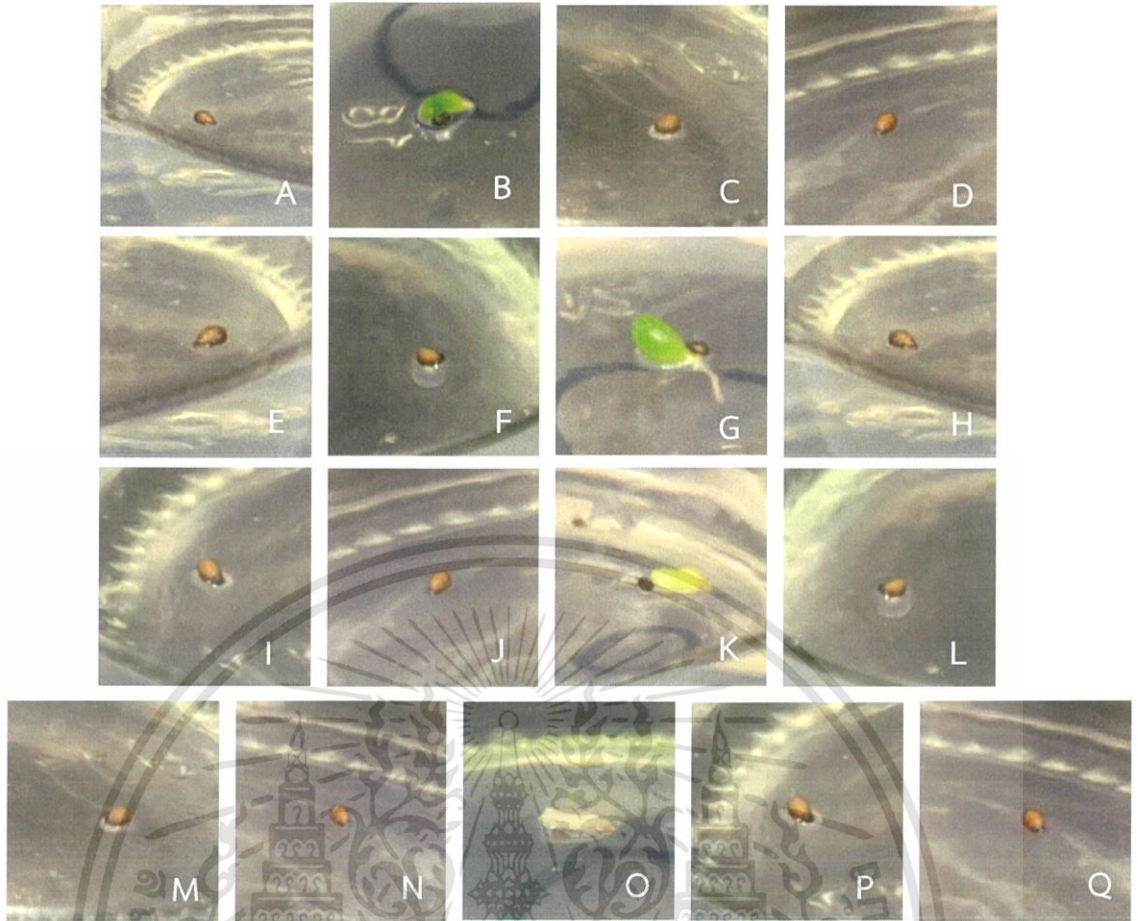


รูปที่ 4.2 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการงอกของเมล็ดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด *Mammillaria nivosa* ของฝักอ่อนบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP และ 2,4-D ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์



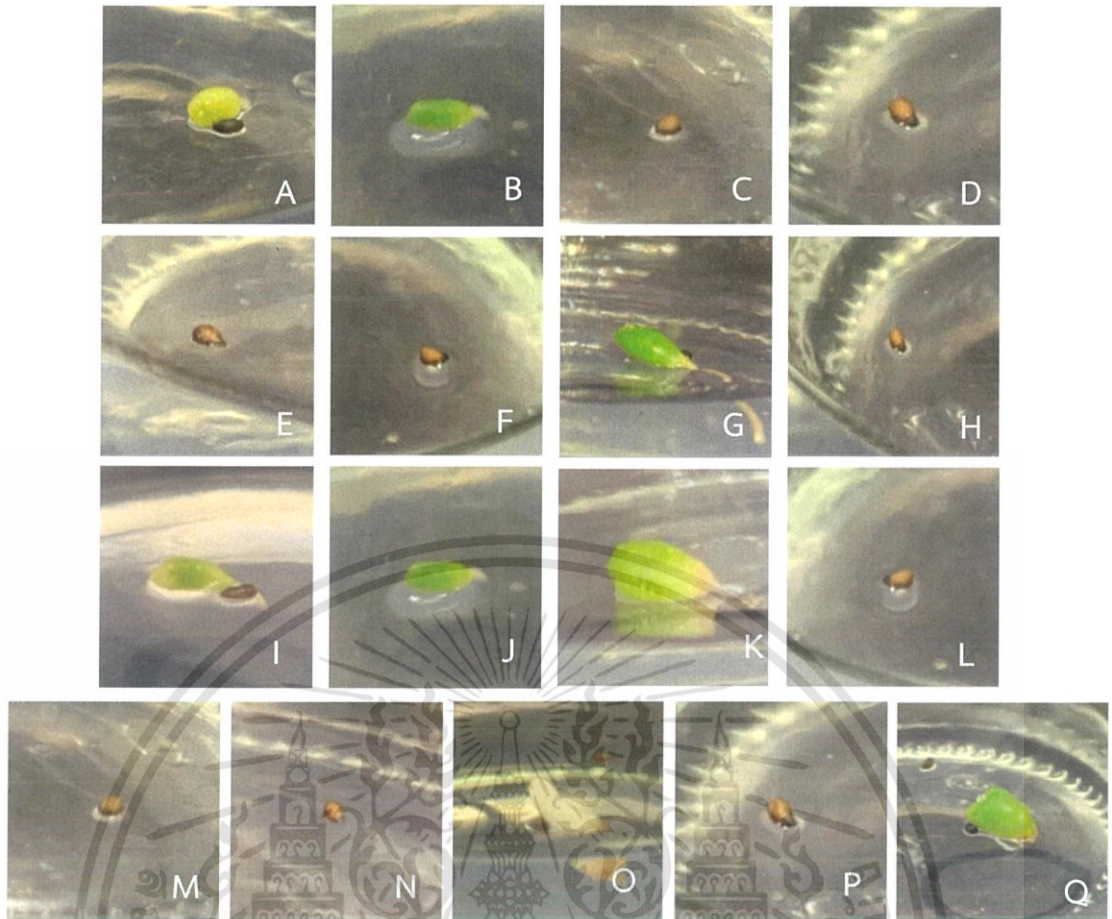
รูปที่ 4.3 แสดงการเปรียบเทียบขนาดเฉลี่ยของต้นจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด *Mammillaria nivosa* ของฝักอ่อนบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP และ 2,4-D ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดขึ้นจากเมล็ดฝักอ่อนของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* ที่ 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) *mT* ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Q) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดต้นจากเมล็ดฝักอ่อนของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* ที่ 8 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) mT ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Q) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ดจากฝักแก่

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเมล็ดของ *Mammillaria nivosa* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ประกอบสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ *mT* BAP และ 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย *mT* ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการงอกสูงที่สุด คือ ร้อยละ 48 (รูปที่ 4.6) และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดเฉลี่ยของต้นสูงที่สุด คือ 33.29 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (รูปที่ 4.7 และรูปที่ 4.8E) เมล็ดที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ *mT* และ BAP มีการเจริญในทุกความเข้มข้น มีลักษณะใกล้เคียงกันเป็นวงรีไม่ยาวมากและมีรากเกิดขึ้นที่อาหารที่เสริมด้วย *mT* และ BAP บนอาหารที่เสริมด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญ เมล็ดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นจะมีสีขาวและมีลักษณะเล็กกว่าสารควบคุมการเจริญอื่นๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย *mT* ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการงอกสูงที่สุด คือ ร้อยละ 55 (รูปที่ 4.6) และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดเฉลี่ยของต้นสูงที่สุด คือ 236.27 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (รูปที่ 4.7 และรูปที่ 4.9A) เมล็ดมีการงอกใหม่ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นมีลักษณะยาวเป็นสีขาวไม่มีราก โดยอาหารที่เสริมด้วย *mT* BAP และที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญจะมีรากมากกว่าอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญอื่น เมล็ดที่เลี้ยงบนอาหารที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นมีลักษณะใหญ่ขึ้นและจับกันเป็นก้อน เมล็ดที่เลี้ยงบนอาหารที่เสริมด้วย *mT* ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นมีลักษณะใหญ่ขึ้นและมีปมหนาม โดยแตกต่างกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 *mT* ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 4.0 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญ

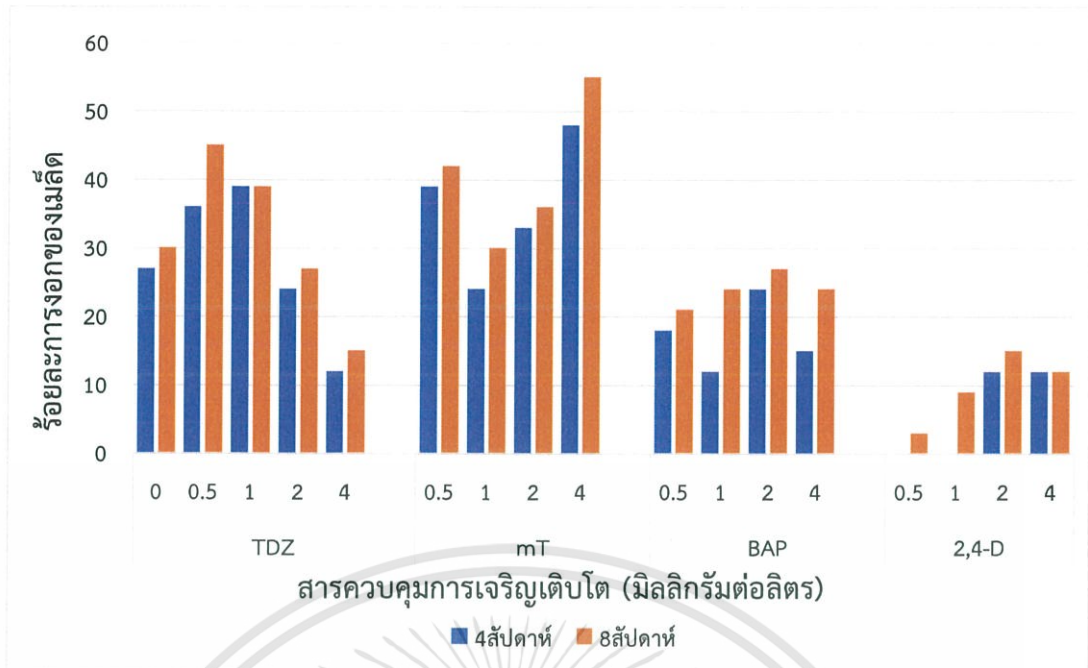
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงร้อยละการงอกของเมล็ด และขนาดเฉลี่ยของต้นจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดคบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP และ 2,4-D ของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

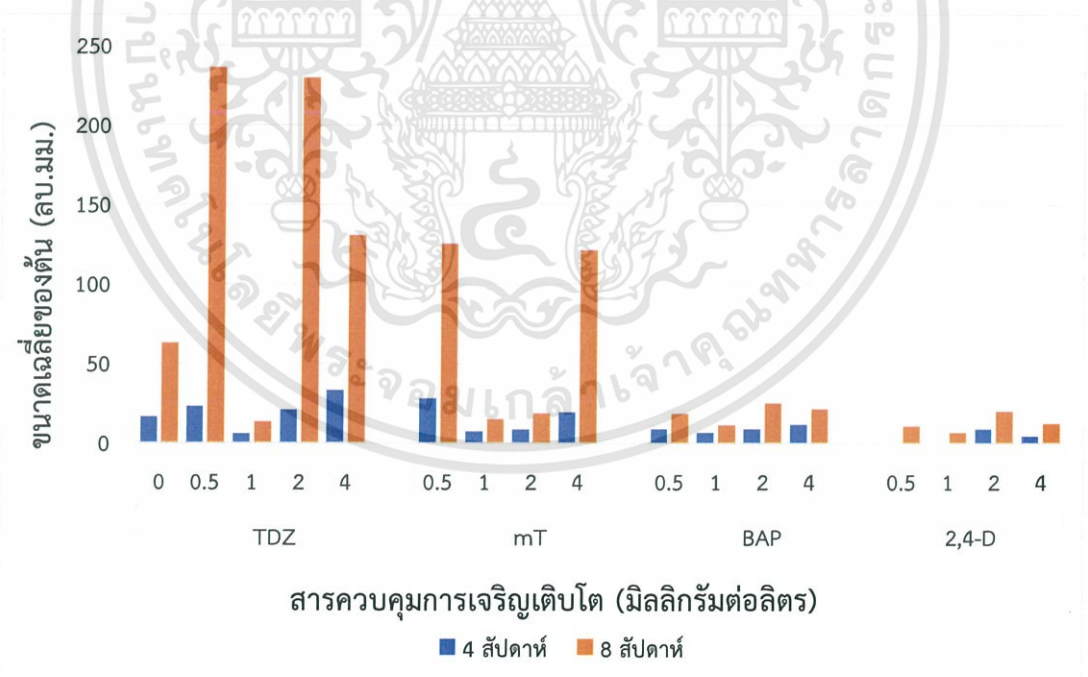
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเมล็ด	4 สัปดาห์		8 สัปดาห์		
		จำนวนเมล็ดที่งอก (ร้อยละ)	ขนาดเฉลี่ยของต้น (ลูกบาศก์ มิลลิเมตร)	จำนวนเมล็ดที่งอก (ร้อยละ)	ขนาดเฉลี่ยของต้น (ลูกบาศก์ มิลลิเมตร)	
Control	0	33	9 (27)	16.24 ^{bcd} ±3.72	10 (30)	62.75 ^{bc} ±25.25
	0.5	33	12 (36)	23.25 ^{abc} ±5.33	15 (45)	236.27 ^a ±91.27
	1	33	13 (39)	6.14 ^{cd} ±0.61	13 (39)	13.44 ^{bc} ±1.97
	2	33	8 (24)	20.85 ^{abc} ±8.22	9 (27)	229.85 ^{ab} ±143.51
	4	33	4 (12)	33.29 ^b ±22.86	5 (15)	130.75 ^{bc} ±74.64
mT	0.5	33	13 (39)	28.31 ^a ±13.32	14 (42)	125.27 ^{abc} ±66.13
	1	33	8 (24)	7.19 ^{cd} ±0.92	10 (30)	15.09 ^c ±1.71
	2	33	11 (33)	8.68 ^{cd} ±2.08	12 (36)	18.74 ^{bc} ±3.48
	4	33	16 (48)	19.34 ^{ab} ±5.84	18 (55)	121.32 ^{ab} ±53.72
	BAP	0.5	33	6 (18)	9.07 ^{cd} ±1.24	7 (21)
1		33	4 (12)	6.55 ^d ±1.17	8 (24)	11.27 ^c ±2.22
2		33	8 (24)	8.95 ^{cd} ±2.37	9 (27)	25.16 ^{bc} ±6.42
4		33	5 (15)	11.59 ^{cd} ±2.37	8 (24)	21.39 ^{bc} ±5.81
2,4-D		0.5	33	0 (0)	0	1 (3)
	1	33	0 (0)	0	3 (9)	6.53 ^c ±2.02
	2	33	4 (12)	9.05 ^d ±1.82	5 (15)	20.25 ^c ±2.72
	4	33	4 (12)	4.76 ^d ±1.21	4 (12)	12.35 ^c ±4.68

หมายเหตุ: ตัวอักษร^{a,b,c,...} เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยที่ได้มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

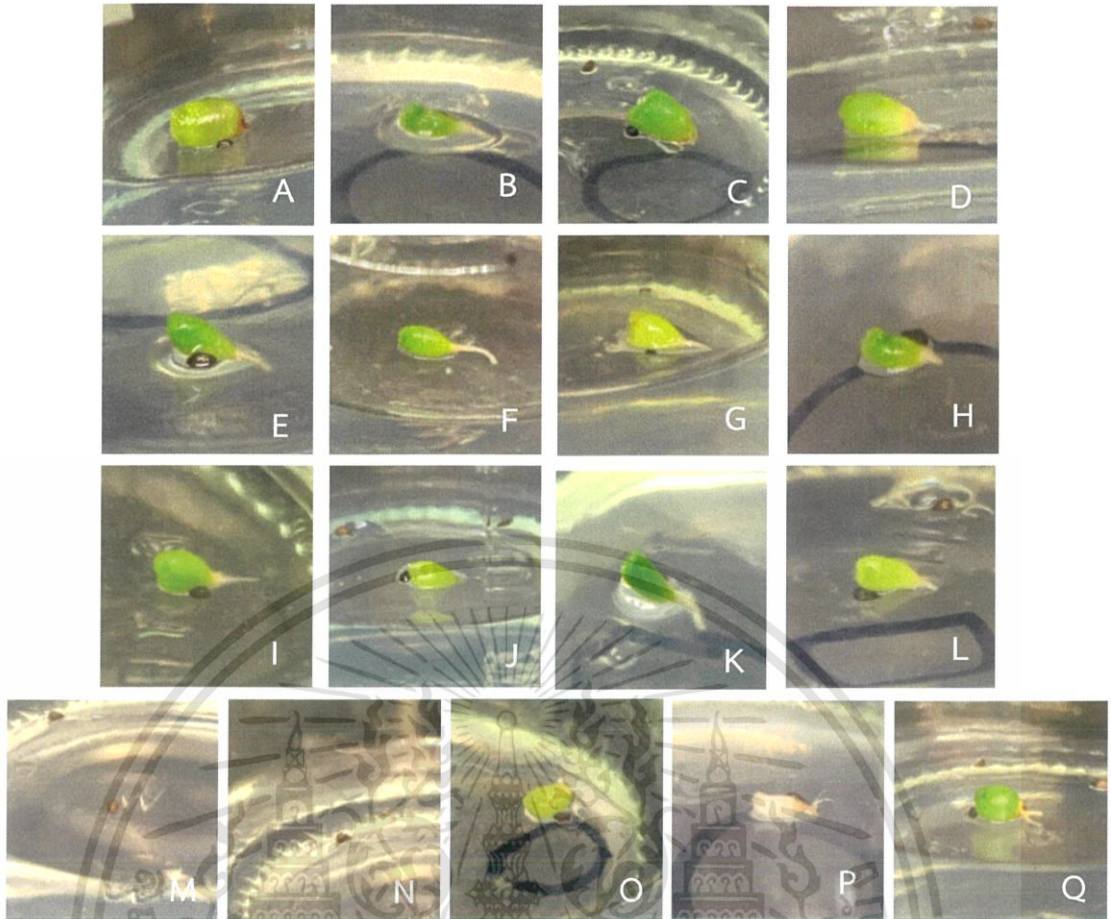


รูปที่ 4.6 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการออกของเมล็ดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด *Mammillaria nivosa* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP และ 2,4-D ความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์



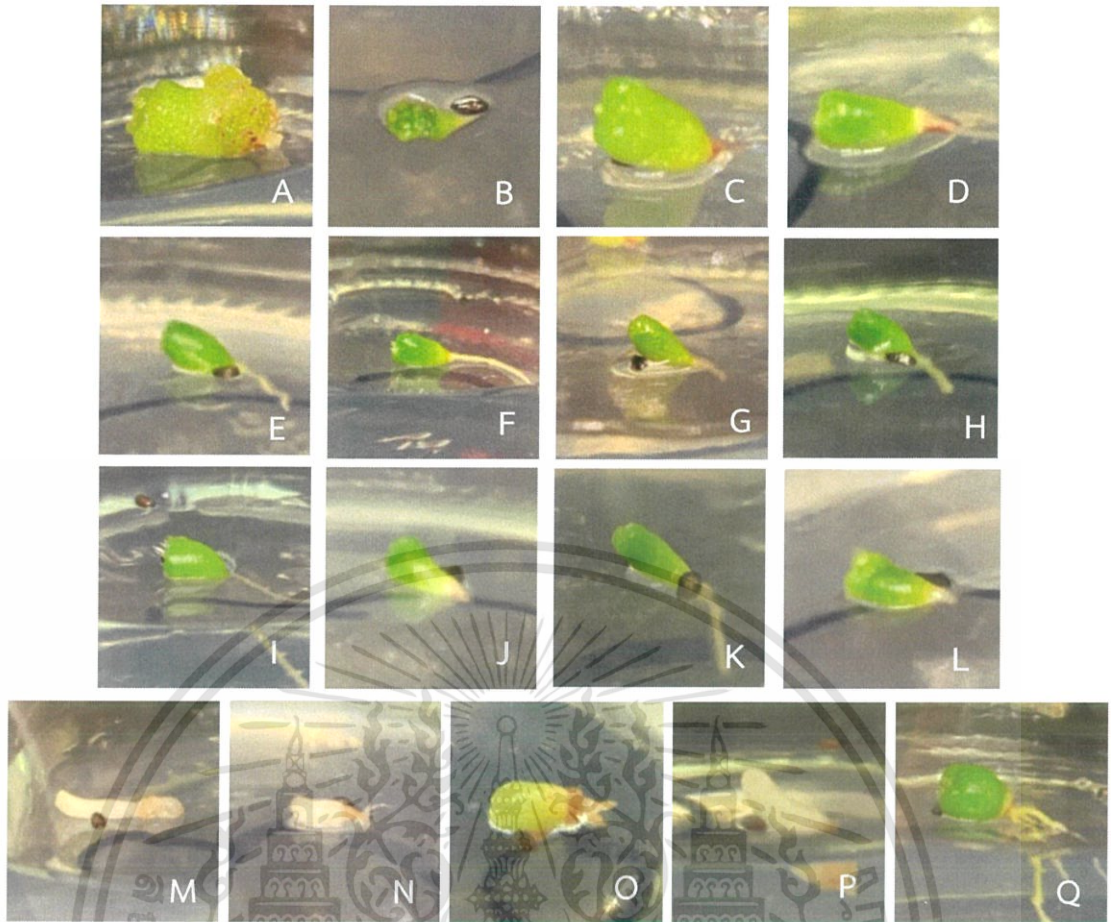
รูปที่ 4.7 แสดงการเปรียบเทียบขนาดเฉลี่ยของต้นจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด *Mammillaria nivosa* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP และ 2,4-D ความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการแข่งขันพืชที่ปลูกในดิน โดยมีข้อมูลทั้งหมดโดยไม่มีเงื่อนไขในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดต้นจากเมล็ดของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* ที่ 4 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบไปด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) mT ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Q) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดขึ้นจากเมล็ดของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* ที่ 8 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบไปด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) *mT* ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Q) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากจากต้นอ่อนของ *Mammillaria nivosa*

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนของ *Mammillaria nivosa* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดจากฝักแก่เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0 0.25 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการเกิดรากสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.10) ลักษณะของรากที่เกิดเป็นรากเส้นเดี่ยวไม่แตกแขนงโดยบางต้นเกิดเป็นตุ่มรากที่ยาวขึ้น (รูปที่ 4.12) บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวเฉลี่ยของรากยาวที่สุด คือ 2.05 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.11 และรูปที่ 4.12D) โดยต้นอ่อนจะมีลักษณะใหญ่กว่าเดิมไม่มากเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า จะมีการเจริญของรากในทุกความเข้มข้น ซึ่งความยาวของรากจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ IBA เช่นเดียวกับการทดลองของ Oscar. *et al.* (2010) ได้ศึกษาพัฒนาการของรากจากต้นกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria mathildae* โดยใช้อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0 4.9 9.8 19.7 และ 29.5 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าที่มีรากเกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0 และ 4.9 ไมโครโมลาร์ ซึ่งบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ มีความยาวรากเฉลี่ยยาวที่สุด คือ 6.99 เซนติเมตร

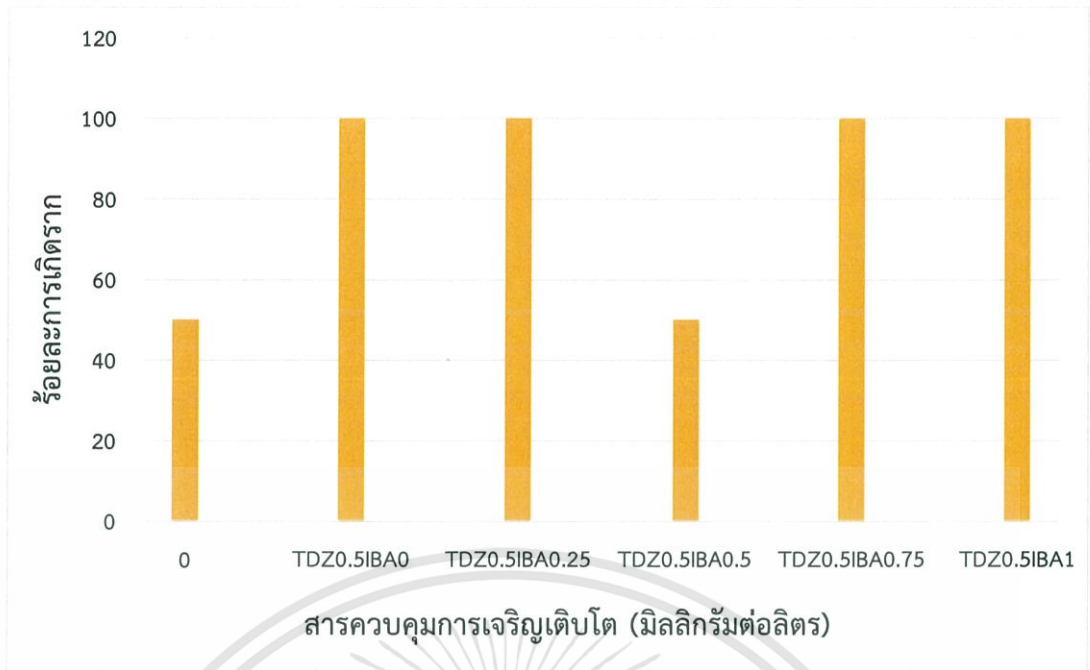
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงร้อยละการเกิดราก และความยาวเฉลี่ยของรากจากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

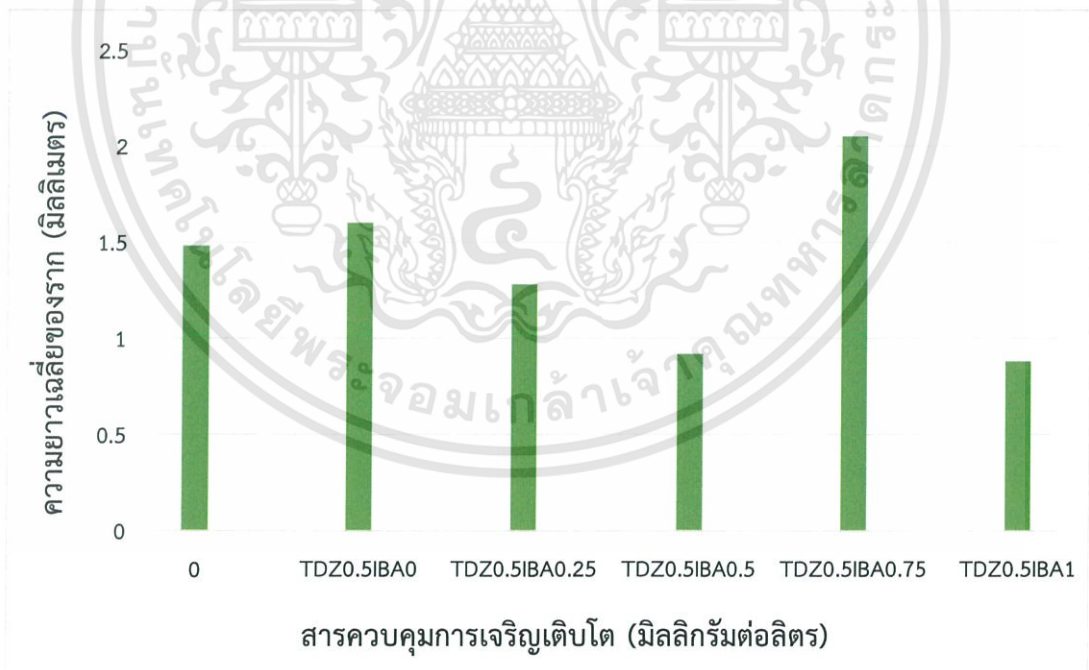
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนต้นที่ เกิดราก (ร้อยละ)	จำนวน รากที่งอก	ความยาวเฉลี่ยของราก (มิลลิเมตร)
TDZ	IBA			
0	0	2 (50)	2	1.48 ^a ± 0.82
0.50	0	4 (100)	4	1.60 ^a ± 0.50
0.50	0.25	4 (100)	4	1.28 ^a ± 0.47
0.50	0.50	2 (50)	2	0.92 ^a ± 0.06
0.50	0.75	4 (100)	4	2.05 ^a ± 0.82
0.50	1.00	4 (100)	4	0.88 ^a ± 0.18

หมายเหตุ: ตัวอักษร^{a,b,c...} เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

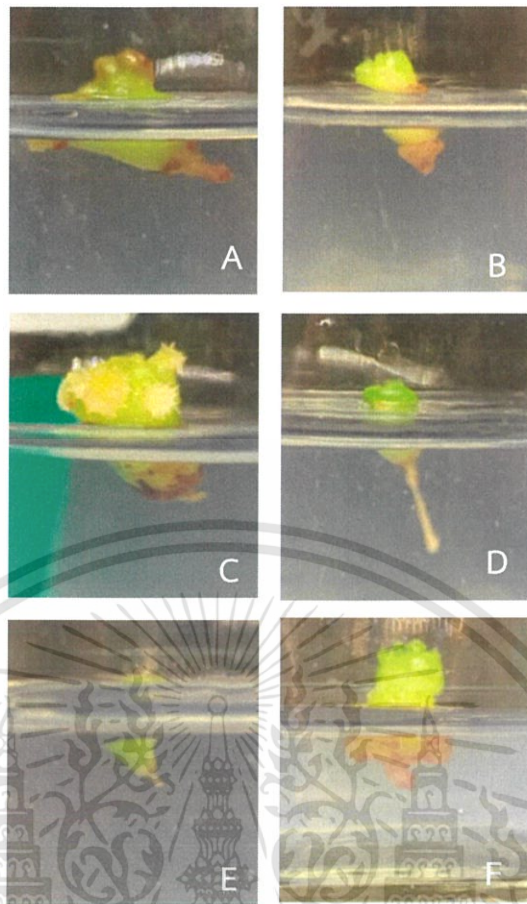


รูปที่ 4.10 แสดงร้อยละการเกิดของรากจากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน *Mammillaria nivosa* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.11 แสดงความยาวเฉลี่ยของรากจากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน *Mammillaria nivosa* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ในวงกว้างโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์



รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดรากจากต้นกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria vivosa* ที่ 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-E) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (F) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้นของ *Mammillaria nivosa*

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นของ *Mammillaria nivosa* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ *mT* BAP 2,4-D Kn และ IBA ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ลักษณะของชิ้นส่วนเริ่มบวมออกและมีการเจริญคล้ายแคลลัส (รูปที่ 4.15) แต่ยังไม่พบการเจริญของยอด (ตารางที่ 4.5) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนที่ลงส่วนใหญ่มีขนาดใหญ่ ชิ้นส่วนใหญ่มีสีเขียวอ่อนยกเว้นที่เลี้ยงบน 2,4-D มีสีขาวถึงเหลืองขาวเนื่องจากเลี้ยงในที่ปราศจากแสง มีการเกิดยอดขึ้น ยอดส่วนใหญ่ที่เกิดมีสีเขียวเข้ม บางยอดมีหนามเกิดขึ้นบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ และ *mT* (รูปที่ 4.16) บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร *mT* ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละเกิดยอดสูงที่สุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.6) ซึ่งอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการชักนำให้เกิดยอดดีที่สุดที่ความยาวยอดเฉลี่ยคือ 9.20 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.6) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์พบว่าชิ้นส่วนที่ลงส่วนใหญ่มีขนาดใหญ่มากขึ้น ชิ้นส่วนใหญ่มีสีเขียวอ่อนยกเว้นที่เลี้ยงบน 2,4-D มีสีขาวถึงเหลืองขาวเนื่องจากเลี้ยงในที่ปราศจากแสง มีการเกิดยอดเพิ่มมากขึ้นในบางชิ้นส่วน ยอดส่วนใหญ่ที่เกิดมีสีเขียวเข้ม บางยอดมีหนามเกิดขึ้นบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ และ *mT* (รูปที่ 4.17) บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร *mT* ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละเกิดยอดสูงที่สุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.7) ซึ่งอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการชักนำให้เกิดยอดดีที่สุดที่ความยาวยอดเฉลี่ยคือ 10.58 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.7) ที่สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ *mT* สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ โดยที่สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ (รูปที่ 4.16 และรูปที่ 4.17) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Giusti. *et al.* (2002) ที่ได้ทำการศึกษาการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria pectinifera* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA TDZ และ *mT* ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0 0.05 0.54 2.27 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ พบว่า มียอดเกิดขึ้นบนอาหารที่เสริมด้วย TDZ และ *mT* ความเข้มข้น 2.27 ไมโครโมลาร์ ซึ่งอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 2.27 ไมโครโมลาร์ สามารถเกิดยอดได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงร้อยละการเกิดยอด ความยาวเฉลี่ยของยอด และขนาดเฉลี่ยของชิ้นส่วนพืชจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้น บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP 2,4-D Kn และ IBA ของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนชิ้นที่เกิดยอด (ร้อยละ)	จำนวนยอด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	จำนวนแคลลัส (ร้อยละ)	ขนาดเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	
Control	0	0 (0)	0	0	1 (50)	288.59 ^{ab} ± 150.07
TDZ	0.5	0 (0)	0	0	2 (100)	307.66 ^{ab} ± 38.00
	1	0 (0)	0	0	2 (100)	360.82 ^{ab} ± 74.16
	2	0 (0)	0	0	1 (50)	257.81 ^{ab} ± 141.98
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	191.92 ^b ± 34.54
mT	0.5	0 (0)	0	0	2 (100)	534.46 ^a ± 158.67
	1	0 (0)	0	0	2 (100)	396.16 ^{ab} ± 128.21
	2	0 (0)	0	0	1 (50)	206.08 ^b ± 20.49
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	158.26 ^b ± 28.88
BAP	0.5	0 (0)	0	0	1 (50)	115.00 ^b ± 9.78
	1	0 (0)	0	0	1 (50)	124.04 ^b ± 7.56
	2	0 (0)	0	0	1 (50)	225.22 ^b ± 102.74
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	197.17 ^b ± 22.91
2,4-D	0.5	0 (0)	0	0	1 (50)	206.46 ^b ± 17.50
	1	0 (0)	0	0	1 (50)	182.42 ^b ± 69.01
	2	0 (0)	0	0	1 (50)	175.92 ^b ± 51.35
	4	0 (0)	0	0	1 (50)	185.82 ^b ± 17.49
Kn	0.5	0 (0)	0	0	1 (50)	242.08 ^b ± 121.30
	1	0 (0)	0	0	1 (50)	146.11 ^b ± 53.43
	2	0 (0)	0	0	1 (50)	211.28 ^b ± 54.22
	4	0 (0)	0	0	1 (50)	133.69 ^b ± 16.08
IBA	0.5	0 (0)	0	0	2 (100)	334.16 ^{ab} ± 114.42
	1	0 (0)	0	0	1 (50)	350.68 ^{ab} ± 79.93
	2	0 (0)	0	0	1 (50)	313.84 ^{ab} ± 119.18
	4	0 (0)	0	0	1 (50)	140.45 ^b ± 44.60

หมายเหตุ: ตัวอักษร^{a,b,c...} เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยที่ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในวงงานที่การศึกษานี้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงร้อยละการเกิดยอด ความยาวเฉลี่ยของยอด และขนาดเฉลี่ยของชิ้นส่วนพืชจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้น บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP 2,4-D Kn และ IBA ของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอด	จำนวนยอดที่เกิดขึ้นที่เกิดยอด (ร้อยละ)	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	จำนวนแคลลัส (ร้อยละ)	ขนาดเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	
Control	0	0	0	1 (50)	2377.29 ^c ± 1907.26	
TDZ	0.5	2 (100)	4	9.20 ^a ± 2.08	2 (100)	14760.48 ^a ± 3143.08
	1	0 (0)	0	0	2 (100)	1764.82 ^c ± 614.55
	2	0 (0)	0	0	2 (100)	8962.03 ^b ± 7151.23
	4	2 (100)	2	3.74 ^{bc} ± 0.68	2 (100)	1397.22 ^c ± 133.43
mT	0.5	0 (0)	0	0	2 (100)	2794.98 ^c ± 1245.52
	1	1 (50)	1	4.46 ^{bc}	2 (100)	2949.04 ^c ± 1372.58
	2	2 (100)	4	4.88 ^{bc} ± 1.02	2 (100)	2395.04 ^c ± 388.27
	4	1 (50)	4	7.73 ^b ± 0.81	2 (100)	3782.68 ^c ± 1387.99
BAP	0.5	0 (0)	0	0	1 (50)	448.82 ^c ± 143.42
	1	0 (0)	0	0	1 (50)	248.64 ^c ± 17.85
	2	0 (0)	0	0	2 (100)	1214.40 ^c ± 495.21
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	665.62 ^c ± 249.26
2,4-D	0.5	0 (0)	0	0	2 (100)	1065.27 ^c ± 477.88
	1	0 (0)	0	0	2 (100)	839.48 ^c ± 342.51
	2	0 (0)	0	0	2 (100)	630.30 ^c ± 149.04
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	762.06 ^c ± 176.94
Kn	0.5	0 (0)	0	0	1 (50)	1046.57 ^c ± 823.71
	1	0 (0)	0	0	1 (50)	420.10 ^c ± 87.00
	2	0 (0)	0	0	2 (100)	1025.97 ^c ± 589.45
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	805.74 ^c ± 43.48
IBA	0.5	0 (0)	0	0	2 (100)	1832.10 ^c ± 795.25
	1	0 (0)	0	0	2 (100)	2118.88 ^c ± 508.47
	2	0 (0)	0	0	2 (100)	1009.80 ^c ± 452.32
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	905.05 ^c ± 143.90

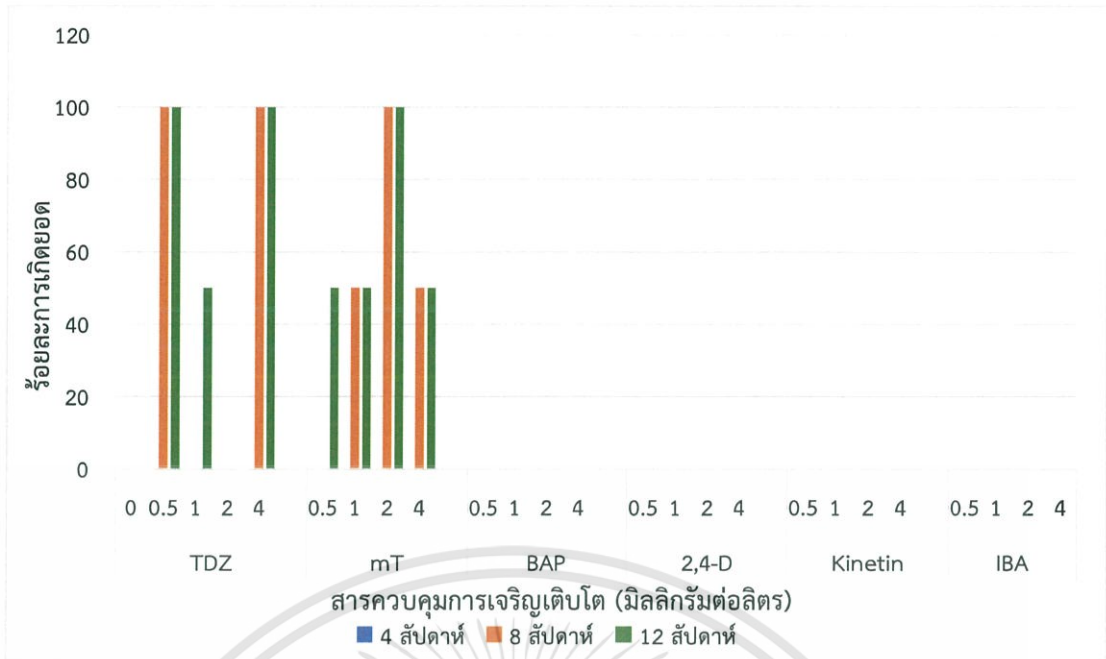
หมายเหตุ: ตัวอักษร^{a,b,c} เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยที่ได้มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test

ไม่ว่าการณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตแบบลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

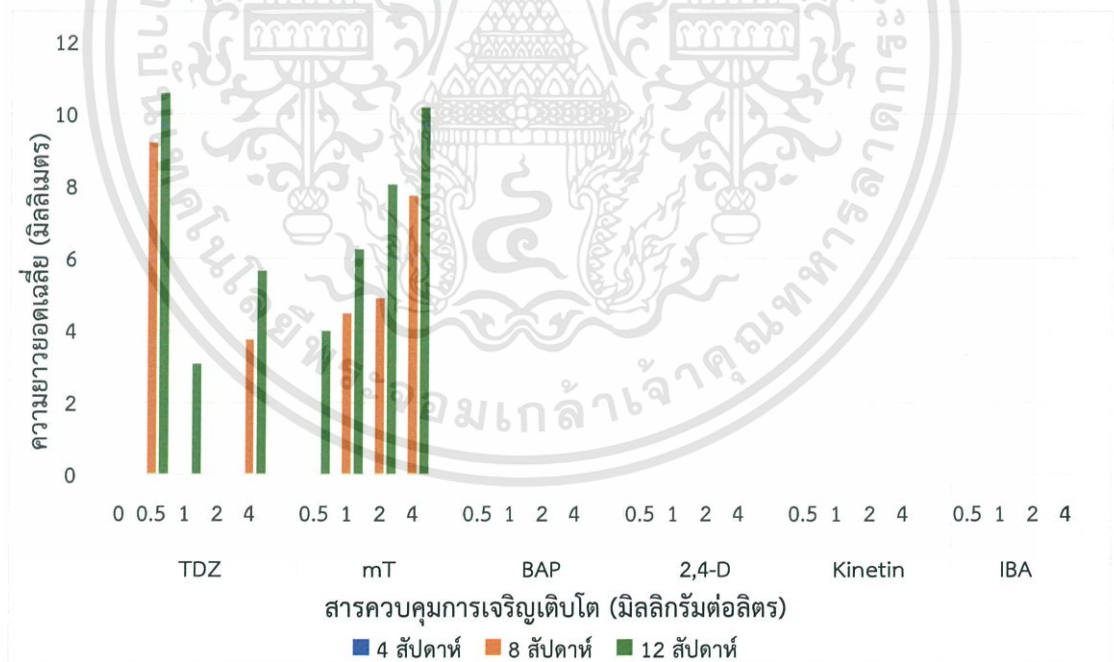
ตารางที่ 4.7 แสดงร้อยละการเกิดยอด ความยาวเฉลี่ยของยอด และขนาดเฉลี่ยของชิ้นส่วนพืชจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้น บอนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP 2,4-D Kn และ IBA ของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอด	จำนวนยอดที่เกิดขึ้นที่เกิดยอด (ร้อยละ)	จำนวนยอด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	จำนวนแคลลัส (ร้อยละ)	ขนาดเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
Control	0	0	0	0	1 (50)	2976.96 ^b ± 2402.88
TDZ	0.5	2 (100)	7	10.58 ^a ±1.46	2 (100)	21669.68 ^a ± 2674.96
	1	1 (50)	2	3.07 ^{cd} ± 0.30	2 (100)	3069.61 ^b ± 1519.55
	2	0 (0)	0	0	2 (100)	22432.52 ^a ± 9994.00
	4	2 (100)	3	5.65 ^{bc} ± 0.44	2 (100)	2078.49 ^b ± 133.10
mT	0.5	1 (50)	1	3.97 ^{cd}	2 (100)	4350.20 ^b ± 1431.32
	1	1 (50)	2	6.25 ^{cd} ±0.88	2 (100)	4440.09 ^b ± 1924.34
	2	2 (100)	8	8.03 ^{ab} ±0.97	2 (100)	2450.91 ^b ± 179.06
	4	1 (50)	5	10.18 ^{bc} ±1.36	2 (100)	7854.96 ^b ± 4021.34
BAP	0.5	0 (0)	0	0	1 (50)	651.17 ^b ± 110.15
	1	0 (0)	0	0	1 (50)	354.99 ^b ± 18.06
	2	0 (0)	0	0	2 (100)	1677.78 ^b ± 682.82
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	904.64 ^b ± 333.66
2,4-D	0.5	0 (0)	0	0	2 (100)	1376.91 ^b ± 600.12
	1	0 (0)	0	0	2 (100)	1481.91 ^b ± 621.31
	2	0 (0)	0	0	2 (100)	2075.56 ^b ± 711.37
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	1256.59 ^b ± 446.42
Kn	0.5	0 (0)	0	0	1 (50)	1886.38 ^b ± 1567.24
	1	0 (0)	0	0	1 (50)	525.69 ^b ± 153.83
	2	0 (0)	0	0	2 (100)	1426.07 ^b ± 940.29
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	1307.78 ^b ± 95.51
IBA	0.5	0 (0)	0	0	2 (100)	3528.19 ^b ± 1635.41
	1	0 (0)	0	0	2 (100)	2403.68 ^b ± 505.85
	2	0 (0)	0	0	2 (100)	1177.86 ^b ± 576.81
	4	0 (0)	0	0	2 (100)	1308.92 ^b ± 316.61

หมายเหตุ: ตัวอักษร^{a,b,c} เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยที่ได้มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test

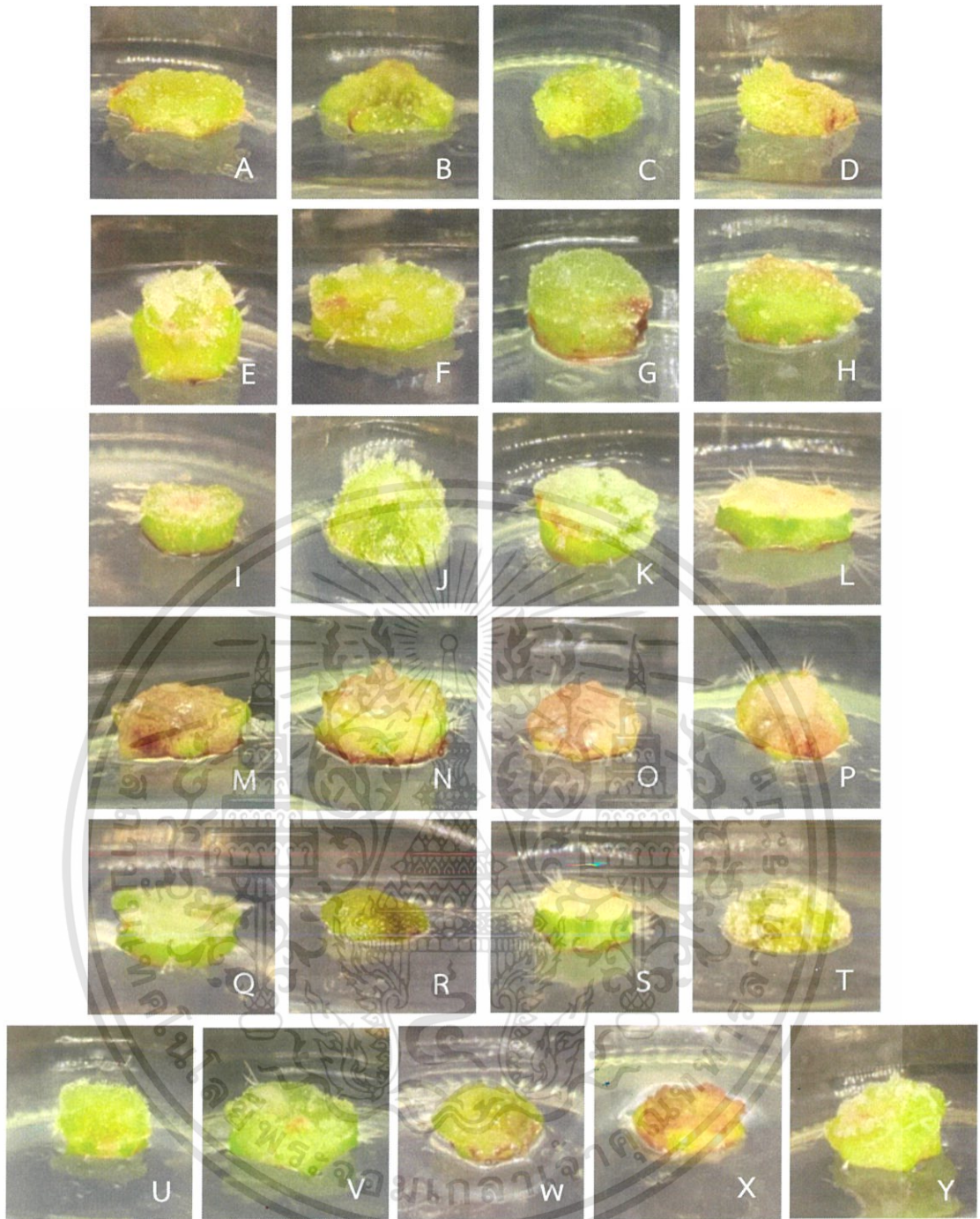


รูปที่ 4.13 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นของ *Mammillaria nivosa* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP 2,4-D Kn และ IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 8 และ 12 สัปดาห์



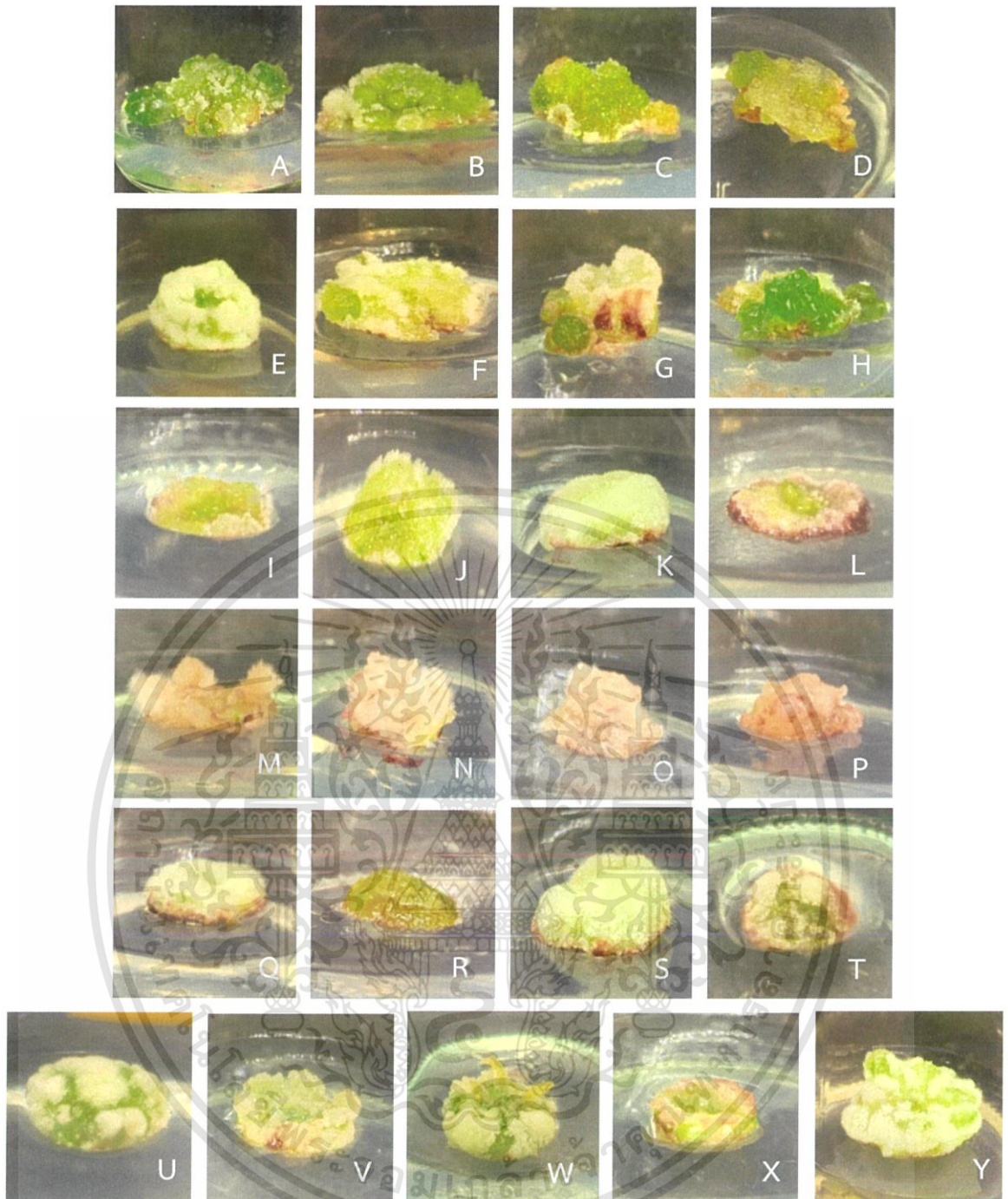
รูปที่ 4.14 แสดงการเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นของ *Mammillaria nivosa* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ mT BAP 2,4-D Kn และ IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 8 และ 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



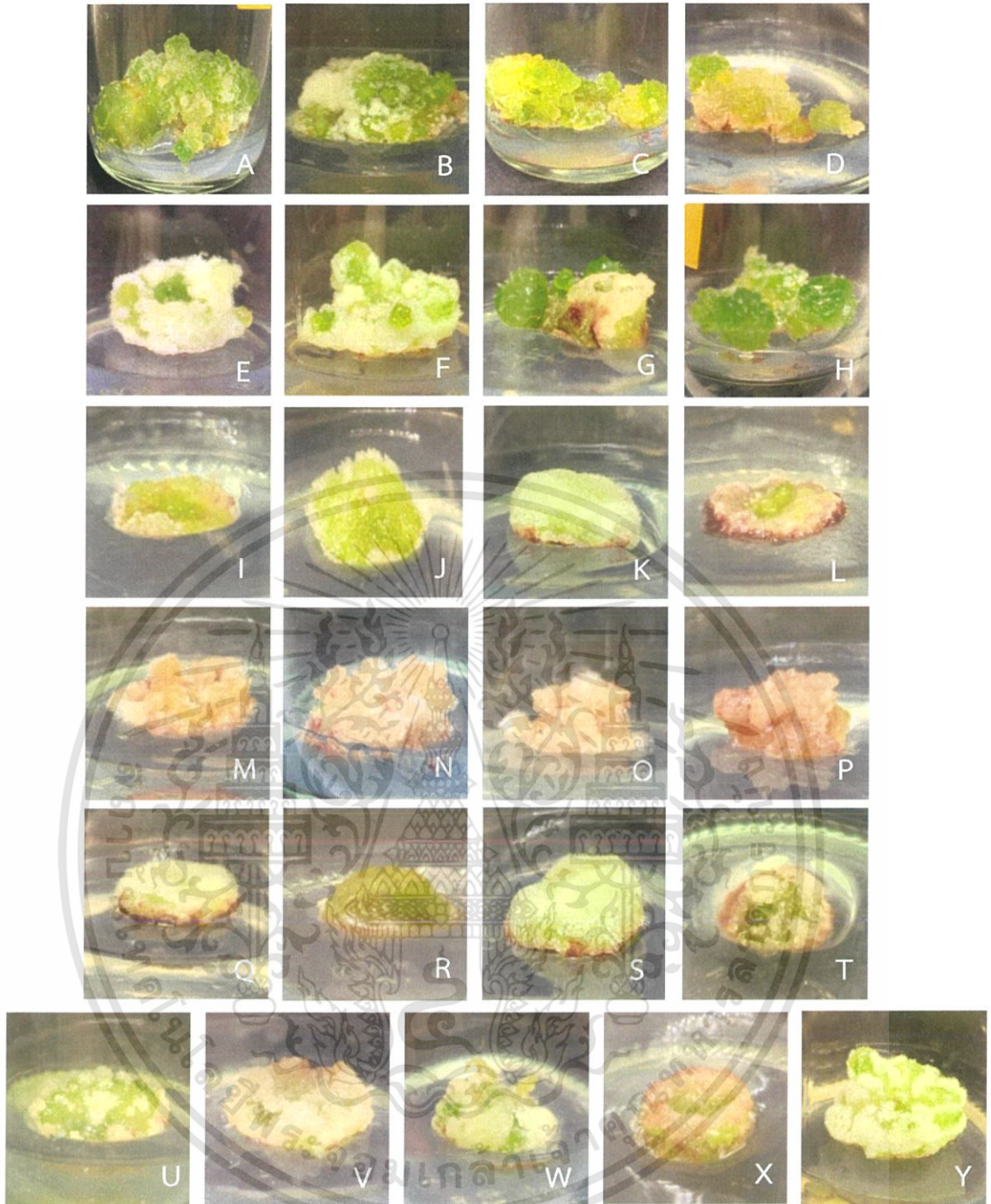
รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้นของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* ที่ 4 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) mT ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) Kn ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Q-T) IBA ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (U-X) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Y) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้นของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* ที่ 8 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) mT ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) Kn ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Q-T) IBA ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (U-X) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Y) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะของการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้นของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* ที่ 12 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A-D) mT ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (E-H) BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (I-L) 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (M-P) Kn ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Q-T) IBA ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (U-X) และอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (Y) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการพอกฆ่าเชื้อเมล็ดของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria nivosa* พบว่าการพอกฆ่าเชื้อ ทั้ง 3 วิธี มีประสิทธิภาพในการพอกฆ่าเชื้อเท่ากันคือ ร้อยละการปนเปื้อน เท่ากับ 0 หรือไม่มีการปนเปื้อนเกิดขึ้น และวิธีที่ใช้แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เวลา 5 วินาทีล้างด้วย ไฮเตอร์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่หยดพวีน-20 1-2 หยด เป็นเวลา 3 นาที 2 ครั้ง และล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ครึ่งละ 3 นาที สามารถส่งเสริมการงอกของเมล็ดได้ดีที่สุดที่ร้อยละการงอกของเมล็ดเท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นนำการพอกฆ่าเชื้อไปใช้ในการพอกฆ่าเชื้อเมล็ดเพื่อศึกษาศาสตร์ควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมล็ดจากฝักอ่อนและฝักแก่ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เมล็ดจากฝักอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย *mT* ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการงอกสูงที่สุดคือ 25 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดเฉลี่ยของต้นใหญ่ที่สุด คือ 11.97 ลูกบาศก์มิลลิเมตร และเมล็ดจากฝักแก่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย *mT* ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการงอกสูงที่สุด คือ 48 เปอร์เซ็นต์ และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดเฉลี่ยของต้นใหญ่ที่สุด คือ 33.29 ลูกบาศก์มิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดจากฝักอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการงอกสูงที่สุด คือ 25 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดเฉลี่ยของต้นใหญ่ที่สุดคือ 23.86 ลูกบาศก์มิลลิเมตรและเมล็ดจากฝักแก่พบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย *mT* ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตรมีร้อยละการงอกสูงที่สุดคือ 55 เปอร์เซ็นต์ และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดเฉลี่ยของต้นใหญ่ที่สุด คือ 236.27 ลูกบาศก์มิลลิเมตร จากนั้นนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดจากฝักแก่มาศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากจากต้นอ่อน พบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการเกิดรากสูงที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีความยาวรากเฉลี่ยยาวที่สุด คือ 2.05 มิลลิเมตร

จากการศึกษาการควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้น พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ยังไม่พบการเจริญของยอด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 และ 12 สัปดาห์ พบว่ามีการเกิดยอดขึ้น บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการเกิดยอดมากที่สุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวยอดเฉลี่ยยาวที่สุดคือ 9.20 มิลลิเมตร และ 10.58 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งที่สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ *mT* สามารถชักนำให้เกิดยอดได้โดยที่สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่น ๆ ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ศึกษาการพอกฆ่าเชื้อวิธีอื่นๆ เพื่อให้มีร้อยละของการงอกของเมล็ดเพิ่มมากขึ้น

5.2.2 ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดโดยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิดร่วมกัน เพื่อให้ได้ยอดที่มีจำนวนมากขึ้น

5.2.3 ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ของต้นพืชที่ได้จากการทดลองเพื่อให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม เช่น การฉายรังสี การปรับปรุงพันธุ์โดยใช้จุลินทรีย์ เพื่อให้ต้นพืชมีมูลค่าเพิ่มมากขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- ภวพล ศุภนันถนันทน์, ชนินทร์ โธร์ตัน 2559. แคคตัส CACTUS. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์บ้านและสวน.
- ภูษา ชากะสิก. 2553. หนังสือชมรมกระบองเพชรแห่งประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี : สำนักพิมพ์รักบ้านเกิด.
- รังสฤษฏ์ กาวีตะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ: หลักการและเทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สิริรักษ์ ศรวณียารักษ์. 2547. “สูตรอาหารและความเข้มข้นสารปฏิชีวนะที่เหมาะสมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและคัดเลือกแคลลัส *Stylosanthes hamata* cv. verano เพื่อใช้ในการถ่ายยีน.” ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร.
- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. อุดรธานี : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี.
- อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2550. ปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืช. กรุงเทพฯ : โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ปัทมาวดี จุลภักดี. 2554. กระบองเพชร. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก <https://puechkaset.com/กระบองเพชร>.
- มาลี ณ นคร, กมลพรรณ นามวงศ์พรหม, สุรียา ตันติวิวัฒน์, ลิลลี่ กาวีตะ, ศรีสม สุวรรณวงศ์, สรัญญา วัชรไทย์, สุมณ มาสุชน และदनัย สรรพศรี. 2554. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ป่า. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.rdi.ku.ac.th/kufair50/plant/44_plant. [29 ธ.ค. 2013].
- ยุพดี วุฒพงษ์. 2561. สารสกัดจากกระบองเพชร. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก <http://glutacare.com>
- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศท้องถิ่น. 2555. ดนกระบองเพชร ช่วยดูดซับรังสีคอมพิวเตอร์. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก https://www.sichon.go.th/news/doc_download/a_100717_203017.pdf.
- Discover life, 2558. *Mammillaria* Discover life. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก <https://www.discoverlift.org/mp/20q?search=mammillaria>.
- Keson, K. 2017. Cactus. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก <https://sites.google.com/site/callmemooke00/reuxng-pluk-khae-khtas-di-di-ngay-nid-deiy>.
- Jesús, O. Martín, M. R. Dolor, G. and Salvador, A., 2018. “In vitro propagation of endangered *Mammillaria* genus (Cactaceae) species and genetic stability
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- assessment using SSR markers”. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 54 ; 518–529.
- Maria, P. George, N. B. Panayiota, T. L. and John C. 2001. “*In vitro* plant regeneration of *Mammillaria elongata* normal and cristate forms”. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 65 ; 163–167.
- Oscar, G. R. and Guadalupe, M. B. 2010. “Micropropagation and Reintroduction of the Endemic *Mammillaria mathildae* (Cactaceae) to Its Natural Habitat”. *Horticultural Science*, 45 ; 934–938.
- MARTINEZ-VAZQUEZ, O. and RUBLUO, A. 1989. “In-vitro mass propagation of the near-extinct *Mammillaria san-angelensis* Sanchez-Mejorada”. *Journal of Horticultural Science*, 64 ; 99-105.
- Giusti, P. Vitti, D. Fiocchetti, F. Colla, G. Saccardo, F. and Tucci, M. 2002. “*In vitro* propagation of three endangered cactus species”. *Scientia Horticulturae*, 95 ; 319–332.
- Philip, W. C. Hubstenberger, J. and Gregory, C. P. 1990. “Micropropagation of Members of the Cactaceae Subtribe Cactinae” *Journal of the American Society. Horticultural Science*, 115 ; 337-343.
- Ramirez-Malagon, R. Aguilar-Ramirez, I. Borodanenko, A. and Perez-Moreno, L. 2007. “*In vitro* propagation of ten threatened species of *Mammillaria* (Cactaceae)”. *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant*, 43 ; 660–665.
- Torres-Silva, G. Resende, S. V. Lima-Brito, A. Bezerra, H.B and Schnadelbach, A.S. 2018. “*In vitro* shoot production, morphological alterations and genetic instability of *Melocactus glaucescens* (Cactaceae), an endangered species endemic to eastern Brazil”. *South African Journal of Botany*, 115 ; 100–107.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog

องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS, 1962) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั่วไป ดังนี้

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
Agar	8000
Sucrose	30000
pH 5.7	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้