ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ของพะยูง (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

EFFECT OF REGENERATION FACTORS ON *Dalbergia cochinchinensis* Pierre IN TISSUE CULTURE

พชร สุภาพาส

POTCHARA SUPAPAS

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2565

KMITL-2022-SC-M-020-069

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF REGENERATION FACTORS ON *Dalbergia cochinchinensis* Pierre IN TISSUE CULTURE

POTCHARA SUPAPAS

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

2022

KMITL-2022-SC-M-020-069

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2022
SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสถาบันฯ สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ของพะยูง (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
ชื่อนักศึกษา	นายพชร สุภาพาส
รหัสประจำตัว	62605062
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2565
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร. ปิยรัษฎ์ ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์

บทคัดย่อ

ต้นพะยูงพันธุ์ไทยเป็นพืชที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dalbergia cochinchinensis* Pierre เป็นไม้ยืนต้นที่มีราคาสูง และคุณประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก งานวิจัยในครั้งนี้จึงได้ศึกษาวิธีและปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการเพิ่มจำนวนของต้นพะยูงพันธุ์ไทยด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลายปัจจัยด้วยกันเช่น สภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตัวอย่างพืช ผลกระทบของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ไคเนติน (Kn) จิบเบอเรลลิน (GA_3) ไทเดียซูรอน (TDZ) 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีน (BAP) ต่อการชักนำยอดและการเจริญของเมล็ด กรดอินโดล-3-แอซีติก (IAA) กรดอินโดล-3-บิวทีริก (IBA) กรด 1-แนฟทาลีนแอซีติก (NAA) พิคลอแรม (Pi) และกรด 2,4-ไดคลอโรฟีนอกซีแอซีติก (2,4-D) ต่อการชักนำแคลลัสและการชักนำราก การศึกษาถึงผลการใช้ชนิดและความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์ที่แตกต่างกันในการเพาะเลี้ยง โดยมีการใช้อาหาร 2 ชนิดด้วยกันคือ Murashige and Skoog medium (MS) และ Woody Plant Medium (WPM) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในปริมาณ ¼ ½ 1 และ 2 เท่าของความเข้มข้นปกติในการใช้งาน และยังศึกษาถึงผลกระทบของการใช้สารก่อเจลที่แตกต่างกัน โดยได้มีการใช้ ไฟทาเจล Crystal agar gel 180 ผงวุ้นสำหรับประกอบอาหาร และผงวุ้นสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้ยังศึกษาถึงผลของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันของการใช้กลูโคสและซูโครสสำหรับการชักนำยอด ผลของปริมาณสาร Plant Preservative Mixture (PPM) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างการลี้ยง และสุดท้ายได้ศึกษาถึงวัสดุที่เหมาะสม ดิน ดิน : เพอร์ไลท์ เปลือกมะพร้าวสับ และพีทมอส ในการปรับสภาพตัวอย่างเพื่อออกปลูกในสภาวะแวดล้อมในธรรมชาติ โดยพบว่าวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดนั้นวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 มีร้อยละการรอดชีวิตสูงถึงร้อยละ 100 โดยที่ไม่มีการปนเปื้อนจากทั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายที่มี nystatin ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ตัวอย่างรอดชีวิตร้อยละ 70 และสุดท้ายในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากต้นในธรรมชาติของพะยูงพันธุ์ไทย พบว่าการใช้สารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ตัวอย่างไม่มีการปนเปื้อน ส่วนการศึกษาชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการงอกและการเจริญของเมล็ดพบว่าการใช้ GA_3 ให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด เมื่อเทียบกับต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นๆที่ใช้ในการทดลอง โดยความยาวยอดเฉลี่ย 71.65 มิลลิเมตร แต่ต้นอ่อนมีลำต้นค่อนข้างผอมบางกว่าต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใน Kn ในส่วนของการชักนำยอดจากข้อของต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดให้ผลดีที่สุดในการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ยอดและใบที่ได้มีลักษณะที่เขียว ใบมีจำนวนมาก แผ่นใบแผ่ขยายกว้างออก และสามารถสังเกตเห็นเส้นใบชัดเจน ในส่วนของการเกิดและการพัฒนาไปเป็นต้นใหม่จากแคลลัสพบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย 2,4-D เกิดแคลลัสในอาหารสูตรนี้ดีที่สุดในด้านลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้น และร้อยละของการเกิดแคลลัสที่สูงถึงร้อยละ 70 และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย 0.8021 กรัม โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่ และมีลักษณะสีขาวอมเขียว ส่วนการชักนำยอดจากข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยจากต้นในธรรมชาติให้ผลดีที่สุดในการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร ½ WPM ที่เสริมด้วยผงถ่านกัมมันต์ร้อยละ 0.1 สาร PPM 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร และพบว่ายอดที่เกิดจาการเพาะเลี้ยงใน GA_3 ยอดที่ได้มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 17.77 ± 0.52 มิลลิเมตร แต่ยอดที่ได้มีลักษณะผอมบาง สีเขียวอ่อน และปลายยอดมีอาการไหม้เกิดเป็นสีน้ำตาลขึ้น ถึงแม้ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการใช้ Kn (15.85 ± 0.39 มิลลิเมตร) มีลักษณะที่สั้นกว่ายอดที่ได้จากการชักนำโดย GA_3 แต่ลักษณะของยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่เขียวกว่า และสมบูรณ์แข็งแรงมากกว่ายอดที่ได้จากการชักนำโดย GA_3 ในส่วนการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการชักนำราก สำเร็จโดยการใช้วิธี 2 ขั้นตอนของ Anis. *et al*. (2005) โดยการใช้ IAA ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากเฉลี่ย 6.8 ± 0.58 ราก และมีค่าความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด 54.76 ± 5.22 มิลลิเมตร และมีร้อยละการเกิดรากสูงสุดที่ร้อยละ 60 และต้นอ่อนที่มีลักษณะสมบูรณ์ที่ได้จากกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำมาปรับสภาพและออกปลูกในวัสดุปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุดคือการใช้พีทมอสตัวอย่างมีร้อยละการรอดชีวิตสูงที่สุดที่ร้อยละ 100 นอกจากนี้ยังมีการเจริญเติบโตของลำต้นและใบที่ดีที่สุด เมื่อเทียบกับวัสดุปลูกชนิดอื่นๆที่ใช้ในการทดลอง

คำสำคัญ : ไม้ยืนต้นตระกูลถั่ว สารก่อเจล สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช แหล่งคาร์บอน อาหารสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Effect of Regeneration Factors on *Dalbergia cochinchinensis* Pierre in Tissue Culture
Student Name	Mr. Potchara Supapas
Student ID	62605062
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2022
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Anurug Poeaim
Thesis Co-advisor	Dr. Piyarat Parinyapong Chareonsap

Abstract

The Siamese rosewood is a plant that has the scientific name *Dalbergia cochinchinensis* Pierre. A woody legume, is a high-value timber-yielding tree that is important for both ecological and commercial purposes. To allow efficient *In vitro* micropropagation, we evaluated the efficiency of plant growth regulators including kinetin (Kn) gibberellin (GA_3) thidiazuron (TDZ) 6-benzylaminopurine (BAP) on shoot induction and seeding. Indole-3-acetic acid (IAA), indole-3-butyric acid (IBA), 1-naphthalene acetic acid (NAA), picloram (Pi), and 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on callus induction and root induction. A study on different basal media (¼ Murashige and Skoog medium (MS), ½ MS, 1MS, 2 MS, ¼ woody plant medium (WPM), ½ WPM, 1 WPM, and 2WPM), gelling agents (phytagel, crystal agar gel G180, food grade agar powder, and bacteriological grade agar powder), carbon sources (sucrose and glucose) and effect of Plant Preservative Mixture (PPM) for shoot induction in *D. cochinchinensis*. Finally, the study of suitable materials (soil, soil: perlite, coconut husk and peat moss) for planting in natural environments. It was found that the method of seed sterilizing was sterilized by using a mixture of 1% carbendazim and 0.2% solution of mercuric chloride ($HgCl_2$), showed survival rate at 100% without both fungal and bacterial contamination. The optimum conditions for leaf sterilizing, it was found in a solution containing 0.1% nystatin showed 70% rate survival. The part of a nodal segment sterilizing. It was found the best condition in a solution containing a mixture of 1% carbendazim and 0.1% solution of mercuric chloride ($HgCl_2$). The part of seed germination we found GA_3 had the highest average shoot length (71.65 ± 1.90 mm) compared with seedlings cultured in other plants growth regulators. Although the shoots were thinner than those grown in Kn. In part of shoot induction from nodal

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

segment of seeding cultivated in WPM supplemented with Kn showed the shoots and leaves were green with clear veins and expanded leaf. Callus induction and regeneration, it was found that culturing in WPM supplemented with 2,4-D for callus formation in this medium showed the best results. The percentage of callus induction was as high as 70 %, with an average callus weight of 0.8021 g. The result showed calluses have a greenish-white appearance. In part of shoot induction from nodal segments, derived from the shoots of 1-year old trees, were surface sterilized. Shoots induced by GA_3 showed the highest shoot length (17.77 ± 0.52 mm) but were thin, pale green, and shoot tip necrosis. However, shoots induced by Kn were shorter (15.85 ± 0.39mm) than GA_3 but were greener and more vigorous. The best conditions for improving shoot induction and elongation were half-strength WPM supplemented with 0.1% activated charcoal, 3 ml/L PPM, 2.6 g/L Phytagel, and 30 g/L sucrose. *In vitro* microshoots were rooted using the 2-step method of Anis. et al. (2005) on half-strength WPM augmented with 0.05 mg/L indoleacetic acid (IAA). After 1 month of culture, the highest number of roots per shootlet was 6.8 ± 0.58, with an average root length of 54.76 ± 5.22 mm and the highest root induction percentage was 60%. The plantlets were acclimatized in peat moss with an 100% survival rate.

Keywords : woody legume, gelling agent, plant growth regulators, carbon source, basal medium.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ของพะยูง (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีนั้นต้องขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่คอยให้ความช่วยเหลือสนับสนุนในทุกๆด้าน รวมทั้งยังคอยให้คำแนะนำและเป็นที่ปรึกษาที่ดีในยามเกิดปัญหาหรือข้อสงสัยในการดำเนินการจัดทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ปิยรัษฎ์ ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่คอยให้คำแนะนำสำหรับการดำเนินการ และแก้ไขปัญหาในการจัดทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ขอบกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ ประธานกรรมการ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี อาจารย์บัณฑิตประจำสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยเป็นคณะกรรมการสอบ และให้คำแนะนำที่ดีสำหรับการจัดทำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณทุนผู้ช่วยสอน ผู้ช่วยวิจัยในระดับบัณฑิตศึกษาของคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีการศึกษา 2562 ถึงปี 2563 ที่ช่วยสนับสนุนในด้านของค่าเล่าเรียน รวมไปจนถึงค่าใช้จ่ายในการดำเนินชีวิตประจำวัน และเป็นส่วนช่วยที่สำคัญในการดำเนินการจัดทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้ดำเนินไปได้จนสำเร็จ

ขอกราบขอบพระคุณ บุคลากร และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่ช่วยเหลือ และช่วยอำนวยความสะดวกในการจัดทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ให้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่คอยให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจที่ดีให้กับผู้จัดทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ขอขอบคุณ พี่ เพื่อน และน้อง ที่คอยช่วยเหลือ สนับสนุน ให้กำลังใจในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นายพชร สุภาพาส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ค
กิตติกรรมประกาศ..... จ
สารบัญ..... ฉ
สารบัญตาราง..... ฌ
สารบัญรูป..... ฎ
คำย่อ/สัญลักษณ์..... ฐ
บทที่ 1 บทนำ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... 3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4
2.1 ข้อมูลทั่วไปของต้นพะยูง..... 4
2.1.1 อนุกรมวิธานของต้นพะยูง..... 4
2.1.2 ลักษณะสัณฐานของต้นพะยูง..... 4
2.1.3 การปลูก และการดูแลรักษา..... 6
2.1.4 ลักษณะทางกายวิภาคที่แตกต่างระหว่างเนื้อไม้ของต้นพะยูงและต้นชิงชัน..... 8
2.2 กฎหมายเกี่ยวกับต้นพะยูง..... 10
2.3 สถานการณ์ป่าไม้พะยูงในประเทศไทย..... 11
2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... 13
2.4.1 เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของตัวอย่างพืช..... 13
2.4.2 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช..... 14
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 16
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 20
3.1 ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการทดลอง..... 20
3.2 สารเคมี..... 20
3.3 อุปกรณ์..... 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4 วิธีการทดลอง..... 22
3.4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่าง..... 22
3.4.1.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ด.... 22
3.4.1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบ..... 22
3.4.1.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ..... 23
3.4.2 ศึกษาชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ส่งผลต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด..... 25
3.4.3 ศึกษาผลกระทบของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ส่งผลต่อการเกิดและการพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ของแคลลัส..... 25
3.4.4 ศึกษาปริมาณของสาร Plant Preservative Mixture™ (PPM) ที่เหมาะสม..... 26
3.4.5 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ..... 26
3.4.6 ศึกษาชนิดและปริมาณของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง 27
3.4.7 ศึกษาชนิดของสารก่อเจลที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง..... 27
3.4.8 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง..... 27
3.4.9 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก..... 28
3.4.10 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำตัวอย่างออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมภายนอก..... 28
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... 29
4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่าง..... 29
4.1.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ด..... 29
4.1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบ..... 29
4.1.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ..... 30
4.2 ศึกษาชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด..... 32
4.3 ศึกษาผลกระทบของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการเกิดและการพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ของแคลลัส..... 38
4.4 ศึกษาปริมาณของสาร Plant Preservative Mixture (PPM) ที่เหมาะสม..... 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.5 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ..... 43
4.6 ศึกษาชนิดและปริมาณของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง..... 48
4.7 ศึกษาชนิดของสารก่อเจลที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง..... 50
4.8 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง... 53
4.9 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก..... 55
4.10 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำตัวอย่างออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมภายนอก..... 58
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 60
5.1 สรุปผลการวิจัย..... 60
5.2 ข้อเสนอแนะ..... 67
เอกสารอ้างอิง..... 68
ภาคผนวก..... 72
ภาคผนวก ก..... 73
ภาคผนวก ข..... 76
ประวัติผู้เขียน..... 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ผลการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์..... 29

4.2 ผลการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์..... 30

4.3 ผลการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์..... 31

4.4 ผลการงอกและการเจริญของเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 33

4.5 ผลการชักนำยอดจากข้อของต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 36

4.6 ผลการเกิดและการพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ของแคลลัสจากใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช IAA IBA NAA Pi และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 39

4.7 ผลการศึกษาปริมาณของสาร Plant Preservative Mixture (PPM) ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และเติมสาร PPM ที่ความเข้มข้นต่างกันที่ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 42

4.8 ผลการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช Kn GA_3 และ TDZ ที่ความเข้มข้น 1 3 5 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.9 ผลการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช Kn GA_3 และ TDZ ความเข้มข้นห่างจากช่วงที่ดีที่สุดจากตารางที่ 4.8 ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 45

4.10 ผลการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช Kn GA_3 และ TDZ ใช้ร่วมกันที่ความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากตารางที่ 4.9 หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 47

4.11 ผลกระทบของการใช้ชนิดและปริมาณของอาหารที่แตกต่างกัน ต่อการชักนำยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 49

4.12 ผลกระทบของการใช้สารก่อเจลที่แตกต่างกันต่อการชักนำยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทย บนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 51

4.13 ผลกระทบของการใช้ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่แตกต่างกัน ต่อการชักนำยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทย บนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 54

4.14 ผลการชักนำรากด้วยวิธี 2 ขั้นตอนจากชิ้นส่วนยอดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช IAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 0.4 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 56

4.15 ผลของการใช้วัสดุปลูกที่แตกต่างกันต่อการเจริญในสภาวะแวดล้อมภายนอกหลอดทดลองของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 แสดงลักษณะลำต้น และลักษณะเปลือกลำต้นของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย..... 5

2.2 แสดงลักษณะใบของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย..... 5

2.3 แสดงลักษณะดอกของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย..... 6

2.4 แสดงลักษณะฝักของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย..... 6

2.5 แสดงลักษณะเนื้อไม้ของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย..... 9

2.6 แสดงลักษณะเนื้อไม้ของต้นชิงชัน..... 9

4.1 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยของต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 34

4.2 ต้นอ่อนที่เกิดจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 34

4.3 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากข้อของต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 37

4.4 ยอดที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นอ่อนที่เกิดจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 37

4.5 กราฟเปรียบเทียบร้อยละการเกิดแคลลัสจากใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช IAA IBA NAA Pi และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 40

4.6 แคลลัสที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 40

4.7 ผลของสาร Plant Preservative Mixture (PPM) ต่อชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน 42

4.8 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการชักนำข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช Kn GA_3 และ TDZ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.9 ยอดที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 48

4.10 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสูตรที่แตกต่างกัน และเสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 50

4.11 ยอดที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในอารหารสังเคราะห์สูตรที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 50

4.12 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการใช้สารก่อเจลที่แตกต่างกัน เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 52

4.13 ยอดที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสภาวะของสารก่อเจลที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 52

4.14 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการใช้น้ำตาลเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 54

4.15 ยอดที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสภาวะของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน 55

4.16 กราฟเปรียบเทียบความยาวรากที่ชักนำด้วยวิธี 2 ขั้นตอนจากชิ้นส่วนยอดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช IAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 0.4 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 57

4.17 การชักนำรากจากชิ้นส่วนยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสภาวะของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน 57

4.18 กราฟเปรียบเทียบร้อยละการรอดชีวิตของต้นอ่อนเมื่อใช้วัสดุปลูกที่แตกต่างกันต่อการเจริญในสภาวะแวดล้อมภายนอกหลอดทดลองของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 59

4.19 ต้นอ่อนพะยูงพันธุ์ไทยที่ได้จากกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากการเพาะเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในวัสดุออกปลูกที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน..... 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	ชื่อเต็ม
BAP	6-Benzylaminopurine
GA_3	Gibberellic acid
$HgCl_2$	เมอร์คิวริกคลอไรด์
IAA	Indole-3-acetic acid
IBA	Indolebutyric acid
Kn	6-furfurylaminopurine (kinetin)
MS	อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962)
NAA	Naphthaleneacetic acid
PPM	Plant Preservative mixture
TDZ	Thidiazuron
WPM	อาหารสังเคราะห์สูตร Woody Plant Medium (1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ป่าไม้เป็นสิ่งที่อยู่คู่ประเทศไทยและโลกนี้มาอย่างยาวนาน แต่ปัจจุบันจำนวนป่าไม้ลดลงอย่างมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว ทำให้ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อมทั้งทางตรงและทางอ้อม จำนวนของป่าไม้ที่ลดลงเกิดจากหลายสาเหตุเช่น จำนวนประชากรมนุษย์ที่เพิ่มมากขึ้นจนทำให้มีการรุกล้ำพื้นที่ป่าเพื่อเป็นที่อยู่อาศัยหรือเพื่อหาประโยชน์จากป่าไม้ ไม่ว่าจะเป็นการลักลอบตัดไม้เพื่อนำมาใช้ประโยชน์หรือนำไปขายต่อทั้งในและต่างประเทศ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้พื้นที่ป่ารวมถึงพันธุ์ไม้ที่มีค่าลดลงเป็นอย่างมากจนเกือบจะใกล้สูญพันธุ์ โดยเฉพาะต้นพะยูงที่มีชื่อสามัญว่า Siamese Rosewood และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dalbergia cochinchinensis* Pierre อยู่ในวงศ์ Fabaceae หรืออาจจะมีชื่ออื่นที่เรียกแตกต่างกันออกไปในแต่ละภูมิภาค เช่น กระยง กระยูง (เขมร-สุรินทร์) ขะยูง (อุบลราชธานี) แดงจีน (ปราจีนบุรี) ประดู่ตม (จันทบุรี) ประดู่ลาย (ชลบุรี) ประดู่เสน (ตราด) พะยูงไหม (สระบุรี) หัวลีเมาะ (จีน) ต้นพะยูงเป็นไม้ยืนต้นผลัดใบ สูง 15-20 เมตร เปลือกสีเทาเรียบ เรือนยอดทรงกลมหรือรูปไข่ ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกสองชั้นเรียงสลับ ปลายใบแหลมโคนใบสอบ หลังใบสีเขียวเข้ม ท้องใบสีจาง ลักษณะคล้ายใบประดู่ ดอกขนาดเล็ก กลิ่นหอมอ่อน ออกรวมกันเป็นช่อสีขาวหรือเหลืองอ่อนตามง่ามใบและตามปลายกิ่ง ผลเป็นฝักแบนบางตรงบริเวณที่หุ้มเมล็ด เมล็ดรูปไตสีน้ำตาลเข้ม พะยูงเป็นไม้ทนแล้ง มีถิ่นกำเนิดในป่าดิบแล้งและป่าเบญจพรรณชื้น กระจายพันธุ์ในป่าภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย (วิทย์, 2536) โดยต้นพะยูงเป็นหนึ่งในพืชที่หลายส่วนให้ความสนใจอยู่ในปัจจุบันนี้เนื่องจากต้นพะยูงเป็นพืชที่มีเนื้อไม้แข็งแรง สวยงาม และมีราคาสูง จึงทำให้ไม่พอต่อความต้องการที่มีอยู่มากส่งผลให้เกิดการลักลอบตัดต้นพะยูงจากป่าไม้ในธรรมชาติ ทำให้ต้นพะยูงที่มีอยู่ในธรรมชาติลดลงเป็นอย่างมากจนเกือบเป็นพืชที่ใกล้สูญพันธุ์จนทำให้ไซเตส (CITES) หรืออนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าใกล้สูญพันธุ์ เพิ่มต้นพะยูงเข้าไปอยู่ในบัญชีที่ 2 เนื่องจากจำนวนของต้นพะยูงไม่ว่าจะเป็นในประเทศไทย พม่า เวียดนาม และลาว ลดลงเป็นอย่างมากจากความต้องการไม้พะยูงจากทั่วโลก ถึงแม้จะมีหลายโครงการจากทั้งภาครัฐและเอกชนที่ช่วยสงเสริมการปลูกต้นพะยูงเพื่อใช้ในเชิงพาณิชย์แต่ก็ยังคงไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้งาน เนื่องจากต้นพะยูงนั้นมีข้อจำกัดอยู่หลายด้าน ไม่ว่าจะเป็นอัตราการงอกของเมล็ดในธรรมชาติที่ต่ำ หรือในด้านของศัตรูตามธรรมชาติทั้งโรคและแมลงหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ โรคราสนิม ซึ่งเป็นโรคที่เกิดขึ้นกับใบของต้นพะยูงส่งผลให้ใบมีลักษณะเป็นด่างสีน้ำตาลคล้ายกับสนิมและเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรงที่สุด และนอกจากนั้นยังพบโรคแผลจุดนูนดำบนใบเกิดจากเชื้อรา 3 ชนิดในกลุ่ม ascomycete 2 ชนิด และ coelomycetes อีก 1 ชนิด โดยเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคเป็นเชื้อที่แพร่อยู่ทั่วไปในอากาศ (กฤษณา และคณะ, 2541) นอกจากนี้ต้นพะยูงยังมีพวกแมลงศัตรูพืชหลายชนิดด้วยกันที่สามารถทำลายได้ตั้งแต่ยังเป็นต้นอ่อนไปจนกระทั่งต้นที่โตเต็มวัยแล้วก็ตาม เช่น ด้วงหนวดพู่ *Arstobia approximater* Thoms.ที่ตัวแก่จะกัดกินเปลือกของกิ่งสน แต่ในขณะที่เป็นตัวหนอนจะเจาะลำต้นของพะยูงจนทำให้ลำต้นเน่าเปื่อยและตายไปในที่สุด (ฉวีวรรณ, 2525)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้นพะยูงเป็นพืชที่มีประโยชน์ทั้งทางด้านเศรฐกิจและสิ่งแวดล้อม โดยทางด้านเศรฐกิจนั้นต้นพะยูงมีเนื้อไม้ที่สวยงาม และแข็งแรงโดยคุณสมบัติเด่นของไม้พะยูงอยู่ตรงความที่เป็นไม้ที่มีเนื้อละเอียด เหนียว แข็ง ทนทาน และชักเงาได้ดี มีน้ำมันในตัว ความสวยงามของเนื้อไม้ตามธรรมชาตินั้น อยู่ที่ลวดลายวงปีที่มีความถี่ เนื่องมีจากการเติบโตในแต่ละปีที่ช้า ลำต้นส่วนใหญ่คดงอก็ยิ่งทำให้เกิดลวดลาย สีเนื้อไม้แดงเข้มจนอมม่วง กระพี้สีขาว เรียกว่า เนื้อไม้พะยูง ซึ่งมีความสวยงามและเป็นที่ต้องการมากกว่าไม้ชนิดอื่นๆจึงทำให้คนไทยนิยมนำไปใช้ทำเครื่องเรือน เครื่องใช้ในการแกะสลักและทำด้ามเครื่องมือต่างๆ ใช้ทำเกวียน เครื่องกลึงแกะสลัก ทำเครื่องดนตรี เช่น ซอ ขลุ่ย ลูกระนาด หรือแม้กระทั่ง ไม้คมแฝก ตะบอง และไม้เท้า นอกจากประโยชน์ในด้านการใช้สอยและคุณภาพของเนื้อไม้พะยูงแล้วนั้น ต้นพะยูงยังเป็น 1 ใน 9 ของไม้มงคลที่ใช้ในพิธีวางศิลาฤกษ์ นอกเหนือจาก ราชพฤกษ์ ขนุน ชัยพฤกษ์ ทองหลาง ไผ่สีสุก ทรงบาดาล สัก กันเกรา พะยูง เชื่อว่าเป็นมงคล คือพยุงฐานะให้ดีขึ้น ไม้พะยูงจึงเป็นที่ต้องการอย่างมากทั้งในและต่างประเทศ (สงคราม, 2557) ส่วนในด้านของสิ่งแวดล้อมนั้น เนื่องจากต้นพะยูงเป็นพืชที่อยู่ในตระกูลถั่วจึงมีระบบรากที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาเก็บไว้ในดิน จึงเป็นการบำรุงดินและเพิ่มแร่ธาตุในดิน

จากสถานการณ์ข้างต้นที่ได้กล่าวมาจะเห็นได้ว่าต้นพะยูงเป็นพืชที่มีความต้องการเป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นการใช้ประโยชน์ในชีวิตประจำวัน หรือใช้ประโยชน์ในทางด้านการค้าและพาณิชย์ ประกอบกับจำนวนของต้นพะยูงในธรรมชาติมีน้อยและยังคงมีแนวโน้มที่จะลดลงต่อไปเรื่อยๆ เนื่องมาจากมีความต้องการใช้งานที่มากแต่ต้นพะยูงมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการงอกของเมล็ดในธรรมชาติที่ต่ำ ประกอบกับมีศัตรูในธรรมชาติที่ค่อนข้างมาก ดังนั้นต้นพะยูงจึงเป็นพืชที่ควรเร่งการขยายพันธุ์ให้ได้ในปริมาณมาก และเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วเพื่อให้ทันต่อความต้องการ ซึ่งวิธีที่จะทำได้และเหมาะสมนั้นคือ การนำต้นพะยูงมาศึกษาเพื่อขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและพยายามที่จะขยายพันธุ์ต้นพะยูงจากชิ้นส่วนต่างๆให้ได้จากทุกส่วนหรือให้ได้มากที่สุด เพื่อให้ทุกชิ้นส่วนจากต้นพะยูงได้เกิดประโยชน์สูงสุด ซึ่งการขยายพันธุ์ต้นพะยูงโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นนอกจากจะเป็นการเพิ่มปริมาณของต้นพะยูงให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้นแล้วนั้น การขยายพันธุ์ต้นพะยูงด้วยวิธีการนี้นั้นยังทำให้ต้นใหม่ที่ได้มีลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนกับต้นตัวอย่างที่นำมาขยายพันธุ์ด้วย ซึ่งแตกต่างจากการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติที่เกิดจากการผสมเกสรและเกิดเป็นเมล็ดขึ้นจึงทำให้ต้นอ่อนที่ได้เกิดการแปรผันทางพันธุกรรม ซึ่งทำให้ได้ต้นอ่อนที่มีลักษณะที่แตกต่างไปจากต้นเดิมและอาจจะเป็นไปได้ที่จะได้สายพันธุ์ที่แย่ลงทั้งในด้านของความสวยงาม แข็งแรงของเนื้อไม้ หรือการทนต่อโรคและศัตรูพืชในธรรมชาติ อาจสงผลให้โอกาสรอดชีวิตในธรรมชาติลดลงไปอีกก็เป็นไปได้ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าการนำต้นพะยูงมาศึกษาเพื่อหาวิธีการเพิ่มจำนวนด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นนอกจากจะขยายพันธุ์ของต้นพะยูงให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้นแล้วยังคงเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมอันดีของต้นพะยูงเอาไว้ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อบริเวณผิวและท่อลำเลียงของชิ้นตัวอย่างต้นพะยูงสำหรับการนำมาเพาะเลี้ยงในสภาวะปลอดเชื้อ

2) เพื่อศึกษาผลกระทบของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีต่อชิ้นส่วนของต้นพะยูง ในการชักนำให้เกิดยอดและราก

3) เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของต้นพะยูงในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น ชนิดของอาหาร ชนิดของสารก่อเจล ชนิดของแหล่งคาร์บอน

4) เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำตัวอย่างพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมในธรรมชาติ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวตัวอย่างโดยใช้สารเคมีเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) คาร์เบนดาซิม และ สารลดแรงตึงผิวทวีน-20 (tween-20) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับสาร Plant Preservative Mixture (PPM) ในปริมาณที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อที่อยู่ในท่อลำเลียงของพืช โดยการทดลองในครั้งนี้นำชิ้นตัวอย่างพืชจากส่วนต่างๆมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Woody Plant Medium (WPM) และ Murashige and Skoog (MS) ที่ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง 5.8 และฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชคือ Gibberellic acid (GA_3) Kinetin (Kn) 6-Benzylaminopurine (BAP) และ Thidiazuron (TDZ) สำหรับการชักนำยอด ในส่วนของการชักนำรากจะมีการสารสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชคือ Indolebutyric acid (IBA) Naphthaleneacetic acid (NAA) และ Indole-3-acetic acid (IAA) เพาะเลี้ยงในสภาวะให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง ที่มืด 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อบริเวณผิวและท่อลำเลียงของชิ้นตัวอย่างต้นพะยูงที่ได้นำมาเพาะเลี้ยงในสภาวะปลอดเชื้อ

2) ทราบผลกระทบของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีต่อชิ้นส่วนของต้นพะยูง ในการชักนำให้เกิดยอดและราก

3) ทราบผลกระทบของปัจจัยอื่นๆที่ส่งผลต่อการเจริญของต้นพะยูงในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ชนิดของอาหาร ชนิดของสารก่อเจล ชนิดของแหล่งคาร์บอน ในการเกิดต้นใหม่

4) ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการนำตัวอย่างต้นพะยูงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมในธรรมชาติ เพื่อให้รอดและเจริญเติบโตต่อไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของต้นพะยูง

2.1.1 อนุกรมวิธานของต้นพะยูง

Kingdom Plantae

Subkingdom Viridiplantae

Infrakingdom Streptophyta

Superdivision Embryophyta

Division Tracheophyta

Subdivision Spermatophytina

Class Magnoliopsida

Superorder Rosanae

Order Fabales

Family Fabaceae

Genus Dalbergia

Species *Dalbergia cochinchinensis* Pierre

ชื่อสามัญ Siamese Rosewood ชื่อวิทยาศาสตร์ (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre) ชื่อท้องถิ่นอื่นๆ ว่า ประดู่เสน (ตราด) ขะยูง (อุบลราชธานี) ประดู่ตม (จันทบุรี) แดงจีน (ปราจีนบุรี) พะยูงไหม (สระบุรี) ประดู่ลาย (ชลบุรี) พะยูง (ทั่วไป) กระยง กระยูง (เขมร-สุรินทร์) หัวลีเมาะ (จีน) เป็นต้น (Niyomdham, 2002) โดยตามหนังสือชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทยของกรมป่าไม้ (2491) ได้ใช้คำว่า พะยูง เป็นชื่อเรียกในภาษาราชการในขณะนั้น ขณะที่ สะอาด และคณะ (2525) ได้เพิ่มชื่อพื้นเมืองอีกชื่อคือ ประดู่ตม (จันทบุรี) และต่อมาสำนักงานหอพรรณไม้ (2557) ได้ใช้ชื่อว่าพะยูงเป็นชื่อเรียกในภาษาราชการแทน และได้เพิ่มชื่อพื้นเมืองขึ้นอีกหนึ่งชื่อคือ ประดู่น้ำ (จันทบุรี)

2.1.2 ลักษณะสัณฐานของต้นพะยูง

ต้นพะยูงเป็นไม้ต้นขนาดกลาง มีความสูงอยู่ที่ 30 เมตร ลำต้นเปลือกชั้นนอกแตกร่อนเป็นสะเก็ดหรือร่องตื้นๆ ไม่เป็นระเบียบตามมัดเส้นใย สีน้ำตาลอมเหลือง เปลือกลำต้นชั้นในสีเหลืองอ่อน กระพี้สีขาว สีของแก่นผันแปรตั้งแต่สีส้มเหลืองไปจนถึงสีน้ำตาลดำ มองเห็นเป็นเส้นมีวงปีเด่นชัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะลำต้น และลักษณะเปลือกลำต้นของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย

(ที่มา : www.phargarden.com)

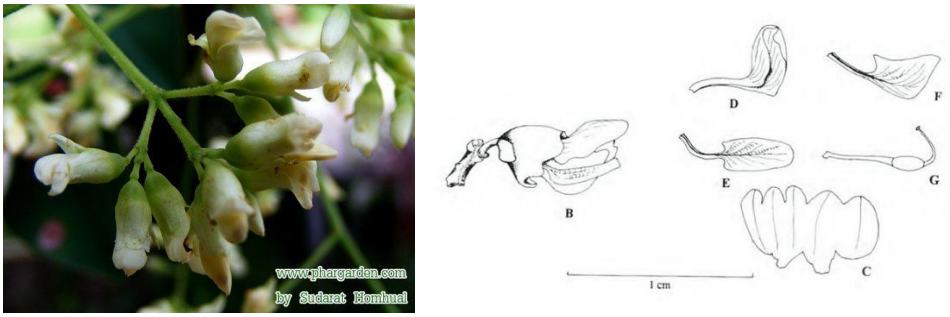
ในส่วนของใบต้นพะยูงนั้นเป็นใบประกอบขนนกปลายใบคี่ (imparipinnately compound leaf) เรียงเวียน หรือสลับ ไม่มีหูใบ มีใบย่อยประมาณ 7 – 13 ใบ ใบย่อยมีลักษณะรูปไข่แกมรูปขอบขนานกว้าง 3 – 4 เซนติเมตร ยาว 4 – 7 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบมนหรือเป็นรูปกว้างขอบใบเรียบ ผิวใบด้านบนสีเขียวเข้ม ด้านล่างสีขาวนวล ใบเหนียวคล้ายแผ่นหนังบางๆ เส้นแขนงใบ 5 – 7 เส้น ก้านใบย่อยยาว 3 – 6 มิลลิเมตร

รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะใบของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย

(ที่มา : Niyomdham, 2002)

ต้นพะยูงออกดอกเป็นช่อแบบแยกแขนง (panicle) หรือช่อกระจะ (raceme) ออกตามซอกใบหรือปลายกิ่ง ใบประดับ และใบประดับย่อย (bracts และ bracteoles) ร่วงง่าย ดอกมีลักษณะเป็นดอกแบบถั่ว (papilionaceous) กลีบดอกสีขาวดอกบานเต็มที่กว้าง 5 – 8 มิลลิเมตร มีเกสรเพศผู้ 10 อัน ส่วนใหญ่ แยกเป็น 2 มัด แบบ diadelphous (9+1) หรือเชื่อมติดกันมัดเดียว (monodelphous) รังไข่ไม่มีก้านชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะดอกของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย

(ที่มา : www.phargarden.com และ Niyomdham, 2002)

ลักษณะผลของต้นพะยูง เป็นฝักแห้งไม่แตก (indenhiscent) รูปขอบขนานแบนและบาง สีน้ำตาลแดง กว้าง 1 – 2 เซนติเมตร มองเห็นเส้นใยบนเปลือกผลบริเวณรอยนูนของเมล็ด เมล็ดมีลักษณะคล้ายรูปไตสีน้ำตาลเข้ม มี 1 – 4 เมล็ด ลักษณะสัณฐานผลใกล้เคียงผลชิงชันแต่มีขนาดเล็กกว่า ระยะออกดอกและการติดผล ต้นพะยูงจะออกดอกเดือนพฤษภาคมไปจนถึงเดือนกรกฎาคม และจะติดผลเดือนกรกฎาคมถึงเดือนกันยายน

รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะฝักของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย

(ที่มา : www.phargarden.com และ Niyomdham, 2002)

นิเวศของแหล่งกระจายพันธุ์ ส่วนใหญ่ต้นพะยูงอยู่ในสังคมป่าดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณ พบได้น้อยตามสังคมพืชที่เชื่อมต่อระหว่างป่าเต็งรังกับป่าดิบแล้ง หรือป่าเบญจพรรณกับป่าดิบแล้ง พื้นที่ยกสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 100 – 200 เมตร พบได้ทั่วไปในประเทศไทย ลาว กัมพูชา และเวียดนาม (วิชาญ, 2559)

2.1.3 การปลูก และการดูแลรักษา

ต้นพะยูง เป็นพืชที่สามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งวิธีอาศัยเพศ (reproductive propagation) คือ จากเมล็ด และวิธีไม่อาศัยเพศ (vegetative propagation) เช่น การตอนกิ่ง ติดตา ต่อกิ่ง รวมทั้งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่วิธีที่นิยมใช้กันมากในขณะนี้ก็คือการเพาะเมล็ด เมล็ดที่เก็บรักษาไว้ถูกวิธีสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานถึง 3 ปี โดยมีอัตราการงอกประมาณร้อยละ 75 เพื่อเร่งอัตราการงอกของเมล็ดควรนำเมล็ดไปแช่น้ำเย็น 24 ชั่วโมง หรือน้ำอุ่น 6 ชั่วโมง หรือกรดกำมะถัน 1 นาที แล้วนำไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพาะในกระบะทราย เมล็ดจะงอกภายใน 7 วัน หลังจากการเพาะเลี้ยง 10 วัน สามารถย้ายต้นกล้าลงถุงพลาสติก แล้วเลี้ยงกล้าไว้จนมีอายุราว 6 เดือน กล้าไม้ที่ใช้ปลูกควรมีความสูงราวๆ 30 - 40 เซนติเมตร ในช่วงการเลี้ยงต้นกล้าไว้ในเรือนเพาะชำ มีข้อควรระวังคือต้องระวังอย่ารดน้ำจนชื้นแฉะเกินไป เนื่องจากจะทำให้เกิดโรคเน่าคอดิน (damping-off) ได้ ต้นพะยูงสามารถปลูกได้ทั้งโดยการใช้กล้าที่เลี้ยงไว้ในถุงพลาสติก (containerized seedling) กล้าเปลือยราก (bared root seedling) และเง้า (stump) ซึ่งตัดแต่งมาจากกล้าเปลือยราก จากการทดลองของกรมป่าไม้พบว่าต้นกล้าพะยูงในถุงพลาสติกมีอัตราการรอดภายหลังการปลูก 1 ปี สูงกว่าการใช้เง้าและกล้าเปลือยราก โดยมีอัตราการรอดร้อยละ 84.50 80.50 และ66.25 ตามลำดับ

โดยธรรมชาติต้นพะยูงขึ้นอยู่ในป่าเบญจพรรณ และป่าดิบแล้งที่ดินมีการระบายน้ำได้ดี น้ำไม่ท่วมขัง อยู่ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเลไม่เกิน 500 เมตร ในการเลือกพื้นที่ปลูกก็ควรจะต้องสอดคล้องกับสภาพแวดล้อมในถิ่นกำเนิดเดิมพอสมควร ส่วนเรื่องของระยะการปลูกที่เหมาะสมสำหรับการปลูกเชิงเดี่ยวคือ 2 x 2 เมตร หรือ 400 ต้นต่อไร่ เพื่อบีบให้ลำต้นตรงและมีการลิดกิ่งตามธรรมชาติออก แต่ถ้าปลูกในระบบวนเกษตร (agroforestry system) หรือปลูกผสมกับไม้ชนิดอื่น (multi-species plantation) ก็ควรจะขยายระยะปลูกในระยะ 4 x 4 เมตร หรือ 2 x 8 เมตร หรือ 100 ต้นต่อไร่ โดยพืชเกษตรที่ปลูกควบคู่ก็ควรจะพิจารณาจากสภาพแวดล้อมของพื้นที่ และความต้องการของตลาดเป็นสำคัญ ส่วนพันธุ์ไม้ป่าที่จะเลือกเข้ามาปลูกแทรกก็ต้องยึดเอาชนิดพันธุ์ที่ขึ้นอยู่ร่วมกันในธรรมชาติเป็นหลัก เช่น ไม้สัก ประดู่ มะค่าโมง และไม้ไผ่ เป็นต้น ในส่วนของด้านการเตรียมพื้นที่ปลูกให้ประณีตด้วยการไถพรวน และขุดหลุมให้ใหญ่ขนาด 30 x 30 x 30 เซนติเมตร รวมทั้งรองก้นหลุมด้วยปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก หรือปุ๋ยเคมีก็สามารถช่วยให้ต้นกล้าตั้งตัวได้เร็วขึ้น ในส่วนของมาตรการการดูแลรักษาสวนป่าไม้พะยูงที่สำคัญคือ การกำจัดวัชพืชควรถางวัชพืชอย่างน้อยปีละ 3-4 ครั้ง การกำจัดวัชพืชก็ยังเป็นการช่วยลดปริมาณเชื้อเพลิงไปด้วยในตัว ถึงแม้ต้นพะยูงจะเป็นพืชที่ทนต่อไฟป่ามากพอสมควร แต่ถ้าไฟไหม้รุนแรงจนเป็นไฟเรือนยอด (crown fire) ต้นไม้ที่ปลูกไว้ก็อาจตายได้ หรืออย่างน้อยก็ทำให้การเจริญเติบโตเกิดการชะงักและกระทบต่อรูปทรงของลำต้นได้

ต้นพะยูงในสวนป่าเมื่อโตขึ้นจะมีการแก่งแย่งแสงสว่างในทางเรือนยอด และน้ำรวมถึงอาหารพืชในทางเรือนราก ดังนั้นการตัดสางขยายระยะจึงเป็นสิ่งจำเป็นโดยตลอดช่วงอายุขัยก่อนการตัดฟันครั้งสุดท้าย จะต้องมีการตัดสางขยายระยะ 3-4 ครั้ง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะปลูกในตอนแรกและอัตราการเจริญเติบโตของต้นไม้เป็นสิ่งสำคัญ โดยที่ไม้ขนาดเล็กที่ได้จากการตัดสางขยายระยะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ตามความเหมาะสม เช่น ใช้แกะสลัก ทำของที่ระลึก ตกแต่งภายในอาคาร ทำของเด็กเล่น ทำด้ามเครื่องมือ และใช้ไม้สอยทั่วไป รวมทั้งใช้ทำเฟอร์นิเจอร์ขนาดเล็ก การตัดสางขยายระยะช่วยให้ต้นไม้ที่เหลือเจริญเติบโตได้เร็วขึ้น แต่ภายหลังการตัดสางขยายระยะได้ไม่นาน ต้นไม้อาจแตกกิ่งก้านตามลำต้นมากขึ้นก็ได้ประกอบกับต้นพะยูงเป็นพืชที่มีลำต้นคดงอ กิ่งก้านใหญ่ ช่วงลำต้นสั้น การลิดกิ่งจึงเป็นมาตรการการจัดการสวนป่าไม้ชนิดนี้ที่ต้องกระทำอีกอย่างหนึ่งเช่นเดียวกับการตัดสางขยายระยะ โดยต้องค่อยๆลิดกิ่งให้มีลำต้นตรงเปลา ปราศจากกิ่งก้านสูงขึ้นไปจากพื้นต้นราว 8-10 เมตร กิ่งก้านที่ได้จากการลิดกิ่งก็สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เช่นกัน ต้นพะยูงเป็นต้นไม้ที่แตกหน่อภายหลังการตัดฟันได้ดีเช่นเดียวกับไม้สัก ไม้แดง และไม้ยูคาลิปตัส ดังนั้นระบบการตัดให้แตกหน่อ (coppice system) จึงสามารถนำมาใช้กับสวนป่าไม้พะยูงได้เช่นเดียวกับสวนยูคาลิปตัส และสวนไม้สัก จากการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการเติบโต พบว่าต้นพะยูงมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 0.94 เซนติเมตรต่อปี และความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 0.76 เมตรต่อปี ซึ่งจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่าต้นพะยูงเป็นไม้ที่มีอัตราการเจริญเติบโตปานกลาง รอบตัดฟันยาว และมูลค่าของเนื้อไม้สูงมาก การปลูกสวนป่าไม้พะยูงมีโอกาส และความเป็นไปได้สูง และถ้ามีการจัดการที่ดีพอจะส่งผลให้ได้ผลผลิตที่ต้องการในปริมาณมาก และมีผลผลิตอย่างยั่งยืน อีกทั้งยังเป็นการลดแรงกดดันจากปัญหาการลักลอบตัดไม้พะยูงจากป่าธรรมชาติได้อีกทางหนึ่งด้วย (จงรัก, 2557)

2.1.4 ลักษณะทางกายวิภาคที่แตกต่างระหว่างเนื้อไม้ของต้นพะยูงและต้นชิงชัน

ต้นพะยูงและต้นชิงชันเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Fabaceae (Leguminosae) วงศ์ย่อย Papilionoideae สกุล Dalbergia พืชในสกุลนี้เป็นพืชที่มีเนื้อไม้แข็ง และมีสีแก่นที่สวยงามมากที่สุดชนิดหนึ่งของโลก มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนชื้นของแถบอินโดจีน โดยในประเทศไทยต้นพะยูงจะขึ้นกระจัดกระจายทั่วไปในป่าเบญจพรรณชื้น และป่าดิบแล้งทั่วไปในภาคตะวันออก และตะวันออกเฉียงเหนือ สูงจากระดับน้ำทะเล 50 – 200 เมตร ส่วนต้นชิงชันนั้นโดยทั่วไปจะขึ้นในป่าดิบ และป่าเบญจพรรณทั่วไป สูงจากระดับน้ำทะเลไม่เกิน 500 เมตร ยกเว้นทางภาคใต้ เนื้อไม้ของพืชทั้งสองชนิดจัดอยู่ในชั้นคุณภาพเกรด A หรือชั้นคุณภาพดี เหมาะแก่การนำมาทำเครื่องเรือนได้เป็นอย่างดี หรืออาจนำไปใช้ทำเป็นอย่างอื่น เช่น ด้ามเครื่องมือ การกลึง การแกะสลัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นพะยูงนั้น นอกจากเนื้อไม้ที่มีคุณภาพดีเยี่ยมแล้ว ในด้านของชื่อนั้นความหมายก็ยังเป็นมงคลอีกด้วยทั้งในประเทศไทย และประเทศจีน ทำให้ไม้พะยูงเป็นที่ต้องการอย่างมากในตลาดต่างประเทศ จึงทำให้มีการลักลอบตัดไม้พะยูงอย่างผิดกฎหมายจากป่าในธรรมชาติอย่างมากมาย จนทำให้เกรงกันว่าในอนาคตต้นจะสูญพันธุ์ ด้วยเหตุนี้ในปี พ.ศ.2556 รัฐยาลไทยได้เสนอให้ประเทศที่เป็นภาคีอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศ ซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพันธุ์พืชป่าที่ใกล้จะสูญพันธุ์หรือไซเตส (CITES) ได้ขึ้นบัญชีเป็นไม้หวงห้ามที่ต้องมีการควบคุมต่อการค้าระหว่างประเทศ โดยขึ้นให้ไม้พะยูงอยู่ในบัญชีที่ 2

เนื่องจากเนื้อไม้ของต้นพะยูงและต้นชิงชันมีลักษณะและสีที่มีความคล้ายคลึงกันมาก ดังนั้นการจำแนกชนิดของเนื้อไม้จึงต้องพิจารณาที่ลักษณะทางกายวิภาคที่แตกต่างกัน โดยลักษณะเนื้อไม้ของต้นพะยูงและต้นชิงชันมีความแตกต่างกันทางกายวิภาคดังนี้

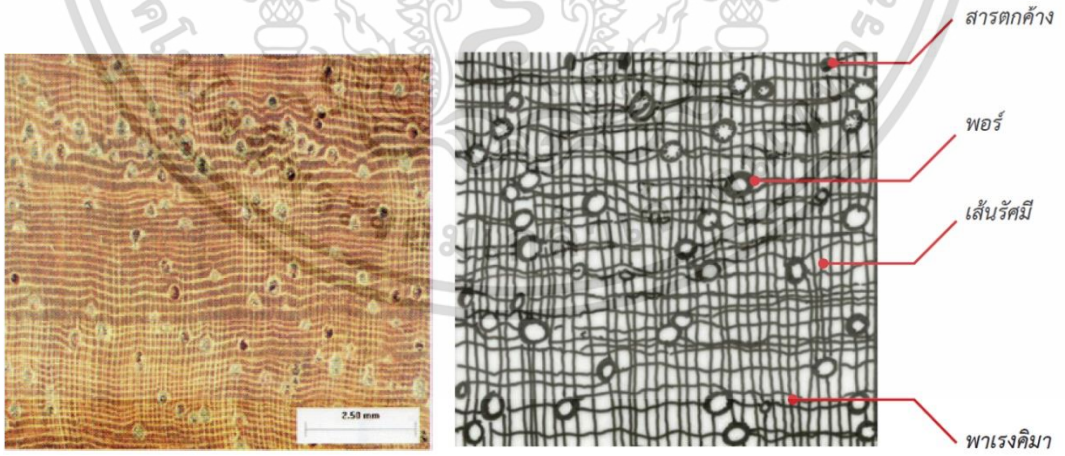
ลักษณะเนื้อไม้ของต้นพะยูง (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre) ลักษณะทางกายวิภาคที่สามารถเห็นได้ด้วยแว่นขยายขนาด 10 – 15 เท่า (handlens) คือพอร์ ส่วนมากเป็นพอร์เดี่ยว (solitary pore) ส่วนพอร์แฝด (multiple pore) มีปะปนให้เห็นได้อยู่บ้าง 2 – 3 เซลล์ การเรียงตัวของพอร์เป็นแบบกระจัดกระจาย (diffuse porous) พอร์ที่พบส่วนใหญ่เป็นพอร์ที่มีขนาดใหญ่ ภายในพอร์มีสารตกค้างดีพอซิท (deposit) เป็นบางพอร์ รัศมีเห็นไม่ค่อยชัด พาเรงคิมาแบบปีก (aliform parenchyma) และพาเรงคิมาแบบปีกต่อ (confluent parenchyma) มีลายริ้ว (ripplemark) ที่มองเห็นทางด้านสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะเนื้อไม้ของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย

(ที่มา : กรมป่าไม้, 2558)

ลักษณะเนื้อไม้ของต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri* Gamble) ลักษณะทางกายวิภาคที่สามารถเห็นได้ด้วยแว่นขยายขนาด 10 – 15 เท่า (handlens) คือพอร์ พอร์เดี่ยว (solitary pore) และพอร์แฝด (multiple pore) แฝด 2 - 3 เซลล์ การเรียงตัวของพอร์เป็นแบบกระจัดกระจาย (diffuse porous) เช่นเดียวกับลักษณะในเนื้อไม้ของต้นพะยูง ส่วนลักษณะที่แตกต่างจากเนื้อไม้ของต้นพะยูงคือในส่วนของพอร์ใหญ่บางพอร์ ภายในพอร์จะมีการสะสมของไทโลส (tylose) เส้นรัศมีมองเห็นได้ชัดเจนกว่าต้นพะยูง พาเรงคิมาเป็นแบบพาเรงคิมาไม่ติดพอร์ (metatrachal parenchyma) แบบเป็นเส้นขนาดเล็ก (fine line) มีลายริ้ว (ripplemark) ที่มองเห็นทางด้านสัมผัส (ธีระ, 2559)



รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะเนื้อไม้ของต้นชิงชัน

(ที่มา : กรมป่าไม้, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 กฎหมายเกี่ยวกับต้นพะยูง

จากเหตุการลักลอบตัดต้นพะยูงที่อยู่ในแหล่งธรรมชาติเป็นปัญหาคุกคามทำให้จำนวนของต้นพะยูงในธรรมชาติลดลงเป็นอย่างมาก รวมถึงป่าไม้อนุรักษ์ไม่ว่าจะเป็นอุทยานแห่งชาติ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า หรือแม้กระทั่งจากแหล่งที่ดินกรรมสิทธิ์ และไม้พะยูงก็ยังคงเป็นที่ต้องการของตลาดเป็นอย่างมากไม่ว่าจะเป็นตลาดค้าไม้ทั้งในประเทศหรือต่างประเทศ จึงทำให้จำนวนของต้นพะยูงในธรรมชาติลดลงเป็นอย่างมากจนถูกจัดอยู่ในพันธุ์ไม้ใกล้สูญพันธุ์ โดยในช่วงแรกเมื่อปีพุทธศักราช 2484 ได้มีการออกพระราชบัญญัติป่าไม้ ในพระปรมาภิไธยสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวอานันทมหิดล จัดให้ต้นพะยูงอยู่ในไม้หวงห้ามประเภท ก คือห้ามไม่ให้มีการแปรรูปไม้ ตั้งโรงงานแปรรูปไม้ ตั้งโรงค้าไม้แปรรูป และห้ามมีไว้ในครอบครองไม่ว่าจำนวนเท่าใดก็ตาม แต่แล้วต่อมาภายหลังได้มีการแก้ไขโดยมีการประกาศของคณะรักษาความสงบแห่งชาติฉบับที่ 106/2557 เรื่อง แก้ไขเพิ่มเติมกฎหมายว่าด้วยป่าไม้ เพื่ออนุรักษ์ไว้ซึ่งแหล่งพันธุกรรมของต้นพะยูงภายในประเทศ

ต้นพะยูงเป็นไม้หวงห้ามประเภท ก ตามประกาศคณะรักษาความสงบแห่งชาติฉบับที่ 106/2557 เรื่อง แก้ไขเพิ่มเติมกฎหมายว่าด้วยป่าไม้ เมื่อวันที่ 21 กรกฎาคม พุทธศักราช 2557 มีใจความในส่วนที่สำคัญและมีความเกี่ยวข้องกับต้นพะยูงดังนี้ ภายในเขตควบคุมการแปรรูปไม้ ห้ามไม่ให้มีการแปรรูปไม้ ตั้งโรงงานแปรรูปไม้ ตั้งโรงค้าไม้แปรรูป เว้นแต่ได้รับอนุญาตจากพนักงานเจ้าหน้าที่ และต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดในกฎกระทรวงและในการอนุญาต และในกรณีมีความผิดตามมาตรานี้ เช่นถ้ามีไม้พะยูงไว้ในครอบครองเป็นต้นหรือเป็นท่อนอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือทั้งสองอย่างรวมกันเกิน ยี่สิบต้น หรือท่อน หรือรวมปริมาตรไม้เกินสี่ลูกบาศก์เมตร ผู้กระทำความผิดต้องโทษจำคุกตั้งแต่หนึ่งปีถึงยี่สิบปี และปรับตั้งแต่ห้าหมื่นบาทถึงสองล้านบาท แต่ถ้าหากมีครอบครองเกินห้าต้นหรือท่อนหรือรวมปริมาตรไม้ที่ครอบครองเกินหนึ่งลูกบาศก์เมตร จะมีโทษจำคุกตั้งแต่สองปีถึงสิบห้าปี และปรับตั้งแต่หนึ่งแสนบาทถึงหนึ่งล้านห้าแสนบาท (วิชาญ, 2559)

เนื่องจากพระราชบัญญัติป่าไม้ฉบับก่อนหน้านั้นถูกสร้างขึ้นมาเพื่อใช้ในการป้องกัน และรักษาพันธุ์ไม้มีค่าที่อยู่ในป่าเป็นหลักจึงเป็นอุปสรรคในการดำเนินการส่งเสริมการเพาะปลูก และการใช้ประโยชน์จากไม่มีค่า เช่น ไม้สัก ไม้ยาง ไม้ชิงชัน ไม้เก็ดแดง ไม้อีเม่ง ไม้พะยูงแกลบ ไม้กระพี้ ไม้แดงจีน ไม้ขะยูง ไม้กระซิก ไม้กระซิบ ไม้พะยูง ไม้หมากพลูตั๊กแตน ไม้กระพี้เขาควาย ไม้เก็ดดำ ไม้อีเฒ่า และ ไม้เก็ด เขาควาย หรือไม้หวงห้ามประเภท ข หรือไม้อื่นเป็นต้น จึงทำให้เมื่อวันที่ 16 เมษายน พุทธศักราช 2562 ได้มีการประกาศราชกิจจานุเบกษาพระราชบัญญัติป่าไม้ (ฉบับที่ ๘) พุทธศักราช 2562 สมเด็จพระเจ้าอยู่หัวมหาวชิราลงกรณบดินทรเทพยวรางกูร มีพระราชโองการโปรดเกล้าฯให้ประกาศว่า เป็นการสมควรแก้ไขเพิ่มเติมกฎหมายว่าด้วยป่าไม้จึงทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้ตราพระราชบัญญัติขึ้นไว้โดยคำแนะนำ และยินยอมของสภานิติบัญญัติแห่งชาติทำหน้าที่รัฐสภา โดยได้ยกตัวอย่างเฉพาะข้อที่มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับต้นพะยูงโดยตรงดังต่อไปนี้ คือ ให้ยกเลิกความในวรรคหนึ่งของมาตรา 7 แห่งพระราชบัญญัติป่าไม้พุทธศักราช 2484 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศคณะรักษาความสงบแห่งชาติ ฉบับที่ 106/2557 เรื่อง แก้ไขเพิ่มเติมกฎหมายว่าด้วยป่าไม้ ลงวันที่ 21 กรกฎาคม พุทธศักราช 2557 และให้ใช้ความต่อไปนี้แทน “มาตรา 7 ไม้ชนิดใดที่ขึ้นในป่าจะให้เป็นไม้หวงห้ามประเภทใด ให้กำหนดโดยพระราชกฤษฎีกา สำหรับไม้ทุกชนิดที่ขึ้นในที่ดินที่มีกรรมสิทธิ์หรือสิทธิครอบครองตามประมวลกฎหมายที่ดิน ไม่เป็นไม้หวงห้าม หรือไม้ที่ปลูกขึ้นในที่ดินที่ได้รับอนุญาตให้ทำประโยชน์ตามประเภทหนังสือแสดงสิทธิที่รัฐมนตรีประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะรัฐมนตรี ให้ถือว่าไม่เป็นไม้หวงห้าม” กล่าวโดยสรุปก็คือในกรณี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของต้นพะยูง ถ้าหากเป็นต้นพะยูงที่ขึ้นตามธรรมชาติในป่า ให้ถือว่ายังคงเป็นไม้หวงห้ามประเภท ก และมีบทลงโทษถ้าหากมีไว้ในครอบครองตามเดิม แต่ถ้าหากเป็นต้นพะยูงที่ขึ้น หรือปลูกในที่ดินที่เป็นเจ้าของตามกรรมสิทธิ์หรือสิทธิครอบครองตามประมวลกฎหมายที่ดินจะไม่จัดเป็นไม้หวงห้ามอีกต่อไป แต่ก็ยังคงมีความจำเป็นที่จะต้องแจ้งต่อรัฐบาลในการขออนุญาตเพื่อปลูก และตัดขาย เนื่องจากจะเป็นการระบุได้อย่างชัดเจนว่าไม้ที่ได้ทำการตัดขาย หรือมีการแปรรูปนั้น ได้มาจากการเพาะปลูกเชิงพาณิชย์ ไม่ได้มาจากการลักลอบตัดไม้ในป่าธรรมชาติ โดยผู้ที่ต้องการจะปลูกต้นพะยูงสามารถขอขึ้นทะเบียนเป็นสวนป่ากับกรมป่าไม้ได้ จากข้อมูลของกรมป่าไม้การขึ้นทะเบียนที่ดินเป็นสวนป่าตาม พ.ร.บ. สวนป่า พุทธศักราช 2535 และที่แก้ไขเพิ่มเติม เป็นการขึ้นทะเบียนโดยสมัครใจ ซึ่งจะได้รับความคุ้มครองสิทธิ์ในการทำไม้ที่ปลูก เช่น การตัดโค่น การแปรรูป การค้าไม้ และการนำไม้เคลื่อนที่ไปยังสถานที่ต่างๆ ทั้งยังสามารถ เก็บหา ค้ามีไว้ในครอบครองซึ่งของป่าจากสวนป่าของตนเอง โดยได้รับการยกเว้นค่าภาคหลวงไม้และของป่า นอกจากนี้ในกรณีส่งไม้ออกไปจำหน่ายต่างประเทศ สามารถขอออกใบรับรองการจัดการป่าไม้อย่างยั่งยืนตามความต้องการของประเทศปลายทาง ทั้งนี้การขึ้นทะเบียนที่ดินเป็นสวนป่า รัฐไม่เรียกเก็บค่าธรรมเนียมหรือค่าใช้จ่ายอื่นใดทั้งสิ้น โดยผู้ที่ต้องการทำสวนป่าสามารถทำเรื่องเอกสารกับกรมป่าไม้ได้ดังนี้ การขึ้นทะเบียนที่ดินเป็นสวนป่า ใช้เวลาโดยประมาณ 15 วัน การจัดทำตราแสดงการเป็นเจ้าของไม้ ใช้เวลาโดยประมาณ 7 วัน การตัดหรือโค่นไม้ ใช้เวลาโดยประมาณ 1 วัน การนำไม้เคลื่อนที่ ใช้เวลาโดยประมาณ 2 วัน การใช้สถานที่เพื่อทำการแปรรูปไม้ ใช้เวลาโดยประมาณ 15 วัน การขอหนังสือรับรองการมีของป่าเพื่อการค้ามีไว้ในครอบครองหรือนำเคลื่อนที่ ใช้เวลาโดยประมาณ 7 วัน การขอใบรับรองการจัดการป่าไม้อย่างยั่งยืน ทั้งนี้ ชนิดไม้ที่ปลูกจะต้องเป็นไม้หวงห้ามตามพระราชบัญญัติป่าไม้ พุทธศักราช 2484 และผู้ขอขึ้นทะเบียนจะต้องเป็นผู้มีกรรมสิทธิ์ สิทธิครอบครอง หรือผู้มีสิทธิ์ใช้ประโยชน์ในที่ดินประเภทหนึ่งประเภทใด ดังต่อไปนี้ (1) ที่ดินที่มีโฉนดที่ดินหรือหนังสือรับรองการทำประโยชน์ตามประมวลกฎหมายที่ดิน (น.ส.4, น.ส.3) (2) ที่ดินที่มีหนังสือแสดงการทำประโยชน์ น.ค.3 หรือ กสน.5 (3) ที่ดินในเขตปฏิรูปที่ดินตามกฎหมายว่าด้วยการปฏิรูปที่ดินเพื่อเกษตรกรรมที่มีหลักฐานการอนุญาต การเช่าหรือเช่าซื้อ (ส.ป.ก.4-01) (4) ที่ดินที่มีหนังสืออนุญาตตามกฎหมายว่าด้วยป่าสงวนแห่งชาติให้บุคคลเข้าไปทำการปลูกป่าในเขตปรับปรุงป่าสงวนแห่งชาติ หรือเข้าทำการปลูกสร้างสวนป่า หรือไม้ยืนต้นในเขต ป่าเสื่อมโทรม (สทก.1 ข, ป.ส.31) (5) ที่ดินที่ได้ดำเนินการเพื่อการปลูกป่าอยู่แล้วโดยทบวงการเมือง รัฐวิสาหกิจหรือหน่วยงานอื่นของรัฐ

2.3 สถานการณ์ป่าไม้พะยูงในประเทศไทย

สถานการณ์การลักลอบตัดไม้พะยูงวิกฤติหนักในช่วงปีที่ พ.ศ. 2547-2557 ความต้องการซื้อของไม้พะยูงมีสูงมากมาจากพ่อค้าจากประเทศจีน และด้วยสาเหตุที่แหล่งไม้พะยูงในประเทศเพื่อนบ้านไม่ว่า ลาว เวียดนาม และกัมพูชา ถูกลักลอบตัดฟันเกือบหมดไปก่อนหน้านี้ ดังนั้นเป้า หมายสุดท้ายของวัตถุดิบเนื้อไม้พะยูงก็คือ ประเทศไทยอันเป็นแหล่งสุดท้ายของโลก จากเริ่มต้น ในปี พ.ศ. 2537-2547 แหล่งรับซื้อตั้งราคารับซื้อ ลูกบาศก์เมตรละ 80,00-200,000 บาท เพิ่มสูงขึ้น เป็น 2 - 5 เท่า ในปี พ.ศ. 2552-2556 คืออยู่ที่ลูกบาศก์เมตรละ 200,00-500,000 บาท จึงเป็นสาเหตุชักจูงใจแก่ผู้ลักลอบตัดไม้ และยังมีนายทุนจากต่างชาติเข้ามาสร้างเครือข่ายตัดไม้พะยูง ในพื้นที่ป่าอนุรักษ์หลายๆแหล่งของไทยที่ยังเป็นแหล่งไม้พะยูงที่สมบูรณ์ไม่ว่าบริเวณกลุ่มป่าภูพาน-ภูสระดอกบัว กลุ่มป่าพนมดงรัก-ผาแต้ม กลุ่มป่าภูเขียว-น้ำหนาว และกลุ่มป่าดงพญาเย็น และเขาใหญ่ เป็นต้น ที่ผ่านมาถึงแม้เจ้าหน้าที่ได้สนธิกำลังร่วมกับทหารตำรวจปราบปรามอย่างเต็มที่แต่ก็ปรากฏ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่ายังคงมีไม้ถูกตัดออกจากป่าจำนวนมากเช่นกันทั้งนี้เจ้าหน้าที่สามารถจับกุมและยึดไม้พะยูง ของกลางไว้คิดเป็นมูลค่ามากถึง 1.9 หมื่นล้านบาท และรัฐบาลก็ไม่ให้นำไม้ออกมาขายทอดตลาดเพราะเป็นห่วงว่าจะถูกนายทุนพวกนี้มาซื้อไม้พะยูงกลับเอาไป การลักลอบตัดไม้พะยูงนั้นจะทำเป็นขบวนการโดยมีทั้งในส่วนของคนไทยเอง และประชาชนจากประเทศเพื่อนบ้านโดยการลักลอบค้าไม้พะยูงข้ามพรมแดน (วิชาญ, 2559)

โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงปี 2556 ในปี 2554 - 2556 มี 3,588 คดี มีมากกว่าร้อยละ 90 เป็นคดีในปี 2556 มีจำนวนผู้ต้องหา 1,819 ราย ได้ไม้พะยูง 64,363 ท่อน ไม้แปรรูป 60,908 แผ่น รวมมูลค่าหลายพันล้านบาท ด้านกรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืชที่ดูแลพื้นที่ป่าอนุรักษ์ได้รายงานว่าในปี 2556 มีคดีลักลอบตัดไม้พะยูงสามารถตรวจยึดจับกุมได้ 1,619 คดี ผู้ต้องหา 1,052 ราย ไม้ของกลาง 18,255 ท่อน/แผ่น/เหลี่ยม คิดเป็นมูลค่าประมาณ 557 ล้านบาท ไม้พะยูงของกลางที่เจ้าหน้าที่ตรวจยึดไว้ได้ส่วนใหญ่เป็นท่อนขนาดเล็กและขนาดกลาง ส่วนต้นขนาดใหญ่มีไม่มากคาดว่าเนื่องจากได้มีการขนส่งไปต่างประเทศก่อนโดยนายทุน อีกหนึ่งสาเหตุที่ไม้พะยูงมีราคาสูงเนื่องจากในเรื่องของความเชื่อ ต้นพะยูงเป็นต้นไม้มงคล และเป็นต้นไม้ประจำจังหวัดหนองบัวลำภู และต้นพะยูงเป็นหนึ่งในไม้มงคล 9 ชนิด ได้แก่ 1) ราชพฤกษ์ (*Cassia fistila*) หมายถึง ความเป็นใหญ่และมีอำนาจวาสนา 2) ชัยพฤกษ์ (*Cassia javanica*) หมายถึง มีโชคชัย ชัยชนะ 3) ทองหลาง (*Erythrina variegota*) หมายถึง มีเงินมีทอง 4) ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) หมายถึง มีความสุข 5) กรันเกรา (*Fagraea fragrans*) หมายถึง ป้องกันภัยอันตรายต่างๆ 6) ทรงบาดาล (*Cassia surattensis*) หมายถึง ความมั่นคงหรือทำให้มั่นคงแข็งแรง 7) สัก (*Tectona grandis*) หมายถึง ความมีศักดิ์ศรีมีเกียรติ 8) ขนุน (*Artocarpus heterophylla*) หนุนให้ชีวิตดีขึ้น รวยขึ้น ทำอะไรจะมีคนให้การเกื้อหนุน และ 9) พะยูง (*Dalbergia cochinchinensis*) หมายถึง พยุงฐานะให้ดีขึ้น และนอกจากในด้านของความเชื่อแล้วนั้นต้นพะยูงยังมีข้อดีในด้านเนื้อไม้ เนื้อไม้ของต้นพะยูงมีลักษณะเนื้อไม้ละเอียดเหนียวแข็งแรงทนทาน และชักเงาได้ดีมีน้ำมันในตัวจึงนิยมใช้ทำเครื่องเรือน เครื่องกลึง แกะสลัก กล่อง ไม้เท้า กำไล ด้ามเครื่องมือเครื่องใช้ เครื่องดนตรี เช่น ขลุ่ย ลูกระนาด ส่วนต่างๆของต้นพะยูงมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพร เช่น เปลือกต้มเอาน้ำมาอมรักษาอาการปากเปื่อยปากแตก รากใช้กินรักษาแก้ไข้พิษอาการเซื่องซึม ยางสดใช้ทาปากรักษาโรคปากเปื่อย จากการที่ต้นพะยูงเป็นไม้มงคล ต้นพะยูงจึงถูกใช้ในพิธีกรรมต่างๆโดยเฉพาะอย่างเช่นการวางศิลาฤกษ์ ในขณะที่การปราบปรามดำเนินไปอย่างต่อเนื่องประเทศไทยได้เสนอให้บรรจุไม้พะยูงเข้าบัญชี 2 ของไซเตสหรืออนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าใกล้สูญพันธุ์ (CITES) ต่อที่ประชุมภาคีอนุสัญญาครั้งที่ 16 ที่กรุงเทพฯระหว่างวันที่ 3 - 14 มีนาคม 2556 และที่ประชุมได้มีมติเป็นเอกฉันท์เมื่อวันที่ 13 มีนาคม 2556 ปัจจุบันจุไม้พะยูงในบัญชี 2 ของไซเตส ณ บัดนั้นสถานภาพของต้นพะยูงในประชาคมโลกคือพืชชนิดพันธุ์ที่อนุญาตให้ค้าได้แต่ต้องควบคุมไม่ให้ลดปริมาณอย่างรวดเร็วจนถึงจุดใกล้สูญพันธุ์ การถูกบรรจุอยู่ในบัญชี 2 ของต้นพะยูงราวกับเป็นการเพิ่มเสน่ห์ให้กับไม้พะยูงเป็นที่ต้องการมากยิ่งขึ้นเป็นเท่าทวีคูณ เมื่อพิจารณาจากจำนวนคดีที่เกี่ยวข้องกับไม้พะยูงในปี 2556 มีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน (สงคราม, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.4.1 เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของตัวอย่างพืช

การฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นถือว่าเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมาก เนื่องจากขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชซึ่งจะประสบความสำเร็จหรือไม่ขึ้นอยู่กับขั้นตอนนี้ การฟอกชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อพืชสามารถทำได้กับชิ้นส่วนของพืชหลายๆ ส่วนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ เนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ปลายราก ใบ เมล็ด รังไข่ ตาข้าง และตาดอก เป็นต้น โดยในขั้นตอนนี้จะต้องทำให้เนื้อเยื่อพืชเหล่านี้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อนที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ เนื่องจากในสภาพธรรมชาติทั้งใน ดิน น้ำ อากาศ จะมีเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆเช่น แบคทีเรีย และไวรัสแพร่กระจายอยู่ทั่วไปซึ่งเชื้อเหล่านี้เป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อน (contamination) เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์มีความสามารถในการเจริญเติบโตได้รวดเร็วกว่าเนื้อเยื่อพืชในอาหารสังเคราะห์เพราะอุดมไปด้วยแร่ธาตุ และสารอาหารต่างๆมากกว่าในสภาพธรรมชาติ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสียทำให้ชิ้นส่วนของพืชไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และตายในที่สุดซึ่งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์นี้เป็นสาเหตุสำคัญที่สุดที่ทำให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่ประสบความสำเร็จ

การฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เป็นการทำให้ชิ้นส่วนต่างๆของพืช หรือเนื้อเยื่อพืชปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์โดย อาจจะใช้สารเคมีที่มีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์นั้นตายโดยจะเข้าไปทำลายเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ทำลายในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้ระบบการควบคุมสารผ่านเข้าออกเสียไป พร้อมทั้งกรดอะมิโน น้ำ และแร่ธาตุต่างๆ ภายในจะสูญเสียไปด้วย หรือสารเคมีบางชนิดสามารถทำปฏิกิริยากับสารในไซโทพลาซึมจะมีผลทำให้เกิดการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ หรือสารเคมีบางชนิดสามารถจับกับโปรตีนทำให้เอนไซม์ และโปรตีนเสียสภาพไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ สารเคมีที่ใช้สำหรับการฟอกฆ่าเชื้อมีจำนวนมากมายหลายชนิดซึ่งมีความแตกต่างกันดังนั้นมีความจำเป็นที่จะต้องใช้ดุลยพินิจในการเลือกใช้สารเคมีให้เกิดความเหมาะสมกับเนื้อเยื่อพืชที่ต้องการ โดยสารเคมีนั้นจะต้องมีความสามารถในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนได้ แต่ในขณะเดียวกันนั้นต้องไม่รุนแรงจนเกินไปจนทำลายตัวอย่างพืชให้เกิดความเสียหายจนไม่สารมารถเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้

แนวทางในการเลือกใช้สารในการฟอกฆ่าเชื้อดังต่อไปนี้

1 มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิดและมีร้อยละความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์สูง

2 สารเคมีสามารถออกฤทธิ์ได้อย่างรวดเร็ว

3 สามารถละลายน้ำหรือผสมกับน้ำได้ง่ายและคงสภาพหลังจากการละลายแล้ว

4 สารเคมีที่ใช้ไม่ควรมีสีและกลิ่นอันไม่พึงประสงค์

5 สารเคมีที่ใช้ต้องมีราคาไม่แพงและหาซื้อง่าย

6 ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และไม่เป็นอันตรายต่อชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อพืช

สารเคมีต่างๆที่นิยมใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จากส่วนของเนื้อเยื่อพืชเช่น แคลเซียมไฮโปคลอไรต์ ($Ca(OCl_2)$) โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaOCl) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซิลเวอร์ไนเตรท ($Ag(NO_3)_2$) สารละลายไอโอดีน (iodine solution) เมอคิวริคคลอไรด์ ($HgCl_2$) กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) สารปฏิชีวนะ (antibiotic) เช่น เททราไซคิน สามารถขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีน กานาไมซิน สามารถขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์แบคทีเรีย โพลีมิกซินบี สามารถเข้าทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ให้เกิดการฉีกขาดและทำให้สารต่างๆภายในไซโทพลาซึมไหลออกจากเซลล์ แอมพิซิลิน สามารถขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ขั้นสุดท้าย ไรแฟมพิซิน สามารถทำให้แบคทีเรียตายและขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน นีโอมัยซิน ซัลเฟต สามารถทำให้เกิดการจับคู่ของเบสผิดพลาดในขณะที่มีการสังเคราะห์โปรตีนและยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในขณะเริ่มต้นและกระบวนการสังเคราะห์เป็นสายยาว

2.4.2 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อาหารที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายสูตรด้วยกัน สูตรอาหารต่างๆแต่ละสูตรจะมีชื่อเรียกต่างๆกันตามชื่อผู้คิดค้นแต่ถึงแม้อาหารจะมีหลายสูตรเมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบแล้วพบว่าจะมีองค์ประกอบโดยพื้นฐานที่เหมือนกันซึ่งมีองค์ประกอบดังต่อไปนี้

สารอนินทรีย์ (inorganic salts) ได้แก่ แร่ธาตุอาหารต่างๆที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ

1 แร่ธาตุอาหารหลัก (macronutrients หรือ major elements) ได้แก่ คาร์บอน(C) ไฮโดรเจน (H) ออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และซัลเฟอร์ (S) ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้เป็นแร่ธาตุที่จำเป็นพืชต้องการนำไปใช้ในปริมาณมาก และขาดไม่ได้โดยทั่วไปพืชต้องการนำไปใช้ปริมาณ 25 - 60 มิลลิโมล หรืออาจจะมากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

2 แร่ธาตุอาหารรอง (micronutrients หรือ trace element) ซึ่งเป็นแร่ธาตุพี่พืชต้องการน้อยลงมากว่าแร่ธาตุที่เป็นอาหารหลัก แร่ธาตุเหล่านี้พืชต้องการนำไปใช้ในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ เช่น เหล็ก (Fe) ใช้ปริมาณ 1 ไมโครโมล แมงกานีส (Mn) ใช้ปริมาณ 20 - 90 ไมโครโมล โคบอลต์ (Co) ใช้ประมาณ 0.1 ไมโครโมล สังกะสี (Zn) ใช้ประมาณ 5 - 30 ไมโครโมล ทองแดง (Cu) ใช้ประมาณ 0.1 ไมโครโมล โมลิบดีนัม (Mo) ใช้ประมาณ 1 ไมโครโมล และโบรอน (B) ใช้ประมาณ 25 - 100 ไมโครโมล โดยทั่วไปพืชต้องการแร่ธาตุอาหารรองไปใช้ปริมาณน้อยกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

สารอินทรีย์ (organic salts) ได้แก่ สารที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และออกซิเจน (O) แบ่งออกเป็น 6 กลุ่มดังนี้

1 คาร์โบไฮเดรต สารกลุ่มนี้พืชใช้เป็นแหล่งของคาร์บอน มีส่วนสำคัญในการให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ น้ำตาลที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีทั้งชนิดที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลโมเลกุลคู่ โดยปกติจะใช้น้ำตาลประมาณร้อยละ 20 - 40 กรัม หรือ 2 - 4 สำหรับการเตรียมอาหาร 1 ลิตร หรือพบในบางรายงานอาจใช้ปริมาณมากกว่านี้ซึ่งตัวอย่างน้ำตาลที่ใช้ได้แก่ กลูโคส ($C_6H_{12}O_6$) ฟรักโตส ($C_6H_{12}O_6$) กาแลคโตส ($C_6H_{12}O_6$) ซอร์บิทอล ($C_6H_{14}O_6$) แมนนิทอล ($C_6H_{14}O_6$) ซูโครส ($C_{12}H_{22}O_{11}$) มอลโทส ($C_{12}H_{22}O_{11}$) ซูคราโลส ($C_{12}H_{19}Cl_3O_8$)

2 วิตามิน เป็นอีกส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีความสำคัญมากมีผลทำให้พืชมีการพัฒนา และเจริญเติบโตมีหลายชนิด เช่น ไทอามีนหรือวิตามิน (B_1) อิโนสิทอล ไนอะซินหรือกรดนิโคตินิก ไพริดอกซินหรือวิตามิน (B_6) ไบโอตินหรือวิตามิน (H) หรือวิตามิน (B_7) อะดีนีนหรือวิตามิน (B_4) กรดแอสคอบิกหรือวิตามิน (C) ไรโบฟลาวินหรือวิตามิน (B_2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 กรดอะมิโน กรดอะมิโนมีความสำคัญในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชเป็นอย่างมาก กรดอะมิโนมีประมาณ 20 ชนิด และมีการใช้ในปริมาณที่แตกต่างกัน เช่น ไกลซีนใช้ประมาณ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร อะลานีนและอาร์จีนีนใช้ประมาณ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร แอสปาราจีนใช้ประมาณ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร กลูทามีนและกรดกลูทามิกใช้ประมาณ 8 มิลลิโมล ลิวซีน เมทไทโอนีน และฟีนิลอะลานีนใช้ประมาณ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นต้น โดยทั่วไปประสิทธิภาพในการทำงานของกรดอะมิโนที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะอยู่ในรูปของ L มากกว่าอยู่ในรูปของ D

4 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth regulator) ได้แก่ ฮอร์โมนพืชต่างๆ ทั้งที่พืชสามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ตามธรรมชาติ และที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้นซึ่งฮอร์โมนเหล่านี้เป็นส่วนช่วยสำคัญในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชเรื่องการแบ่งเซลล์ และการขยายตัวของเซลล์ ฮอร์โมนพืชเหล่านี้สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มต่างๆดังนี้

4.1 ออกซิน ช่วยชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ และการรวมเป็นกลุ่มแคลลัส ออกซินปกติจะอยู่ในรูปของกรดอินโดลอะซิติก (indol-3-yl acetic acid : IAA) IAA ที่ผลิตจากทริปโตเฟน หรืออินโดลโดยส่วนมากพบได้ในใบอ่อนที่กำลังงอก และในเมล็ดที่กำลังพัฒนาในขณะที่มีการงอก สาร IAA จะมีการเคลื่อนย้ายจากเซลล์หนึ่งไปยังเซลล์หนึ่งได้ มีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต การควบคุมการขยายขนาดเซลล์ การยืดตัวของเซลล์ และผลในการกระตุ้นการเกิดราก ออกซินแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ พวกที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ เช่น กรดอินโดลอะซิติก (IAA) และอีกกลุ่มหนึ่งคือ พวกที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น เช่น กรดแอลฟาแนพทาลีนอะซิติก (NAA) ผลของออกซินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะส่งเสริมการขยายตัวของเซลล์ โดยการเร่งการขยายตัวของเซลล์ที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ แต่ไม่มีผลต่อการขยายตัวของเซลล์ที่ไม่มีเซลลูโลส ออกซินช่วยกระตุ้นการเกิดรากบริเวณลำต้นที่ถูกตัดและพัฒนาการเกิดรากแขนงให้สมบูรณ์ก่อนนำออกปลูก การเกิดรากมีความสัมพันธ์กับระดับออกซิเจนในต้นพืชกับสภาพแวดล้อม นอกจากนั้นยังช่วยส่งเสริมให้มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่ใช้ลำเลียงน้ำและอาหาร

4.2 ไซโทไคนิน เป็นอนุพันธ์ของอะดีนีนซึ่งพบได้หลายชนิดในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ไซโทไคนินเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของอะดีนีนโดยจะเกิดในบริเวณปลายราก และเอ็มบริโอที่กำลังเจริญ มีผลต่อการแสดงออกของพืชคือ สามารถชักนำให้เซลล์มีการแบ่งตัวในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และสามารถชักนำให้เซลล์มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วในพืชที่เกิดเป็นปุ่มปม นอกจากนี้ยังกระตุ้นการเจริญทางด้านข้างของพืช กระตุ้นการเจริญของตาข้างชะลอการแก่ของพืช นอกจากนี้ยังมีผลเล็กน้อยต่อการพัฒนาของผลโดยสารในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้กันมากเช่น 6-เบนซิลอะมิโนเพียวรีน (BA) 6- เฟอร์เฟอริลอะมิโนเพียวรีน (kinetin)

4.3 จิบเบอเรลลิน สารกลุ่มนี้ถูกนำมาใช้น้อยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แต่ที่นิยมใช้กันทั่วไปได้แก่ กรดจิบเบอร์เรลลิก (gibberellic acid) สังเคราะห์จากกรดเมวาโลนิก (mevalonic acid) ในเนื้อเยื่อพืช หรือในเอ็มบริโอที่มีการเจริญขึ้น กรดจิบเบอร์เรลลิกสามารถที่จะเคลื่อนย้ายผ่านท่อน้ำและท่ออาหารได้ โดยสามารถเรียกชื่อกรดจิบเบอร์เรลลิกย่อๆว่า GA_3 มีความสามารถในการละลายในเมทานอล เอทานอล และอะซิโตน ผลของจิบเบอร์เรลลินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชพบว่ามีส่วนช่วยกระตุ้นทั้งการแบ่งเซลล์ และขยายขนาดของเซลล์ นอกจากนั้นยังช่วยชักนำให้เมล็ดงอกโดยการกระตุ้นให้มีการผลิตเอนไซม์จำนวนมากโดยเฉพาะอัลฟาอะไมเลสในพืชที่กำลังงอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 วุ้น (agar) ทำหน้าที่ช่วยในการยึดเกาะของเนื้อเยื่อพืชใช้สำหรับการเตรียมอาหารแบบเป็นอาหารแข็งและอาหารกึ่งแข็งได้ สำหรับวุ้นทั่วๆไปใช้ความเข้มข้นประมาณ 0.8 – 1 เปอร์เซนต์ ต่อมาบริษัท FMC ได้พัฒนาวุ้นที่มีคุณภาพสูงชื่อว่า sea Plaque ที่ใช้ในงานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์โดยใช้ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 0.35 - 0.7 และบริษัท Sigma Chemical ผลิตวุ้นที่ชื่อว่าไฟทาเจล (Phytagel) หรือบริษัท Kelco Crop ผลิตวุ้นที่ชื่อว่า Gelrite เป็นวุ้นที่มีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูง และมีราคาแพงโดยปกติใช้ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 1.25 – 2.6 เมื่อเตรียมอาหารเสร็จเรียบร้อยแล้วลักษณะของวุ้นจะใสซึ่งมีประโยชน์มากในการตรวจสอบการเจริญเติบโตของราก และการตรวจสอบการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี

6 สารอื่นๆ ในการเพาะเลี้ยงพืช พืชแต่ละชนิดมีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้นพืชบางชนิดอาจต้องมีการเติมสารอื่นๆเพิ่มเติมจากสูตรอาหารที่มีอยู่โดยทั่วไป สารอื่นๆที่ใช้ เช่น สารอินทรีย์ สารเหล่านี้ได้จากผลิตภัณฑ์ของพืช เช่น น้ำมะพร้าวอ่อน (coconut milk) น้ำมะเขือเทศ (tomato juice) น้ำองุ่น (grape juice) น้ำมันฝรั่ง (potato juice) กล้วย (banana) ข้าวโพด (corn milk) สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) สารสกัดจากมอลต์ (malt extract) และอื่นๆ บทบาทของสารอินทรีย์เหล่านี้มีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช นอกจากนี้พบว่ายังมีการเติมผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) เมื่อเติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะช่วยดูดซับสารพิษหรือสิ่งที่ถูกกำจัดออกมาจากเซลล์เช่น พวกฟีนอลลิคต่างๆจะทำให้เนื้อเยื่อพืชไม่ได้รับอันตรายจากสารดังกล่าว และสามารถทำให้เนื้อเยื่อพืชเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว แต่การเติมผงถ่านกัมมันต์ลงไปนั้นพบว่ามีข้อเสียคือ ผงถ่านกัมมันต์สามารถยึดเกาะกับโมเลกุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เติมลงไปในอาหารได้ และมีผลทำให้เนื้อเยื่อพืชไม่สามารถดูดสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเหล่านั้นมาใช้ได้อย่างเต็มที่ ทำให้เนื้อเยื่อพืชเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ แต่หากพืชบางชนิดมีความจำเป็นต้องเติมผงถ่านกัมมันต์ส่วนมากใช้ผงถ่านกัมมันต์ที่ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 0.5 – 3.0 (อนุรักษ์, 2550)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การชักนำให้เกิดยอดและการพัฒนาเป็นต้นใหม่

จำนรรจ์ และคณะ (2558) ได้ศึกษาผลกระทบของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้งในกลุ่มไซโทไคนิน และออกซินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นพะยูง *Dalbergia cochinchinensis* จากชิ้นส่วนของเมล็ดโดยพบว่าชิ้นส่วนตัวอย่างที่มีการพัฒนาในด้านความยาวยอดดีที่สุดในการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย BAP ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอดสูงถึง 5.09 เซนติเมตร และพบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย BAP และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.025 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับมีลักษณะของยอดที่มีคุณภาพสูงคือมีใบที่มีขนาดใหญ่สมบูรณ์ มีความแข็งแรงของยอด และต้นที่ได้มีคุณภาพดีสามารถที่จะนำไปขยายต่อได้ง่าย

Vibha *et al*. (2014) ได้ทดลองพัฒนาวิธีการที่มีประสิทธิภาพและดีขึ้นสำหรับการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของต้นกล้าของ *Dalbergia sissoo* ซึ่งเป็นพันธุ์ไม้ที่มีความสำคัญทางด้านนิเวศวิทยาและมีความสำคัญทางการค้า ได้รับการพัฒนาโดยการเพิ่มจำนวนจากตายอด การแตกหน่อโดยส่วนใหญ่ที่เกิดจากส่วนยอดที่มาจากยอดอ่อนที่ออกมาในช่วงต้นฤดูใบไม้ผลิจากต้นอายุ 20-25 ปี บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย benzylaminopurine (BAP) 8.88 ไมโครโมลาร์ การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลงให้การเกิดเป็นยอดอ่อนจำนวนมาก (20-21 ยอดต่อตา) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นลดลงครึ่งหนึ่งร่วมกับ BAP 2.22 ไมโครโมลาร์ thidiazuron (TDZ) 0.002 ไมโครโมลาร์ กับ 1.0 มิลลิโมลาร์ของ Ca $(NO_3)_2$, K2SO4, KCl , และ NH_4 $(SO_4)_2$ ให้การเพิ่มจำนวนยอดสูงสุด (29-30 ยอดต่อตา) ได้สำเร็จในการเพาะเลี้ยงในอาหารที่กล่าวข้างต้น นอกจากนี้ยังพบปัญหานิโครซิส และการร่วงของใบบนอาหารแข็งซึ่งแก้ปัญหาโดยการใช้อาหารเหลวแทน

Arya. *et al*. (2013) ศึกษาการเจริญเติบโตในหลอดทดลองของตัวอย่างที่แตกต่างกันของ *Dalbergia sissoo* สำหรับการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาตัวอย่าง 3 ชนิดด้วยกันได้แก่ Uttarakhand (clone No.09), Rajasthan (clone No.59) and Haryana (clone No.79) ตัวอย่างเหล่านี้ถูกคัดเลือกจากลักษณะฟีโนไทป์เช่น ปริมาณเนื้อไม้ที่มาก, ความยาวลำต้น และรูปแบบลำต้น ฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ร้อยละ 0.1 เป็นเวลา 15 นาที ตัวอย่างได้เก็บรวบรวมมาในปีเดียวกันและได้มีการนำมาศึกษาผลกระทบของฤดูกาลที่แตกต่างกัน ในตัวอย่างต้นพืชทั้ง 3 ชนิดพบว่าการเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคมตัวอย่างมีการตอบสนองในการชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าตัวอย่างที่เก็บในช่วงอื่น ในตัวอย่างหมายเลข 9 มีการตอบสนองในการเกิดยอดสูงถึงร้อยละ 92.35 ในขณะที่ตัวอย่างหมายเลข 59 และ 79 มีการตอบสนองต่อการชักนำให้เกิดยอดเพียงแค่ คือ ร้อยละ 89.31 และ 91.63 ตามลำดับ สำหรับการชักนำให้เกิดยอดหลายยอดในหลอดทดลองพบว่าตัวอย่างหมายเลข 9 ที่เพาะเลี้ยงใน BAP ที่ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการเกิดยอดสูงถึง 2.41 ยอด ในขณะที่ตัวอย่างหมายเลข 59 และ 79 พบว่าการเพาะเลี้ยงใน BAP ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ มีการเกิดยอดหลายยอดอยู่ที่ 2.35 ยอด และ 2.37 ยอด

Pai and Desai (2018) การใช้ thidiazuron (N-phenyl-N′-1,2,3-thiadiazol-5-ylurea; TDZ) ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าประสบความสำเร็จในการส่งเสริมการเพิ่มจำนวนยอดและส่งเสริมการเกิดยอดในพืช จากงานวิจัยหลายๆงานพบว่าไม้เนื้อแข็งเป็นสายพันธุ์ที่มีการตอบสนองต่อการใช้ TDZ ที่ยอดเยี่ยม และนอกจากนั้นยังพบว่าการใช้ TDZ กับไม้เนื้อแข็งยังส่งผลคล้ายกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโทไคนินอื่นๆเป็นส่วนใหญ่ และให้ผลการตอบสนองของชิ้นตัวอย่างที่ดีกว่า โดยพบว่าการใช้ TDZ ในความเข้มข้นต่ำมีส่วนช่วยส่งเสริมการเกิดยอดหลายยอดในไม้เนื้อแข็งหลายชนิด และยังส่งผลต่อการเกิดยอดได้ดีกว่าการใช้ไซโทไคนินชนิดอื่นๆ นอกจากนี้พบว่าการใช้ TDZ ในความเข้มข้นสูงจะส่งผลเสียต่อการเพาะเลี้ยง เช่น ลำต้นของพืชจะมีลักษณะสั้นไม่ยืดยาว เป็นต้น

การชักนำให้เกิดรากและปรับสภาพก่อนออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมภายนอก

Husain and Shahzad (2005) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้น *Pterocarpus marsupium* หรือเป็นที่รู้จักกันดีในชื่อของประดู่อินเดีย ซึ่งเป็นไม้ที่มีความสำคัญในด้านการค้าไม้และคุณประโยชน์ทางสิ่งแวดล้อม โดยได้ชักนำรากด้วยการเพาะเลี้ยงในอาหารที่แตกต่างกันคือ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ความเข้มข้น ¼ ½ และเต็มสูตร กับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซินได้แก่ IAA IBA และNAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ พบว่าทุกๆซ้ำของการทดลองไม่มีการเกิดรากเกิดขึ้น โดยมีการเปลี่ยนแปลงเพียงแค่การเกิดแคลลัสบริเวณฐานของยอดที่นำมาเพาะเลี้ยงเท่านั้น หลังจากนั้นจึงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดลองเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดรากโดยใช้วิธีการสองขั้นตอน โดยแยกยอดอ่อนที่ได้จากขั้นตอนของการชักนำยอดมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีการเติม IBA ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการเติมฟีนอลลิก และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน หลังจากนั้นย้ายลงในอาหารที่มีความเข้มข้นของ IBA ต่ำลง คือ 0.5 ไมโครโมลาร์ ในอาหารที่มีความเข้มข้นของ MS ครึ่งสูตร ให้อัตราการเกิดรากสูงถึงร้อยละ 40-50 หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15-17 วัน

Rathore. *et al*. (2004) ได้ชักนำให้เกิดรากของต้น *Syzygiun cuminii* โดยการใช้ยอดเกิดใหม่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาชักนำให้เกิดราก โดยได้ทดลองในหลายสภาวะด้วยกัน ดังต่อไปนี้ การเกิดรากภายในหลอดทดลองโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรครึ่ง MS ที่มีการเติมผงถ่านกัมมันต์ร้อยละ 0.1 และใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช IBA และ NAA นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองโดยวิธีการเกิดรากนอกหลอดทดลองด้วยการนำตัวอย่างยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาจุ่มลงใน IBA ความเข้มข้น 2.50 ไมโครโมลาร์ จากการทดลองพบว่าการชักนำให้เกิดรากด้วยการนำตัวอย่างไปจุมลงใน IBA ความเข้มข้น 2.50 ไมโครโมลาร์ ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงให้ผลการเกิดรากสูงสุดถึงร้อยละ 100 ส่วนการใช้ IBA ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ และ การใช้ NAA ที่ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ ให้ผลการเกิดรากอยู่ที่ 95 และ 82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Ahmad and Anis (2019) ได้ศึกษาต้นประดู่อินเดียและยังพบว่า การใช้ Meta-topolin เพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับออกซินแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของคุณภาพและจำนวนเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ BA การชักนำให้เกิดรากในหลอดทดลองจากยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ mT ได้ชักนำให้เกิดรากด้วยการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรครึ่ง MS ที่เสริมด้วย indole-3-butyric acid(IBA) ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ผ่านวิธีการสองขั้นตอนหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ามีการเกิดรากจำนวน 7.35 รากต่อยอด มีความยาวรากโดยเฉลี่ย 4.54 เซนติเมตร

ปัจจัยอื่นๆที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต

Warakagoda and Subasinghe (2013) ได้พัฒนาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Pterocarpus santalinus* L.ซึ่งเป็นพืชที่มีความสำคัญในทางการแพทย์และจัดว่าเป็นพืชกลุ่มเสี่ยงที่ใกล้สูญพันธุ์ โดยจากการทดลองได้ใช้ตัวอย่างพืชจากต้นพืชอายุ 1 ปี และฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่างโดยใช้คลอรอกซ์ร้อยละ 15 (NaOClร้อยละ 5.25) เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำไปฟอกโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 เป็นเวลา 2 นาที และนำตัวอย่างไปเพาะเลี้ยง จากการทดลองพบว่าการเพาะเลี้ยงตัวอย่างในอาหารสูตร WPM ที่มีการเติมผงถ่านร้อยละ 0.1 ตัวอย่างที่เพาะเลี้ยงมีลักษณะเกิดเป็นสีน้ำตาลน้อยที่สุด และนอกจากนั้นพบว่าการใช้ยอดอ่อนที่ยังไม่เกิดเนื้อไม้แข็งมาเพาะเลี้ยงให้ผลการเจริญที่ดีกว่าการใช้ยอดที่มีการเกิดเนื้อไม้แข็งแล้วมาเพาะลี้ยงเนื้อเยื่อ

Husain and Anis (2009) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงต้น *Melia azedarach* L. พบว่าการชักนำให้เกิดยอดโดยใช้เพียงแค่การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโทไคนิน เพียงอย่างเดียวนั้น ทำให้ตัวอย่างเกิดลักษณะของใบที่ร่วง ใบม้วนพับ และปลายยอดไหม้ เพื่อการแก้ปัญหานี้จึงได้ทดลองโดยการเติม $(NH_4)_2SO_4$ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม K_2SO_4 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถช่วยลดปัญหาดังกล่าวลงได้ และการเติมสารเหล่านี้ลงไปเพื่อเพิ่มความแข็งแรงของยอดใหม่ที่เกิดขึ้นไม่มีผลกระทบต่อจำนวนยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Vibha *et al*. (2014) ได้ศึกษาผลกระทบของอาหารที่มีต่อการเจริญของต้น Dalbergia sissoo พบว่าการเติมสารเพิ่มเติมลงไปในอาหารช่วยให้การเจริญของต้นพืชเจริญได้ดี เช่น ช่วยลดปัญหาใบร่วง การเกิดปลายยอดไหม้ การเกิดนิโครซิสรวมถึงการเกิดแคลลัสแทนที่จะเจริญไปเป็นยอด ด้วยการเติม $Ca(NO_3)2$ K_2SO_4 KCl, และ $NH_4(SO_4)_2$ ลงไปในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงอย่างละ 1 มิลลิโมลลาร์ โดยพบว่าแอมโมเนียมที่มีการเติมลงไปจะช่วยลดอาการฉ่ำน้ำ การเกิดนิโครซิสที่ปลายยอด และช่วยกระตุ้นการเกิดยอดใหม่

Ismail *et al*. (2016) ได้มีการศึกษาความแตกต่างของชนิดของสารก่อเจลในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นกระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*) ในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย BA 0.44 ไมโครโมลาร์ โดยได้มีการใช้สารก่อเจลที่แตกต่างกันดังนี้ Gelrite 2 กรัมต่อลิตร Difco 10 กรัมต่อลิตร Bacto 8 กรัมต่อลิตร และ Vietnam (Plain Culture Agar, PCA) 10 กรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่า การใช้ Gelrite 2 กรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุดอยู่ที่ 23 ยอด และการใช้ Vietnam (Plain Culture Agar, PCA) 10 กรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดอยู่ที่ 19 ยอด เมื่อตรวจสอบค่าทางสถิติแล้วพบว่าการใช้ Gelrite และ Vietnam (Plain Culture Agar, PCA) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และลักษณะทางด้านกายภาพของตัวอย่างจากการใช้สารก่อเจลทั้งสองชนิดพบว่ายอดมีการเจริญยืดยาวขึ้นและมีลักษณะที่สมบูรณ์แข็งแรง แต่พบว่ายอดที่มีการใช้ Vietnam (Plain Culture Agar, PCA) มีลักษณะสีเขียวที่อ่อนกว่าเล็กน้อย ส่วนการใช้สารก่อเจล Difco และ Bacto นั้นพบว่า ตัวอย่างมีการเจริญเติบโตช้า ยอดไม่มีการยืดยาวและไม่มีการเกิดยอดหลายยอด

George and Tripepi (2001) ได้มีการทดลองเติมสาร Plant Preservative Mixture (PPM) ปริมาณ 0.5 – 4 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่าทำให้ต้น European birch (*Betula pendula* Roth) และ rhododendron (*Rhododendron catawbiense* Michx.) มีแนวโน้มการเกิดยอดและจำนวนยอดที่เพิ่มขึ้น

Niedz and Bausher (2002) ได้ศึกษาวิธีการลดการปนเปื้อนของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยได้ทดลองในต้น *Citrus sinensis* L. ซึ่งพบว่าหลังจากการฟอกฆ่าเชื้อแล้วนำชิ้นส่วนของตัวอย่างมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีการเติม Plant Preservative Mixture (PPM) ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่าตัวอย่างมีการปลอดเชื้อมากกว่าร้อยละ 95

Santana *et al*. (2011) พบว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้น *Annona glabra* L. ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.00 29.21 58.42 และ 116.84 มิลลิโมลาร์ ตัวอย่างมีการเจริญเติบโตดีที่สุดที่ความเข้มข้นของซูโครส 58.42 มิลลิโมลาร์ และพบว่าการใช้น้ำตาลซูโครสที่ในความเข้มข้นมากจนเกินไปจะไปลดการดูดซึมสารอาหารและลดความสามารถในการใช้น้ำในอาหารเพาะเลี้ยงของพืชรวมถึงลดการคายน้ำ และนอกจากนี้ในการทดลองยังได้มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของผงถ่านกัมมันต์โดยได้มีการเติมผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร ลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่า ในตัวอย่างที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีการเติมผงถ่านกัมมันต์มีการร่วงของใบลดลงครึ่งหนึ่ง และพบว่ามีความยาวยอดและน้ำหนักแห้งสูงกว่าการไม่เติมผงถ่านกัมมันต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการทดลอง

ชิ้นส่วนเมล็ด ข้อ และใบจากต้นพะยูงสายพันธุ์ไทย (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม และห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชภาควิชาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2 สารเคมี

- อาหารสังเคราะห์สูตร Woody Plant Medium (Lloyd and McCown, 1981)
- อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog Medium (Murashige and Skoog, 1962)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต Gibberellic acid (GA_3)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BAP)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต Kinetin (Kn)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต Thidiazuron (TDZ)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต Indole-3-acetic acid (IAA)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต Indolebutyric acid (IBA)
- สารควบคุมการเจริญเติบโต Naphthaleneacetic acid (NAA)
- เมอร์คิวริกคลอไรด์ (mercuric (II) chloride)
- น้ำตาลซูโครส (sucrose)
- กลูโคส (glucose)
- ไฟทาเจล (Phytagel) จากบริษัท PhytoTech
- Crystal agar gel G180 จากบริษัท Central gel
- Agar powder, food grade จากห้างหุ้นส่วนจำกัด พัฒนาสินเอ็นเตอร์ไพรส์
- Agar powder, bacteriological grade, จากบริษัท Himedia
- สารลดแรงตึงผิว (tween-20)
- สารต้านเชื้อแบคทีเรีย (antibiotic)
- น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (distilled water)
- ยาต้านเชื้อรา (nystatin)
- สารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim)
- สารป้องกันการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Preservative Mixture, PPM)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อุปกรณ์

- เครื่องชั่ง (balance)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อแบบใช้ความดัน (autoclave)
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow cabinet)
- เครื่องเขย่า (shaker)
- เครื่องไมโครเวฟ (microwave oven)
- ตะเกียง (alcohol burner)
- ไฟแช็ค (lighter)
- มีดผ่าตัด (scalpel)
- กรรไกร (scissors)
- ปากคีบ (forceps)
- ช้อนตักสารเคมี (spatula)
- ที่ดูดสาร (auto pipette)
- ทิปขนาดต่างๆ (tip)
- พาราฟิล์ม (parafilm)
- แผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์ (aluminium foil)
- ถ้วยชั่งสาร (weight boat)
- กระดาษทิชชู่ (tissue paper)
- ถุงมือ (gloves)
- บีกเกอร์ (beaker)
- กระบอกตวง (cylinder)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
- จานแก้ว (petri dish)
- ขวดแก้วขนาดต่างๆ (bottle)
- หลอดทดลองชนิดมีฝาปิด (culture tube) ขนาด 25x150 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่าง

3.4.1.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ด

วิธีที่1 นำตัวอย่างเมล็ดของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่2 นำตัวอย่างเมล็ดของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่3 นำตัวอย่างเมล็ดของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

บันทึกผลการทดลองหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยบันทึกจำนวนของตัวอย่างที่ไม่มีการปนเปื้อน ตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อรา และตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย

3.4.1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบ

วิธีที่1 นำตัวอย่างใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างด้วยน้ำเปล่า หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่2 นำตัวอย่างใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างด้วยน้ำเปล่า หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่3 นำตัวอย่างใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างด้วยน้ำเปล่า หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มี nystatin ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีที่4 นำตัวอย่างใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างด้วยน้ำเปล่า หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มี nystatin ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่5 นำตัวอย่างใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างด้วยน้ำเปล่า หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มี PPM ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่6 นำตัวอย่างใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างด้วยน้ำเปล่า หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มี PPM ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

บันทึกผลการทดลองหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยบันทึกจำนวนของตัวอย่างที่รอดชีวิต ตัวอย่างที่เกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ และตัวอย่างที่เกิดลักษณะสีน้ำตาลไหม้ รวมถึงร้อยละการรอดชีวิตของตัวอย่าง

3.4.1.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ

วิธีที่1 นำตัวอย่างข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่2 นำตัวอย่างข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่3 นำตัวอย่างข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีที่4 นำตัวอย่างข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่5 นำตัวอย่างข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 สารต้านเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 0.1 PPM ร้อยละ 0.1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่6 นำตัวอย่างข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antibiotic) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

วิธีที่7 นำตัวอย่างข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติม PPM ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง

บันทึกผลการทดลองหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยบันทึกจำนวนของตัวอย่างที่รอดชีวิต ตัวอย่างที่เกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ และตัวอย่างที่เกิดลักษณะสีน้ำตาลไหม้ รวมถึงร้อยละการรอดชีวิตของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ร้อยละการรอดชีวิตของเมล็ด/ใบ/ข้อ} = \frac{\text{จำนวนเมล็ด/ใบ/ข้อที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนมล็ด/ใบ/ข้อทั้งหมด}} \times 100 \qquad (3.1)$$

3.4.2 การศึกษาชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด

ศึกษาถึงผลกระทบจากความเข้มข้นและชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการงอกและการเจริญของเมล็ดโดยนำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ร่วมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่าง 5.8 และฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงที่สภาวะ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยในการทดลองได้มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโทไคนินและจิบเบอเรลลิน คือ Kn BAP TDZ และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน หลังจากนั้นตัดข้อจากตัวอย่างที่เจริญมาจากเมล็ดเพื่อนำข้อที่ได้ไปเพาะเลี้ยงเพื่อหาชนิด และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร และ Kn BAP TDZ และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อเป็นระยะเวลา 1 เดือน แล้วจึงบันทึกผลการเจริญเติบโต โดยการบันทึกผลการทดลองแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 บันทึกหลังจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดเป็นเวลา 1 เดือน โดยจะบันทึกร้อยละการงอกของเมล็ด ความสูงของต้น และจำนวนยอด ส่วนที่ 2 บันทึกผลการทดลองหลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อจากต้นอ่อนที่เจริญจากเมล็ดเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยบันทึกร้อยละการเกิดยอด และความยาวของยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้น

$$\text{ร้อยละการงอกของเมล็ด} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100 \qquad (3.2)$$

3.4.3 การศึกษาผลกระทบของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการเกิดและการพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ของแคลลัส

ศึกษาโดยนำตัวอย่างใบที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร WPM ร่วมกับน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่าง 5.8 และฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงที่สภาวะ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยได้ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซินในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากใบ คือ 2,4-D Pi NAA IAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสเป็นระยะเวลา 1 เดือน หลังจากนั้นย้ายแคลลัสที่มีลักษณะสีเขียวและแข็ง (compact callus) ลงในอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโทไคนิน BAP Kn TDZ และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 1 3 5 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ การบันทึกผลการทดลองแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 บันทึกผลหลังจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบเพื่อชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยบันทึกเป็นร้อยละการเกิดแคลลัส และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักของแคลลัสเฉลี่ย ส่วนการบันทึกผลในส่วนที่ 2 บันทึกผลหลังจากเพาะเลี้ยงแคลลัสในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ในกลุ่มไซโทไคนินเพื่อชักนำให้เกิดต้นใหม่จากแคลลัสเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยจะบันทึกร้อยละของแคลลัสที่พัฒนาเกิดเป็นต้นใหม่ จำนวนและความยาวเฉลี่ยของต้นใหม่ที่เกิดขึ้นต่อแคลลัส

$$\text{ร้อยละการเกิดแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนใบที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด}} \times 100 \qquad (3.3)$$

3.4.4 การศึกษาปริมาณของสาร Plant Preservative Mixture (PPM) ที่เหมาะสม

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยพบว่าหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ได้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้น ซึ่งออกมาจากท่อลำเลียงดังนั้นจึงได้ศึกษาปริมาณของสาร Plant Preservative Mixture (PPM) เพิ่มเติมเพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ โดยการศึกษาในครั้งนี้ได้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยลงในอาหารสูตร WPM ที่เสริมด้วยไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และมีการเติมสาร PPM ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันดังต่อไปนี้ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร โดยอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงได้ปรับค่าความเป็นกรดด่างอยู่ที่ 5.8 และผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ดำเนินเก็บผลการทดลองหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน โดยบันทึกจำนวนตัวอย่างที่รอดชีวิต ตัวอย่างที่ปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ ตัวอย่างที่มีลักษณะสีน้ำตาลไหม้ และจำนวนตัวอย่างที่เกิดตายอด

$$\text{ร้อยละการเกิดตายอด} = \frac{\text{จำนวนข้อที่เกิดตายอด}}{\text{จำนวนข้อทั้งหมด}} \times 100 \qquad (3.4)$$

3.4.5 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมในการชักนำยอดจากข้อ

การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะในการเกิดยอด ได้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงสายพันธุ์ไทยในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร PPM 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่าง 5.8 และสภาวะการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโทไคนินที่แตกต่างกันออกไปเพื่อชักนำให้เกิดยอด ได้แก่ Kn และTDZ ที่ความเข้มข้น 1 3 5 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังมีการใช้สารคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มจิบเบอเรลลิน คือ GA_3 ที่ความเข้มข้น 1 3 5 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของยอด บันทึกผลหลังจากการทดลองผ่านไป 1 เดือน โดยการเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ย และร้อยละของการเกิดยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ร้อยละการเกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนข้อที่เกิดยอด}}{\text{จำนวนข้อทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.5)$$

3.4.6 การศึกษาชนิดและปริมาณของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยพบว่ายังมีปัจจัยอื่นๆที่ส่งผลต่อการเจริญของชิ้นส่วนข้อ การศึกษาในส่วนนี้จึงได้หาความเข้มข้น และชนิดของอาหารที่เหมาะสมในการทดลอง โดยใช้อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และ WPM (Lloyd and McCown, 1981) ที่ความเข้มข้น ¼ ½ 1 และ 2 เท่าของอาหารสูตรปกติ ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร PPM 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่าง 5.8 และสภาวะการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ดีที่สุดจากการทดลองในส่วนก่อนหน้า บันทึกผลหลังจากการทดลองผ่านไป 1 เดือน โดยการเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ย และร้อยละของการเกิดยอด

3.4.7 การศึกษาชนิดของสารก่อเจลที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชได้อย่างรวดเร็วก็จริง แต่มีค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานที่ค่อนข้างสูง ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงได้ทดลองถึงประสิทธิภาพของสารก่อเจลแต่ละชนิดต่อการเจริญเติบโต โดยได้ทดลองสารก่อเจลชนิดต่างๆที่ดังนี้ Phytagel ที่ความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร Crystal agar gel G180 จากบริษัท central gel ที่ความเข้มข้น 7 กรัมต่อลิตร Agar powder, food grade จากห้างหุ้นส่วนจำกัด พัฒนาสินเอ็นเตอร์ไพรส์ ที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร Agar powder, bacteriological grade, จากบริษัท Himedia 15 กรัมต่อลิตร และใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ดีที่สุดจากการทดลองในส่วนก่อนหน้า และเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร PPM 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่าง 5.8 โดยใช้สภาวะการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที บันทึกผลหลังจากการทดลองผ่านไป 1 เดือน โดยการเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ย และร้อยละของการเกิดยอด

3.4.8 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนให้แก่ต้นพืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต แต่น้ำตาลก็มีหลายชนิดที่แตกต่างกัน ดังนั้นในการทดลองในครั้งจึงได้ศึกษาชนิด และความเข้มข้นน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการชักนำยอด ในการทดลองได้ศึกษาน้ำตาลซูโครส และกลูโคสที่ความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่อลิตร ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ดีที่สุดจากการทดลองในส่วนก่อนหน้า และเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ร่วมกับ PPM 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่าง 5.8 โดยใช้สภาวะการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที บันทึกผลหลังจากการทดลองผ่านไป 1 เดือน โดยการเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ย และร้อยละของการเกิดยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.9 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก

ชิ้นส่วนยอดที่ได้จากการชักนำจะถูกนำมาศึกษาเพื่อหาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดรากเพื่อให้พร้อมที่จะนำออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมภายนอกต่อไป โดยการชักนำรากทำตามวิธี 2 ขั้นตอนของ Anis. *et al*. (2005) ที่กล่าวถึงการชักนำรากของพืชโดยนำชิ้นส่วนยอดที่ต้องการชักนำรากไปแช่ในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซินที่ความเข้มข้นสูงในอาหารเหลวที่ปราศจากน้ำตาล และใช้ความเข้มข้นของอาหารเพาะเลี้ยงเพียงครึ่งสูตร เป็นเวลา 5 วัน (รูปที่ 4.17 ก) โดยในการทดลองครั้งนี้เลือกใช้อาหารสังเคราะห์สูตร WPM เนื่องจากเป็นอาหารสังเคราะห์สูตรที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองในส่วนของการศึกษาชนิดและปริมาณของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซินที่ความเข้มข้นสูงใช้ IAA และIBA ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากความเข้มข้นนี้เป็นความเข้มข้นที่ให้ผลการชักนำรากได้ดีที่สุดจากการทดลองของ Ahmad and Anis (2019) หลังจากนั้นย้ายลงในอาหารแข็งสูตร ½ WPM ที่มีปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชอยู่ในปริมาณที่ต่ำ โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน ได้แก่ IAA และIBA ที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 0.4 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร บันทึกผลหลังจากการทดลองผ่านไป 1 เดือน โดยการเปรียบเทียบความยาวและจำนวนรากที่เกิดขึ้น รวมถึงร้อยละของการเกิดราก

.

$$\text{ร้อยละการเกิดราก} = \frac{\text{จำนวนยอดที่เกิดราก}}{\text{จำนวนยอดทั้งหมด}} \times 100 \qquad (3.6)$$

3.4.10 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำต้นใหม่ออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมภายนอก

หลังจากได้พืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์ ขั้นตอนการนำต้นใหม่ที่ได้ออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมภายนอกก็เป็นส่วนที่สำคัญ โดยการทดลองในส่วนนี้ได้เริ่มจากการนำตัวอย่างมาล้างวุ้น และน้ำตาลที่ติดมากับตัวอย่างจากขั้นตอนการเพาะเลี้ยงออก เพื่อป้องกันการเกิดเชื้อราเมื่อนำออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมภายนอก หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาแช่ในน้ำที่ผสมยากันราเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 30 นาที โดยวัสดุที่ใช้ในการเริ่มต้นการออกปลูกของตัวอย่างมี 4 ชนิดคือ เปลือกมะพร้าวสับ ดิน ดินผสมเพอร์ไลท์ในอัตราส่วน 1:1 และพีทมอส และผ่านการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ต้นอ่อนจะปลูกในกระถางเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 10 เซนติเมตร ที่ครอบด้วยถุงพลาสติก และจะค่อยๆเจาะรูที่ถุงพลาสติกเพิ่มทุกๆ 1 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ไม่มีแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายต้นอ่อนมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง รดน้ำตามปกติ บันทึกผลหลังจากการทดลองผ่านไป 1 เดือน โดยเปรียบเทียบความยาวยอดที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย และร้อยละการรอดชีวิต

$$\text{ร้อยละการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนต้นที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100 \qquad (3.7)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่าง

4.1.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ด

จากการศึกษาผลการฟอกฆ่าเชื้อของเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทยโดยใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อด้วยกันทั้งหมด 3 วิธี พบว่าผลการทดลองการฟอกฆ่าเชื้อโดยวิธีที่ 1 ซึ่งมีการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เมล็ดมีการรอดชีวิตร้อยละ 70 และเมล็ดยังคงมีการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 20 และเชื้อราร้อยละ 10 ดังนั้นจึงได้มีการใช้วิธีที่ 2 ในการฟอกฆ่าเชื้อโดยในวิธีนี้ได้มีการเพิ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เพิ่มเติมขึ้นจากที่เดิมมีเมอร์คิวริกคลอไรด์อยู่แล้วร้อยละ 0.1 พบว่าตัวอย่างก็ยังคงมีการรอดชีวิตร้อยละ 70 เท่ากับการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 1 และเมล็ดที่ยังคงมีการปนเปื้อน ยังคงปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียเท่านั้นไม่มีการปนเปื้อเชื้อราหลังจากการฟอกโดยวิธีที่ 2 ดังนั้นจึงได้พัฒนาวิธีที่ 3 ในการฟอกฆ่าเชื้อ โดยวิธีนี้ได้ใช้คาร์เบนดาซิมความเข้มข้นร้อยละ 1 และเพิ่มเมอร์คิวริกคลอไรด์เป็นร้อยละ 0.2 พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้วิธีที่ 3 มีการรอดชีวิตสูงสุดที่ร้อยละ 100 โดยไม่มีการปนเปื้อนจากทั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียดังแสดงในตารางที่ 4.1 ดังนั้นจึงเลือกใช้วิธีที่ 3 ในการฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่างเมล็ดที่ใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.1 ผลการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

วิธีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ	ร้อยละการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย	ร้อยละการปนเปื้อนเชื้อรา	ร้อยละการรอดชีวิต
วิธีที่ 1	20	10	70
วิธีที่ 2	30	0	70
วิธีที่ 3	0	0	100

4.1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบ

จากการศึกษาผลการฟอกฆ่าเชื้อของชิ้นส่วนใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทยพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบโดยการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ในวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 ใบมีร้อยละการรอดชีวิตที่ต่ำมาก โดยเฉพาะในวิธีที่1 มีการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 พบว่าไม่มีตัวอย่างที่รอดชีวิตจากการฟอกฆ่าเชื้อ ใบทุกชิ้นมีลักษณะสีน้ำตาลไหม้ ถึงแม้จะมีการลดปริมาณของเมอร์คิวริกคลอไรด์ลงเหลือความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ในวิธีที่ 2 แล้วก็ตาม ใบส่วนใหญ่ถึงร้อยละ 80 ยังคงมีลักษณะสีน้ำตาลไหม้ และรอดชีวิตเพียงร้อยละ 20 ดังนั้นในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จึงได้มีการนำสารอื่นเพิ่มเติมมาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบคือ nystatin และ Plant Preservative Mixture (PPM) ตามในวิธีที่3 และวิธีที่4 ได้ใช้ nystatin ในความเข้มข้นที่ต่างกันคือร้อยละ 0.1 และร้อยละ 0.2 ตามลำดับ พบว่าการใช้ nystatin ร้อยละ 0.1 ในวิธีที่ 3 ให้ผลการฟอกฆ่าเชื้อได้ดีที่สุดคือมีการรอดชีวิตของตัวอย่างสูงสุดร้อยละ 70 และลักษณะของใบที่ได้หลังจากผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมีลักษณะเขียวสด และนอกจากนั้นพบว่าเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสตัวอย่างที่ได้ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อโดยวิธีที่ 3 มีโอกาสเกิดแคลลัสได้ดีกว่าตัวอย่างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาจากวิธีอื่นๆ แต่จากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ nystatin เป็นร้อยละ 0.2 ตามวิธีที่ 4 ตัวอย่างมีการรอดชีวิตลดลงเหลือแค่ร้อยละ 20 ในส่วนของการใช้ PPM นั้นคือ วิธีในการฟอกฆ่าเชื้อในวิธีที่ 5 และวิธีที่ 6 มีการใช้ PPM ในความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และร้อยละ 0.2 ตามลำดับ พบว่าใบปนเปื้อนเชื้อราสูงถึงร้อยละ 50 เมื่อใช้วิธีที่ 5 และ ปนเปื้อนเชื้อราร้อยละ 30 เมื่อใช้วิธีที่ 6 และในการใช้ PPM เป็นสารที่ช่วยในการฟอกฆ่าเชื้อจากทั้ง 2 วิธีคือ วิธีที่ 5 และ 6 ตัวอย่างรอดชีวิตเท่ากันที่ร้อยละ 40 จากผลการทดลองข้างต้นที่แสดงไว้ในตารางที่ 4.2 วิธีที่เหมาะสม และให้ผลลัพธ์ดีที่สุดในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทยคือ วิธีที่ 3 ที่ได้มีการใช้ nystatin เป็นสารที่ช่วยในการฟอกฆ่าเชื้อ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปที่เกี่ยวข้องกับชิ้นส่วนของใบจึงใช้วิธีที่ 3 ในการฟอกฆ่าเชื้อ

ตารางที่ 4.2 ผลการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

วิธีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ	ร้อยละการปนเปื้อนเชื้อรา	ร้อยละการเกิดสีน้ำตาลไหม้	ร้อยละการรอดชีวิต
วิธีที่ 1	0	100	0
วิธีที่ 2	0	80	20
วิธีที่ 3	0	30	70
วิธีที่ 4	0	80	20
วิธีที่ 5	50	10	40
วิธีที่ 6	30	30	40

4.1.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ

จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อจากต้นในธรรมชาติของพะยูงพันธุ์ไทย โดยได้มีการทดลองหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่างด้วยกันทั้งหมด 7 วิธี โดยแต่ละวิธีได้มีการพัฒนามาจากวิธีก่อนหน้าซึ่งอ้างอิงจากผลการทดลองของวิธีก่อนหน้า และปรับปรุงเป็นวิธีการฟอกฆ่าเชื้อวิธีต่อๆไป โดยจากการทดลองได้เริ่มต้นจากวิธีที่ 1 ได้มีการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อพบว่าข้อปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 30 และข้อส่วนใหญ่มีการปนเปื้อนจากเชื้อราร้อยละ 50 จึงได้มีการพัฒนาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเป็นวิธีที่ 2 โดยได้มีการเพิ่มสารกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เพิ่มเติมขึ้นจากเมอร์คิวริกคลอไรด์อยู่แล้วร้อยละ 0.1 จากวิธีที่ 1 พบว่าข้อไม่มีการปนเปื้อนจากเชื้อรา แต่ข้อยังคงมีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียสูงถึงร้อยละ 80 จึงได้มีการพัฒนาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อวิธีที่ 3 วิธีที่ 4 และวิธีที่ 5 โดยวิธีที่ 3 ได้ใช้ความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเมอร์คิวริกคลอไรด์เท่าเดิมคือร้อยละ 0.1 แต่แยกการฟอกออกเป็น 2 รอบ วิธีที่ 4 ได้เพิ่มความเข้มข้นของเมอร์คิวริกคลอไรด์เป็นร้อยละ 0.2 ในการฟอกครั้งเดียว และวิธีที่5 คล้ายกับวิธีที่ 4 แต่มีการเติมสารต้านเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 0.1 และ Plant Preservative Mixture (PPM) ร้อยละ 0.1 พบว่าในวิธีที่ 3 ซึ่งมีการแยกฟอก 2 รอบ และมีความเข้มข้นของเมอร์คิวริกคลอไรด์ที่ต่ำนั้น ข้อมีการรอดชีวิตสูงถึงร้อยละ 70 ในขณะที่วิธีที่ 4 กับวิธีที่ 5 ซึ่งใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นสูงและมีการฟอกเพียง 1 รอบ มีการรอดชีวิตที่ค่อนข้างต่ำอยู่ที่ร้อยละ 30 และร้อยละ 40 ตามลำดับ โดยเฉพาะในวิธีที่ 5 ที่นอกจากจะใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ความเข้มข้นสูง และมีการฟอกเพียงรอบเดียวแล้วยังมีการเติมสารต้านเชื้อรา และ PPM ลงไปด้วยนั้น คาดว่าสารฟอกฆ่าเชื้อที่ใช้มีความรุนแรงต่อชิ้นส่วนข้อมากเกินไป เพราะจากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ข้อมีลักษณะสีน้ำตาลไหม้และตายในที่สุดสูงถึงร้อยละ 60 ดังนั้นในส่วนนี้จากทั้ง 3 วิธีคือวิธีที่ 3 วิธีที่ 4 และวิธีที่ 5 จะสังเกตได้ว่าวิธีที่ 3 มีร้อยละการรอดชีวิตสูงสุด แต่การใช้วิธีนี้ในการฟอกฆ่าเชื้อข้อก็ยังคงปนเปื้อนอยู่ที่ร้อยละ 30 จึงได้มีการพัฒนาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อในวิธีที่ 6 และวิธีที่ 7 ขึ้นมาโดยทั้งสองวิธีนี้ใช้การฟอกที่แยกออกเป็นสองครั้งเช่นเดียวกับในวิธีที่ 3 โดยใช้ความเข้มข้นของเมอร์คิวริกคลอไรด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เช่นกัน แต่ได้มีการเติมสารเพิ่มเติมลงไปในการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 6 คือสารต้านเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และในวิธีที่ 7 ได้เติม PPM ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 จากการทดลองในวิธีที่ 6 และวิธีที่ 7 พบว่าข้อมีการรอดชีวิตที่สูงคือร้อยละ 60 และร้อยละ 100 ตามลำดับ โดยในวิธีที่ 6 ข้อเกิดสีน้ำตาลไหม้หลังการเพาะเลี้ยงร้อยละ 40 ในขณะที่วิธีที่ 7 ข้อไม่มีการปนเปื้อนและหลังจากการเพาะเลี้ยงข้อทั้งหมดที่รอดชีวิตแสดงดังตารางที่ 4.3 ดังนั้นจึงเลือกใช้วิธีที่ 7 เป็นวิธีในการฟอกฆ่าเชื้อข้อที่ได้จากต้นในธรรมชาติของพะยูงพันธุ์ไทยในการทดลองในขั้นต่อๆไป

ตารางที่ 4.3 ผลการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

วิธีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ	ร้อยละการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย	ร้อยละการปนเปื้อนเชื้อรา	ร้อยละการเกิดสีน้ำตาลไหม้	ร้อยละการรอดชีวิต
วิธีที่ 1	30	50	0	20
วิธีที่ 2	80	0	0	20
วิธีที่ 3	20	10	0	70
วิธีที่ 4	20	10	40	30
วิธีที่ 5	0	0	60	40
วิธีที่ 6	0	0	40	60
วิธีที่ 7	0	0	0	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด

จากการทดลองในส่วนของการศึกษาชนิด และปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4 พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงเมล็ดของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เมล็ดเริ่มงอกภายใน 7 วัน โดยสามารถสังเกตได้จากการที่เมล็ดเริ่มมีการเกิดรากแรกเกิด (radicle) งอกออกมาจากเมล็ด (รูปที่ 4.2 ฉ) ลักษณะของเมล็ดหลังจากที่ได้เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM เมล็ดมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นคือมีลักษณะสีดำเข้ม และพองโตขึ้นซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างจากเมล็ดก่อนการเพาะเลี้ยงที่มีลักษณะสีน้ำตาล ขนาดเล็ก และลีบแบน การทดลองในส่วนนี้ได้ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชด้วยกัน 4 ชนิด ได้แก่ TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการศึกษาพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทยในอาหารสูตร WPM ที่เสริมด้วย TDZ พบว่าต้นอ่อนที่เกิดขึ้นมีการพัฒนาของยอดเกิดขึ้นได้น้อยมากโดยมีความยาวเพียง 26.41 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยลักษณะของยอดอ่อนที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่เป็นพุ่มกลม สั้นป้อม และไม่มีการยืดยาวออก เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปลำต้นที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่บวมใหญ่ และเกิดรอยแตกขึ้นบริเวณลำต้นของต้นอ่อน และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปพบว่าที่บริเวณลำต้นและรอยแตกเกิดแคลลัสเกาะอยู่บริเวณรอบๆ ต้นอ่อนที่เกิดขึ้นนี้ไม่มีการพัฒนาของรากเกิดขึ้น (รูปที่ 4.2 จ) ส่วนต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร WPM ที่เสริมด้วย BAP พบว่าต้นอ่อนมีการพัฒนาของยอดที่ดีกว่าการใช้ TDZ แต่ความยาวยอดที่เกิดขึ้นก็ยังคงน้อยกว่ายอดที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เสริมด้วย Kn และ GA_3 (รูปที่ 4.1) โดยยอดที่เกิดจาก BAP มีความยาวยอดเฉลี่ย 30.49 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในส่วนของรากนั้นพบว่าต้นอ่อนที่เจริญจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรนี้มีรากเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (รูปที่ 4.2 ง) การเพาะเลี้ยงเมล็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn หรือ GA_3 พบว่าต้นอ่อนที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่สมบูรณ์ มีองค์ประกอบของยอดและรากครบ และสามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยในส่วนของต้นอ่อนที่เจริญมาจากอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn นั้นพบว่าต้นอ่อนเจริญเติบโตได้สมบูรณ์ที่สุดเมื่อเทียบกับต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นๆ โดยต้นอ่อนที่ได้มีทั้งยอดและรากที่เจริญได้อย่างสมบูรณ์ โดยยอดที่เกิดขึ้นมีความยาวค่อนข้างสูง แผ่นใบสามารถสังเกตเห็นเส้นใบได้อย่างชัดเจน แผ่นใบแผ่ขยายกว้างออก และนอกจากนี้ก็ยังคงมีการเกิดรากขึ้นในจำนวนมาก โดยต้นอ่อนที่เกิดขึ้นมีความยาวของยอดเฉลี่ย 57.69 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.2 ค) ถึงแม้ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโดยใช้ Kn จะมีความสมบูรณ์สูงสุด แต่ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโดยใช้ GA_3 นั้นมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุดเมื่อเทียบกับต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นๆ โดยความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 71.65 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ถึงแม้ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใน GA_3 จะมีความสูงสูงที่สุดก็ตาม แต่ลำต้นที่ได้ค่อนข้างมีลักษณะที่ผอมบางกว่าต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโดยใช้ Kn (รูปที่ 4.2 ข) ซึ่งผลการทดลองในส่วนนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Giannakoula. *et al*. (2012) ที่ได้เพาะเลี้ยงถั่วเลนทิล และพบว่าเมื่อใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด GA_3 สามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นพืชได้สูงถึงร้อยละ 43 แต่ในขณะเดียวกันพบว่าทำให้น้ำหนักของผลผลิตลดลงร้อยละ 43 ด้วยเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

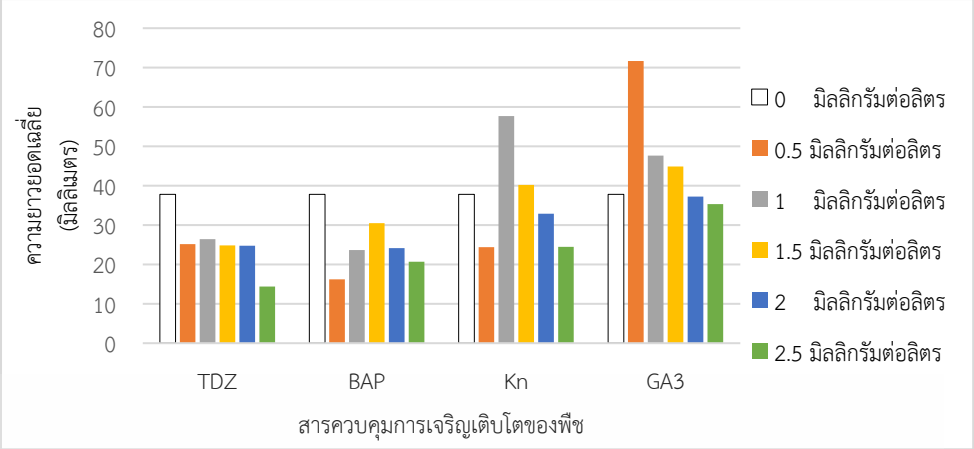
ตารางที่ 4.4 ผลการงอกและการเจริญของเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ร้อยละการงอกของเมล็ด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
TDZ	BAP	Kn	GA_3		
0.0	0.0	0.0	0.0	90	$37.80^{de} \pm 3.86$
0.5				80	$25.14^{h} \pm 1.47$
1.0				90	$26.41^{h} \pm 2.85$
1.5				80	$24.85^{h} \pm 1.32$
2.0				90	$24.77^{h} \pm 2.58$
2.5				80	$14.37^{j} \pm 1.09$
	0.5			80	$16.20^{j} \pm 1.19$
	1.0			80	$23.66^{hi} \pm 2.43$
	1.5			90	$30.49^{g} \pm 2.83$
	2.0			70	$24.16^{h} \pm 2.68$
	2.5			80	$20.69^{i} \pm 2.66$
		0.5		90	$24.37^{h} \pm 1.03$
		1.0		80	$57.69^{b} \pm 2.92$
		1.5		80	$40.20^{d} \pm 1.47$
		2.0		90	$32.89^{fg} \pm 3.16$
		2.5		80	$24.45^{h} \pm 1.69$
			0.5	90	$71.65^{a} \pm 1.90$
			1.0	90	$47.65^{c} \pm 2.11$
			1.5	80	$44.88^{c} \pm 1.92$
			2.0	90	$37.23^{de} \pm 3.85$
			2.5	90	$35.32^{ef} \pm 3.67$

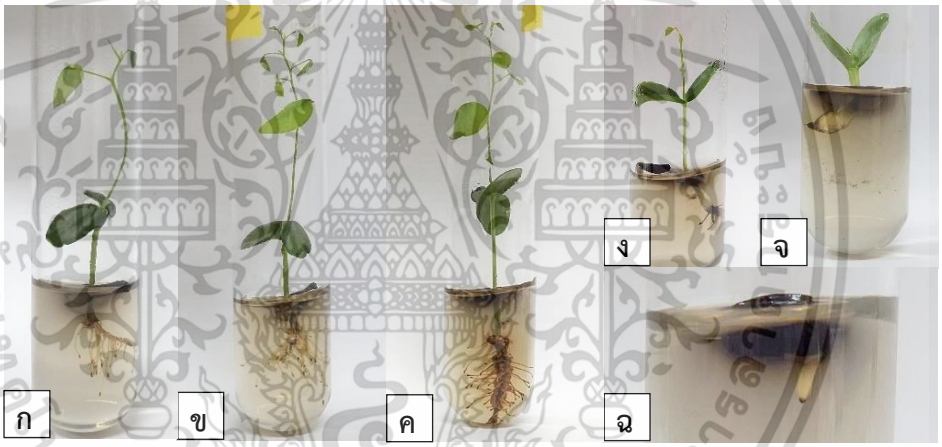
หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± SE

[2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยของต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน



รูปที่ 4.2 ต้นอ่อนที่เกิดจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

(ก) ต้นอ่อนที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

(ข) ต้นอ่อนที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย GA_3 ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ค) ต้นอ่อนที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ง) ต้นอ่อนที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย BAP ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(จ) ต้นอ่อนที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ฉ) รากแรกเกิดของต้นอ่อนที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย GA_3 ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองในส่วนที่ 2 เป็นการชักนำยอดจากข้อของต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากทดลองเพาะเลี้ยงเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทยในส่วนแรกเพื่อหาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเมล็ดให้เกิดเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ ในการทดลองส่วนที่ 2 นี้ได้ใช้ต้นตัวอย่างที่เจริญมาจากเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเป็นสูตรอาหารที่ส่งผลให้ต้นอ่อนมีความยาวสูงสุด หลังจากนั้นเพาะเลี้ยงต้นอ่อนต่อจนต้นอ่อนที่ได้มีอายุครบ 2 เดือน ซึ่งเป็นต้นอ่อนที่มีความยาวยอดและมีระยะห่างระหว่างข้อค่อนข้างมาก รวมถึงต้นอ่อนที่ได้มีความสมบูรณ์แข็งแรงมากขึ้น เมื่อนำมาตัดแยกเป็นชินส่วนข้อแต่ละข้อและนำไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตรชักนำยอดจะมีโอกาสรอดชีวิตมากขึ้น โดยอาหารสูตรชักนำยอดจากข้อของต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดนั้นเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 4 ชนิดได้แก่ TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.3

จากการทดลองพบว่าผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิดต่อการชักนำยอดให้ผลไปในทำนองเดียวกับผลการทดลองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ด คือความยาวยอดที่สูงสุดเกิดในอาหารสูตรชักนำยอดที่เสริมด้วย GA_3 ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 27.42 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.4 ข) และรองลงมาคือยอดที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอด 24.37 มิลลิเมตร และในส่วนของการชักนำยอดในอาหารสูตรที่เสริมด้วย BAP และ TDZ นั้นก็ให้ผลในทำนองเดียวกับการเพาะเลี้ยงเมล็ดในการทดลองส่วนแรกคือ พบว่าการชักนำยอดในอาหารสูตรที่เสริมด้วย TDZ ส่งผลให้ยอดอ่อน และใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีเขียวเข้ม ใบเจริญดี แต่ยอดที่ได้มีลักษณะสั้นที่สุดเมื่อเทียบกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นๆ (รูปที่ 4.4 จ) โดยพบว่าความยาวยอดเฉลี่ยที่สูงสุดของการใช้ TDZ ในการชักนำยอดเกิดที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูงเพียง 19.52 มิลลิเมตร ส่วนการชักนำยอดในอาหารสูตรที่เสริมด้วย BAP ยอดที่ได้มีลักษณะที่ค่อนข้างสมบูรณ์คล้ายกับยอดที่ได้จาก Kn แต่ยอดที่ได้จากการใช้ BAP มีลักษณะของยอดและใบที่เกิดขึ้นมีสีเขียวอ่อน มีจำนวนใบที่เกิดขึ้นน้อย และยอดที่ได้อ่อนแอกว่ายอดที่ได้จากการใช้ Kn (รูปที่ 4.4 ง) โดยพบว่ายอดที่มีความยาวที่สุดของ BAP เกิดขึ้นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอดเฉลี่ย 22.42 มิลลิเมตร

ดังนั้นจากการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำยอดจากข้อของต้นอ่อนที่เกิดจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทยคือ การชักนำยอดในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึงแม้จะให้ความยาวยอดเฉลี่ยน้อยกว่าการใช้ GA_3 ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็ตาม แต่ยอดอ่อนที่ได้จากการชักนำโดยการใช้ Kn มีลักษณะสมบูรณ์กว่าคือ ยอดและใบที่ได้มีลักษณะที่เขียว ใบมีจำนวนมาก แผ่นใบมีลักษณะแผ่ขยายกว้างออก และสามารถสังเกตเห็นเส้นใบที่ชัดเจน (รูปที่ 4.4 ค) มีโอกาสรอดชีวิตในระหว่างการเพาะเลี้ยงสูง และแข็งแรงสามารถนำไปใช้ในการทดลองในขั้นต่อไปได้ดี โดยการทดลองในส่วนนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wannarat. *et al*. (2015) ที่ได้ทดลองในแนวเดียวกันคือ เพาะเลี้ยงเมล็ดในอาหารสังเคราะห์และนำต้นอ่อนที่ได้มาตัดชิ้นส่วนข้อเพื่อชักนำยอด พบว่าการชักนำยอดในอาหารสูตรที่เสริมด้วย GA_3 สามารถเกิดการชักนำยอดได้ดีและยอดสามารถเจริญเติบโตได้เพียงในระยะหนึ่ง แต่ชิ้นส่วนยอดที่เกิดขึ้นนั้นมีลักษณะที่ไม่แข็งแรงและตายไปในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

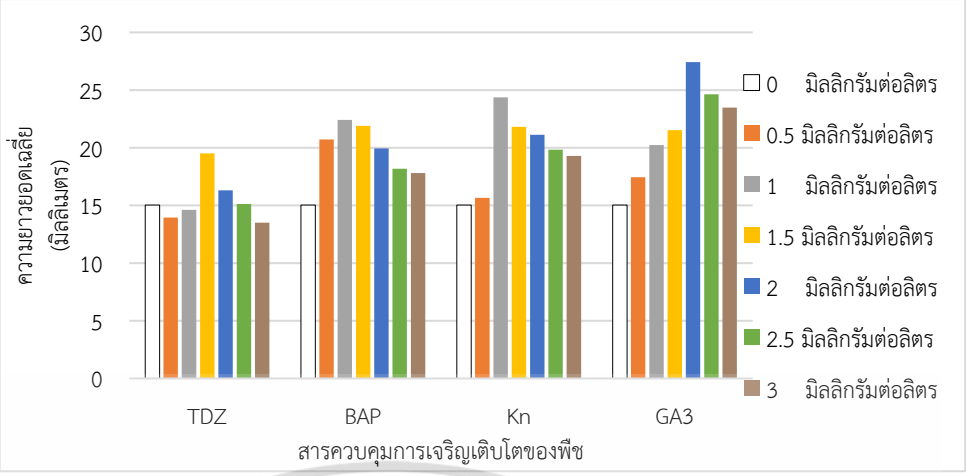
ตารางที่ 4.5 ผลการชักนำยอดจากข้อของต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ร้อยละการเกิดยอด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
TDZ	BAP	Kn	GA_3		
0.0	0.0	0.0	0.0	60	15.03^{klm} ± 0.81
0.5				70	13.95^{lm} ± 1.56
1.0				80	14.62^{lm} ± 0.82
1.5				80	19.52^{fgh} ± 2.99
2.0				80	16.31^{ijkl} ± 1.106
2.5				90	15.13^{jklm} ± 2.85
3.0				80	13.51^{m} ± 1.59
	0.5			70	20.72^{defg} ± 1.23
	1.0			80	22.42^{bcde} ± 1.71
	1.5			90	21.90^{cdef} ± 1.84
	2.0			100	19.94^{efgh} ± 2.56
	2.5			80	18.18^{ghi} ± 2.71
	3.0			80	17.81^{hij} ± 2.21
		0.5		70	15.66^{ijklm} ± 1.54
		1.0		80	24.37^{bc} ± 1.42
		1.5		80	21.81^{cdef} ± 1.15
		2.0		90	21.12^{def} ± 1.13
		2.5		90	19.83^{efgh} ± 1.66
		3.0		100	19.29^{fgh} ± 2.96
			0.5	80	17.45^{hijk} ± 1.60
			1.0	80	20.23^{efgh} ± 1.61
			1.5	90	21.53^{def} ± 1.96
			2.0	100	27.42^{a} ± 1.71
			2.5	70	24.64^{b} ± 2.23
			3.0	90	23.48^{bcd} ± 2.37

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± SE

[2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากข้อของต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

รูปที่ 4.4 ยอดที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นอ่อนที่เกิดจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

(ก) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

(ข) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย GA_3 ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ค) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ง) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

(จ) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาผลกระทบของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการเกิดและการพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ของแคลลัส

จากการศึกษาการชักนำแคลลัสเพื่อให้เกิดเป็นต้นใหม่ การทดลองในส่วนที่ 1 คือ การชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทยได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.5 พบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันคือ IAA IBA NAA Pi และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำแคลลัสที่เสริมด้วย IAA IBA และ NAA แคลลัสเกิดขึ้นได้ไม่ดีเนื่องจากแคลลัสที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็ก มีร้อยละการเกิดแคลลัส และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยที่น้อย จะเห็นได้ว่าในการชักนำแคลลัสโดยการใช้ IAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสเท่ากันคือร้อยละ 30 และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย 0.3528 และ 0.3058 กรัม ตามลำดับ ในส่วนของ NAA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละของการเกิดแคลลัสที่ต่ำสุดอยู่ที่ร้อยละ 20 และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย 0.4164 กรัม นอกจากนี้เมื่อสังเกตลักษณะของแคลลัสจากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 3 ชนิด (รูปที่ 4.6 ก ข ค) ที่ได้กล่าวไปข้างต้น แคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่อ่อนแอ สังเกตได้จากหลังการตัดแบ่งแคลลัสเพื่อเพิ่มปริมาณหรือเปลี่ยนอาหาร ตัวอย่างมักไม่รอดชีวิตและแคลลัสมีลักษณะของอาการฉ่ำน้ำร่วมด้วย

ส่วนการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Pi นั้น พบว่ามีร้อยละการเกิดแคลลัสสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับร้อยละการเกิดแคลลัสที่เกิดขึ้นจากอาหารสูตรอื่นๆ โดยพบว่าอาหารชักนำแคลลัสสูตรที่เสริมด้วย Pi ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นมีการเกิดแคลลัสสูงสุดถึงร้อยละ 80 และมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 0.6035 กรัม แคลลัสที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่ แต่พบว่าแคลลัสที่เกิดขึ้นนั้นมีลักษณะที่ใสและโปร่งร่วน หรือบางตัวอย่างแคลลัสมีลักษณะลักษนะที่เป็นฝอยเบาบาง ไม่จับตัวกันเป็นก้อนเข็ง ในส่วนของสีแคลลัสมีสีขาวล้วนไม่มีสีเขียวปน ยังพบว่าบางตัวอย่างมีลักษณะของอาการฉ่ำน้ำร่วมด้วย (รูปที่ 4.6 ง) ในการเพาะเลี้ยงเมื่อเปลี่ยนอาหารพบว่าตัวอย่างรอดชีวิตน้อย และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปตัวอย่างไม่มีลักษณะที่เป็นสีเขียวเพิ่มขึ้นแต่กลับมีลักษณะที่คล้ำขึ้นและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในที่สุด

สุดท้ายในส่วนของการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด 2,4-D ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตรนี้ให้ผลดีที่สุด ทั้งในด้านลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้นและร้อยละของการเกิดแคลลัสก็อยู่ในระดับที่สูงถึงร้อยละ 70 และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย 0.8021 กรัม โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่และแน่น มีการเจริญที่ดีสามารถสังเกตได้จากเมื่อนำแคลลัสไปขยายเพื่อเพิ่มปริมาณ หรือมีการเปลี่ยนอาหารแคลลัสสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและมีการรอดชีวิตที่สูง นอกจากนี้พบว่าแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีขาวอมเขียว (รูปที่ 4.6 จ) และพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปเป็นระยะเวลา 2 เดือนแคลลัสสามารถเปลี่ยนเป็นสีเขียวทั้งก้อน และเป็นแคลลัสมีลักษณะคอมแพคแคลลัส (รูปที่ 4.6 ฉ) แต่เมื่อนำแคลลัสที่มีลักษณะเป็นคอมแพคแคลลัสไปทดลองต่อในการทดลองส่วนที่ 2 คือชักนำแคลลัสไปเป็นต้น โดยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช BAP Kn TDZ และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 1 3 5 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการทดลองในส่วนที่ 2 นี้แคลลัสไม่มีการรอดชีวิตโดยตัวอย่างจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้มและตายไปในที่สุด การทดลองในส่วนนี้จึงพบว่าไม่สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ด้วยวิธีการนี้ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

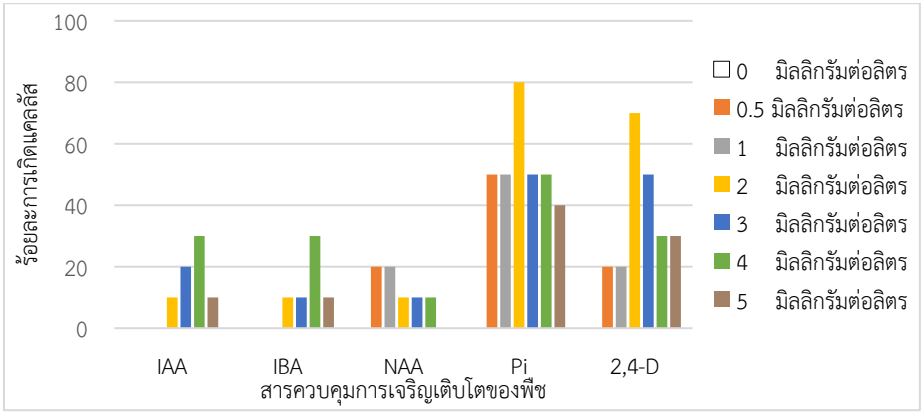
ตารางที่ 4.6 ผลการชักนำแคลลัสจากใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย IAA IBA NAA Pi และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)					ร้อยละการเกิดแคลลัส	น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย (กรัม)
IAA	IBA	NAA	Pi	2,4-D		
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0.0000 ± 0.0000
0.5					0	0.0000 ± 0.0000
1.0					0	0.0000 ± 0.0000
2.0					10	0.2328^{no} ± 0.0167
3.0					20	0.5381^{def} ± 0.0988
4.0					30	0.3528^{ijklm} ± 0.0891
5.0					10	0.2669^{mno} ± 0.0533
	0.5				0	0.0000 ± 0.0000
	1.0				0	0.0000 ± 0.0000
	2.0				10	0.4847^{efgh} ± 0.0894
	3.0				10	$0.3792^{ghijklm}$ ± 0.0529
	4.0				30	0.3058^{lmno} ± 0.0383
	5.0				10	0.2842^{mno} ± 0.0403
		0.5			20	0.3407^{jklmn} ± 0.0230
		1.0			20	0.4164^{ghijkl} ± 0.0827
		2.0			10	0.4376^{fghij} ± 0.0522
		3.0			10	0.4502^{fghij} ± 0.0550
		4.0			10	0.5390^{def} ± 0.0213
		5.0			0	0.0000 ± 0.0000
			0.5		50	0.4912^{defg} ± 0.0538
			1.0		50	0.6534^{c} ± 0.0724
			2.0		80	0.6035^{cd} ± 0.0362
			3.0		50	0.4625^{fghi} ± 0.0531
			4.0		50	0.4294^{fghijk} ± 0.0467
			5.0		40	0.3164^{klmno} ± 0.0763
				0.5	20	0.7911^{b} ± 0.0520
				1.0	20	1.8184^{a} ± 0.1074
				2.0	70	0.8021^{b} ± 0.0800
				3.0	50	0.5952^{cde} ± 0.0723
				4.0	30	0.3690^{hijklm} ± 0.0875
				5.0	30	0.2112^{o} ± 0.0759

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± SE

[2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไฟล์ไปเผยแพร่ต่อ ไม่ว่าจะเป็นการเผยแพร่ฟรีหรือขายก็ตาม



รูปที่ 4.5 กราฟเปรียบเทียบร้อยละการเกิดแคลลัสจากใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช IAA IBA NAA Pi และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

รูปที่ 4.6 แคลลัสที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

(ก) แคลลัสที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย IAA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ข) แคลลัสที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ค) แคลลัสที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ง) แคลลัสที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Pi ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

(จ) แคลลัสที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ฉ) แคลลัสที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การศึกษาปริมาณของสาร Plant Preservative Mixture (PPM) ที่เหมาะสม

จากการทดลองหลังจากฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยจากต้นในธรรมชาติ และนำมาลงในอาหารเพาะเลี้ยงพบว่า หลังการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของข้อของพะยูงพันธุ์ไทยในอาหารสูตรชักนำยอดเป็นระยะเวลา 1 เดือน ข้อมีการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรีย โดยลักษณะของการปนเปื้อนไม่ได้ปนเปื้อนมาจากบริเวณผิวของชิ้นตัวอย่างหรือบริเวณผิวหน้าของอาหาร แต่ลักษณะการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นทางสีขาวไหลออกมาจากด้านในของข้อสู่อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จนทำให้ข้อนั้นตายในที่สุด (รูปที่ 4.7 ก) จึงได้มีการเพิ่มการทดลองในส่วนนี้ขึ้นมา โดยทดลองเติมสาร PPM ที่ความเข้มข้นต่างกันลงในอาหารสูตรชักนำยอดที่ความเข้มข้น 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ลงไปในอาหารเพื่อช่วยลดและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.7 จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเติมสาร PPM ข้อมีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียถึงร้อยละ 20 หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน และพบว่าเมื่อเติมสาร PPM ลงไปในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสำหรับการชักนำยอดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข้อยังคงมีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 20 เช่นเดียวกับการไม่เติมสาร PPM ลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง แต่จากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PPM เป็น 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ร้อยละการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียจากข้อลดลงเหลือร้อยละ 10 ของจำนวนข้อทั้งหมด โดยจากการทดลองพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดของสาร PPM คือที่ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่าหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะ 1 เดือน และหลังจากนั้นตัวอย่างไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียโดยมีร้อยละการรอดชีวิตสูงที่สุดอยู่ที่ร้อยละ 90 ซึ่งผลการทดลองที่ได้ในส่วนนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Niedz and Bausher (2002) ที่ได้ศึกษาวิธีการลดการปนเปื้อนของการเพาะเลี้ยงต้น *Citrus sinensis* L. ซึ่งพบว่าหลังจากการฟอกฆ่าเชื้อแล้วนำชิ้นส่วนของตัวอย่างมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีการเติม Plant Preservative Mixture (PPM) ตัวอย่างมีการปลอดเชื้อมากกว่าร้อยละ 95 และจากการทดลองตามตารางที่ 4.7 ยังพบว่าการใช้สาร PPM ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ให้ร้อยละของการเกิดตายอดที่จะพัฒนาไปเป็นยอด (รูปที่ 4.7 ค) ได้สูงที่สุดถึงร้อยละ 40 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ George and Tripepi (2001) ที่ได้ทดลองเติมสาร PPM ปริมาณ 0.5 – 4 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่าทำให้ต้น European birch (*Betula pendula* Roth) และ rhododendron (*Rhododendron catawbiense* Michx.) มีแนวโน้มการของการเกิดยอดและจำนวนยอดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ตามตารางที่ 4.7 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้สาร PPM ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 3 มิลลิลิตรต่อลิตร เติมลงไปในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงคือที่ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตรต่อลิตร และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ตัวอย่างมีร้อยละของการเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลไหม้สูงถึงร้อยละ 30 และ 40 ตามลำดับ และมีร้อยละการรอดชีวิตของตัวอย่างลดลงไปด้วย ในทำนองเดียวกันกับร้อยละการเกิดตายอดที่จะพัฒนาไปเป็นยอดมีการลดลงด้วยเช่นเดียวกันอยู่ที่ร้อยละ 30 และ 20 ตามลำดับ หากไม่มีการเติมสาร PPM ลงไปในอาหาร (รูปที่ 4.7 ข) ร้อยละการเกิดตายอดที่จะพัฒนา ไปเป็นยอดมีเพียงแค่ร้อยละ 10 เท่านั้น ดังนั้นจากการทดลองจะเห็นได้ว่าการเติมสาร PPM ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ลงไปในอาหารที่ใช้ในการชักนำยอด มีส่วนช่วยในการลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นจากตัวอย่างหลังจากการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ยังสามารถช่วยเพิ่มร้อยละการรอดชีวิต และร้อยละการเกิดตายอดซึ่งจะพัฒนาต่อไปเป็นยอดจากชิ้นส่วนข้อของตัวอย่างในอนาคตอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลการศึกษาปริมาณของสาร Plant Preservative Mixture (PPM) ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และเติมสาร PPM ที่ความเข้มข้นต่างกันที่ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

ความเข้มข้นของ PPM (มิลลิลิตรต่อลิตร)	ร้อยละการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย	ร้อยละการเกิดสีน้ำตาลไหม้	ร้อยละการรอดชีวิต	ร้อยละการเกิดตายยอด
0	20	0	80	10
1	20	0	80	10
2	10	10	80	10
3	0	10	90	40
4	0	30	70	30
5	0	40	60	20

รูปที่ 4.7 ผลของสาร Plant Preservative Mixture (PPM) ต่อชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

(ก) การปนเปื้อนของชิ้นส่วนข้อต้นพะยูงพันธุ์ไทยเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และ PPM

(ข) ชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และ PPM

(ค) ชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และเสริมด้วย PPM ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมในการชักนำยอดจากข้อ

การชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากนำชิ้นส่วนข้อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ร้อยละ 0.1 เนื่องจากการเพาะเลี้ยงในส่วนก่อนหน้านี้พบว่าชิ้นส่วนข้อมีการปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาบริเวณรอบๆ ในปริมาณมากซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นสารในกลุ่มฟีนอลิกที่โดยปกติพืชจะปล่อยออกมาเมื่อได้รับบาดเจ็บการการตัดชิ้นส่วนข้อ และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปพบว่าชิ้นส่วนข้อจะมีลักษณะสีน้ำตาลและตายในที่สุด การทดลองในส่วนนี้จึงได้เติมผงถ่านกัมมันต์ลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำยอด โดยอ้างอิงจากงานวิจัยของ Warakagoda and Subasinghe (2013) ที่พบว่าการเติมผงถ่านกัมมันต์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ลงในอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช สามารถช่วยลดการที่ตัวอย่างพืชเกิดเป็นลักษณะสีน้ำตาลไหม้ได้ และผลที่ได้จากการทดลองก็สอดคล้องกับงานวิจัยนี้คือ พบว่าการเติมผงถ่านกัมมันต์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ลงในอาหารช่วยลดการเกิดลักษณะสีน้ำตาล และสามารถช่วยเพิ่มร้อยละการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อได้มากขึ้น โดยจากการทดลองได้ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโทไคนิน (Kn และ TDZ) และจิบเบอเรลลิน (GA_3) ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.8 พบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ใช้ความเข้มข้นในช่วงกว้าง ห่างกัน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (1 3 5 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร) การใช้ Kn ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลของการเกิดยอดโดยรวมได้ดีที่สุด คือยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะสมบูรณ์ แข็งแรง ลำต้นและใบมีสีเขียว ใบมีลักษณะที่แผ่ขยายเป็นแผ่นใบที่กว้าง และเกิดใบขึ้นจำนวนมาก (รูปที่ 4.9 ง) แต่หากใช้ Kn ในความเข้มข้นที่สูงกว่านี้จะส่งผลต่อชิ้นส่วนข้อในทำนองเดียวกับการทดลองของ Fráguas. *et al*. (2004) ที่กล่าวว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ Kn ในอาหารเพาะเลี้ยงจะส่งผลให้ความยาวยอดที่ได้ลดลง และการทดลองของ Leshem. *et al.* (1988) ได้อธิบายไว้ว่าผลที่เกิดขึ้นนี้มีสาเหตุมาจากถึงแม้ Kn จะเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีความจำเป็นต่อการพัฒนาเกิดเป็นยอด แต่การใช้ Kn ในความเข้มข้นที่สูงสามารถเป็นพิษต่อตัวอย่างได้ ซึ่งจะส่งผลให้ยอดที่ได้มีขนาดสั้นลง และใบที่เกิดขึ้นไม่เกิดการแผ่ขยายออก เป็นต้น

ในส่วนของการใช้ GA_3 พบว่าที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 16.79 มิลลิเมตร ถึงแม้การใช้ GA_3 จะให้ความยาวเฉลี่ยยอดสูงสุดก็ตาม แต่ลักษณะของยอดที่เกิดขึ้นนั้นมีลักษณะที่ไม่สมบูรณ์ โดยยอดที่ได้มีลักษณะผอม บาง ไม่เกิดการพัฒนาของใบขึ้น เกิดขึ้นเพียงลักษณะของใบเล็กๆที่ไม่สมบูรณ์ และยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีเขียวอ่อนอมเหลือง (รูปที่ 4.9 ข) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาเหล่านี้ที่เกิดขึ้นมาจากการใช้ GA_3 ทำให้ตัวอย่างมีโอกาสรอดชีวิตได้น้อยลง ส่วนใหญ่เป็นผลกระทบที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และการคายน้ำของยอดอ่อนที่เกิดขึ้น (Ziv, 1991) นอกจากนี้ยังพบว่าในยอดที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่มีลักษณะของการเกิดอาการฉ่ำน้ำ (Vitrification) ร่วมด้วย ในส่วนของการใช้ TDZ พบว่าให้ค่าของความยาวยอดเฉลี่ยต่ำที่สุด และการเกิดยอดมีลักษณะสั้น มีการพัฒนาของใบเกิดขึ้นเล็กน้อยแต่มีลักษณะที่เขียว (รูปที่ 4.9 จ) และความสมบูรณ์ของยอดที่เกิดขึ้นยังคงด้อยกว่ายอดที่ได้จากการใช้ Kn

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช Kn GA_3 และ TDZ ที่ความเข้มข้น 1 3 5 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ร้อยละการเกิดยอด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
Kn	GA_3	TDZ		
0.0	0.0	0.0	50	1.29^{l} ± 0.12
1.0			50	3.45^{i} ± 0.34
3.0			60	5.14^{h} ± 0.27
5.0			70	14.77^{b} ± 0.36
7.0			70	10.42^{c} ± 0.28
9.0			80	9.87^{d} ± 0.72
	1.0		80	6.13^{g} ± 0.37
	3.0		90	16.79^{a} ± 0.47
	5.0		90	8.17^{f} ± 0.48
	7.0		70	6.07^{g} ± 0.32
	9.0		70	5.28^{h} ± 0.36
		1.0	90	9.18^{e} ± 0.63
		3.0	70	2.32^{j} ± 0.15
		5.0	60	1.96^{jk} ± 0.56
		7.0	60	1.88^{jk} ± 0.45
		9.0	50	1.62^{kl} ± 0.53

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± SE

[2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองการชักนำยอดในส่วนแรก เนื่องจากได้ทดลองที่ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในช่วงที่กว้าง ผลที่ไม่ดีอาจเกิดมาจากความเข้มข้นที่ไม่เหมาะสม ในส่วนนี้จึงทดลองกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชช่วงห่างจากความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากการทดลองในส่วนแรกที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งในความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นและลดลงดังตารางที่ 4.9 พบว่าการใช้ Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับยังคงเป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุด แต่ในส่วนของ TDZ พบว่าการใช้ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมมากกว่าการใช้ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Pai and Desai (2018) ที่กล่าวว่า การใช้ TDZ ในความเข้มข้นที่ต่ำมากๆจะช่วยทำให้เกิดการชักนำยอดได้ดี โดยการใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำนี้จะยิ่งช่วยให้ TDZ แสดงคุณสมบัติของไซโทไคนินได้ดียิ่งขึ้น โดยเฉพาะในไม้เนื้อแข็ง แต่ในทางกลับกันการใช้ TDZ ในความเข้มข้นที่สูงขึ้นจะส่งผลให้ยอดที่ได้มีลักษณะที่สั้น อย่างไรก็ตามแม้ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 3 ชนิด เป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุดแล้ว แต่การพัฒนาและการเจริญเติบโตของยอดที่เกิดขึ้นก็ยังคงไม่มีการทดลองไหนที่ดีไปกว่าการการชักนำยอดโดยใช้ Kn ที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงได้ทดลองเพิ่มเป็นส่วนที่ 3 คือ การนำสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิดในความเข้มข้นที่ดีที่สุดมารวมกันเพื่อหวังว่าจะให้ผลการชักนำยอดที่ต่างออกไปหรือดีขึ้นกว่าเดิม

ตารางที่ 4.9 ผลการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช Kn GA_3 และ TDZ ความเข้มข้นห่างจากช่วงที่ดีที่สุดจากตารางที่ 4.8 ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ร้อยละการเกิดยอด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
Kn	GA_3	TDZ		
0.0	0.0	0.0	40	$1.27^{n} \pm 0.23$
3.0			80	$4.80^{k} \pm 0.43$
3.5			70	$6.50^{j} \pm 0.25$
4.0			80	$8.42^{h} \pm 0.17$
4.5			70	$10.38^{g} \pm 0.28$
5.0			70	$15.20^{b} \pm 0.41$
5.5			70	$13.74^{c} \pm 0.58$
6			70	$13.30^{cd} \pm 0.75$
6.5			70	$12.39^{ef} \pm 0.43$
7			70	$10.02^{g} \pm 0.39$
	1.0		70	$6.50^{j} \pm 0.67$
	1.5		80	$7.66^{i} \pm 0.44$
	2.0		80	$9.74^{g} \pm 0.28$
	2.5		80	$12.93^{de} \pm 0.68$
	3.0		80	$17.28^{a} \pm 0.20$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 (ต่อ) ผลการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช Kn GA_3 และ TDZ ความเข้มข้นห่างจากช่วงที่ดีที่สุดจากตารางที่ 4.8 ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ร้อยละการเกิดยอด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
Kn	GA_3	TDZ		
	3.5		80	14.79^{b} ± 0.59
	4.0		80	12.77^{de} ± 0.65
	4.5		80	11.94^{f} ± 0.47
	5.0		80	8.51^{h} ± 0.61
		0.0625	80	2.69^{m} ± 0.97
		0.125	80	2.96^{m} ± 0.60
		0.25	80	5.27^{k} ± 0.50
		0.5	80	11.87^{f} ± 0.49
		1.0	90	9.71^{g} ± 0.55
		1.5	80	4.97^{k} ± 0.74
		2.0	80	3.91^{l} ± 0.17
		2.5	70	2.66^{m} ± 0.29
		3.0	70	2.54^{m} ± 0.21

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± SE

[2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

จากการทดลองเมื่อนำสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากการทดลองในส่วนก่อนหน้ามาใช้ร่วมกันดังตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.8 พบว่า ในด้านของความยาวยอดที่มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุดยังคงพบในการทดลองที่ใช้ GA_3 เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอดเฉลี่ยอยู่ที่ 17.77 มิลลิเมตร แต่ยอดที่เกิดขึ้นยังคงมีลักษณะเช่นเดียวกับการทดลองในส่วนก่อนหน้าคือ ยอดมีความยาวแต่ผอมบาง มีสีเขียวอ่อนอมเหลือง รวมถึงไม่มีการพัฒนาของใบเกิดขึ้น ส่วนความยาวเฉลี่ยของยอดที่รองลงมาคือการใช้ Kn ร่วมกับ GA_3 ให้ความยาวของยอดเฉลี่ยอยู่ที่ 16.16 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นความยาวเฉลี่ยของยอดที่ยาวกว่าการใช้ Kn อย่างเดียว แต่อย่างไรก็ตามยอดที่เกิดจากการใช้ Kn ร่วมกับ GA_3 ยังคงมีลักษณะที่ไม่สมบูรณ์ โดยยอดที่ได้มีลักษะที่อวบและเขียวมากขึ้น มีใบเกิดมากขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้ GA_3 เพียงย่างเดียวก็จริง แต่ใบที่เกิดขึ้นนั้นยังคงมีลักษณะที่ไม่สมบูรณ์แข็งแรง มีลักษณะสีเขียวอ่อน แผ่นใบไม่แผ่ขยายและจะร่วงเกือบหมดหลังจากเพาะเลี้ยงไปแล้วเป็นระยะเวลา 1 เดือน (รูปที่ 4.9 ข) ส่วนการใช้ TDZ และการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นร่วมกับ TDZ พบว่าให้ความยาวยอดเฉลี่ยที่น้อยในทุกๆซ้ำของการทดลอง แต่ตัวอย่างยอดที่เกิดขึ้นนั้นก็มีลักษะที่เขียวสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

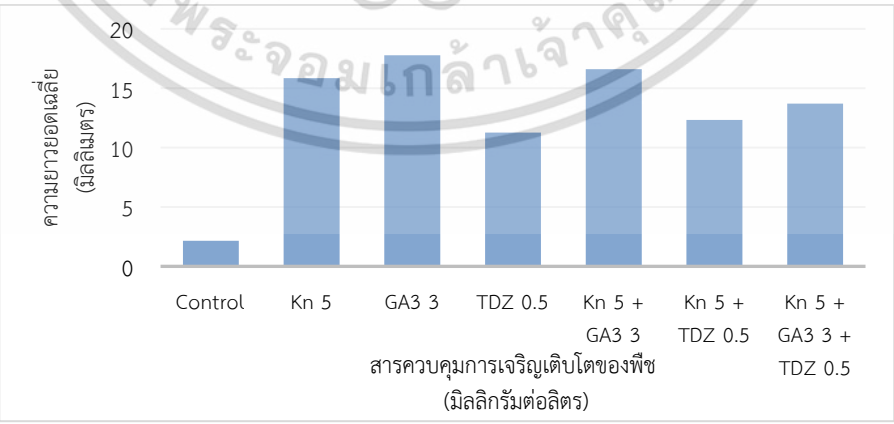
แต่ยังคงด้อยกว่าการใช้ Kn เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองในส่วนการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อพะยูงพันธุ์ไทยพบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำยอด คือการใช้ Kn ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึงแม้ความยาวยอดเฉลี่ยที่ได้จะน้อยกว่าการใช้ GA_3 ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ลักษณะของยอดที่เกิดจาก Kn นั้นมีลักษณะที่สมบูรณ์แข็งแรงกว่า ยอดมีลักษณะที่เขียว และเกิดใบที่มีการแผ่ขยายโดยมีอัตราการร่วงของใบที่ต่ำ ทำให้ยอดที่เกิดขึ้นจากการใช้ Kn มีการเจริญเติบโตและพัฒนาไปได้อย่างเต็มที่ โดยมีลักษณะที่สมบูรณ์แข็งแรงและพร้อมที่จะนำไปทดสอบในการทดลองในขั้นต่อๆไป

ตารางที่ 4.10 ผลการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช Kn GA_3 และ TDZ ใช้ร่วมกันที่ความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากตารางที่ 4.9 หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ร้อยละการเกิดยอด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
Kn	GA_3	TDZ		
0.0	0.0	0.0	50	2.15^{g} ± 0.37
5.0			70	15.85^{c} ± 0.39
	3.0		80	17.77^{a} ± 0.52
		0.5	80	11.27^{f} ± 0.53
5.0	3.0		70	16.61^{b} ± 0.42
5.0		0.5	70	12.33^{e} ± 0.61
5.0	3.0	0.5	80	13.70^{d} ± 0.63

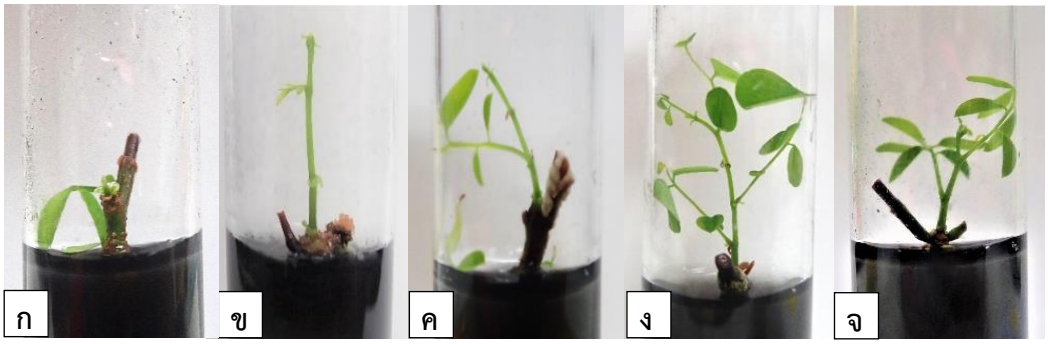
หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± SE

[2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test



รูปที่ 4.8 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการชักนำข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช Kn GA_3 และ TDZ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ยอดที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

(ก) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

(ข) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย GA_3 ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ค) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย GA_3 ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ง) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(จ) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.6 การศึกษาชนิดและปริมาณของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง

ชนิดและความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมเป็นส่วนที่สำคัญในการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากอาหารสังเคราะห์แต่ละสูตรมีส่วนประกอบทั้งชนิดและอัตราส่วนของแร่ธาตุที่แตกต่างกัน ในการทดลองจึงได้ใช้อาหารที่ชนิดและความเข้มข้นที่แตกต่างกันดังตารางที่ 4.11 ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ดีที่สุดจากการทดลองในส่วนก่อนหน้าคือ Kn ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่าการชักนำยอดพะยูงพันธุ์ไทยในอาหารสังเคราะห์สูตร Woody plant medium (WPM) ให้ผลการชักนำยอดดีกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog medium (MS) ในทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองดังรูปที่ 4.10 พบว่าในการเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นที่ใช้ปกติ (½WPM) ให้ผลของการชักนำยอดได้ดีที่สุด โดยยอดที่เกิดขึ้นเป็นยอดที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรงกว่ายอดที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ใช้ WPM ที่ความเข้มข้นเต็มสูตร โดยยอดและใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีเขียวเข้ม แผ่นใบแผ่ขยาย และเกิดใบขึ้นในจำนวนมาก (รูปที่ 4.11 ก) และยังพบว่าความยาวยอดที่เกิดขึ้นมีความยาวยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 22.36 มิลลิเมตร และมีร้อยละการเกิดยอดจากจำนวนตัวอย่างทั้งหมดสูงที่สุดอยู่ที่ร้อยละ 95 ในส่วนของการใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS พบว่ายอดที่เกิดขึ้นนอกจากจะให้ค่าความยาวยอดเฉลี่ยที่น้อยแล้ว ยังพบว่ายอดที่เกิดขึ้นนั้นมีอาการฉ่ำน้ำเกิดขึ้นร่วมด้วย รวมถึงใบที่เกิดขึ้นมีการร่วงจำนวนมากหลังจากการเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 1 เดือน (รูปที่ 4.11 ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rathore. *et al.* (2004) ที่ได้ศึกษาถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของไม้เนื้อแข็งชนิดหนึ่ง (*Syzygiun cuminii*) และพบว่าการใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS ทำให้ตัวอย่างแสดงอาการฉ่ำน้ำ และมีการร่วงของใบเกิดขึ้น โดยสาเหตุและผลกระทบที่เกิดจากการใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS และ WPM ข้างต้น Khamushi. *et al*. (2019) ได้อธิบายไว้ว่าการใช้อาหารสังเคราะห์สูตร WPM ดีกว่าการใช้ MS เนื่องมากจากการที่ในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ได้ใช้โพแทสเซียมซัลเฟตแทนการใช้โพแทสเซียมไนเตรตที่มีอยู่ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ซึ่งการที่ไอออนของซัลเฟตในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM มากกว่าใน MS สามารถส่งผลให้การนำแร่ธาตุ จากอาหารเพาะเลี้ยงเข้าสู่ชิ้นส่วนตัวอย่างพืชได้ดีกว่า ดังนั้นชนิดและความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสมที่สุดที่ใช้ในการชักนำยอดจากข้อของพะยูงพันธุ์ไทยคืออาหารสูตร WPM ที่ความเข้มข้นครึ่งหนึ่งจากความเข้มข้นปกติ (½WPM)

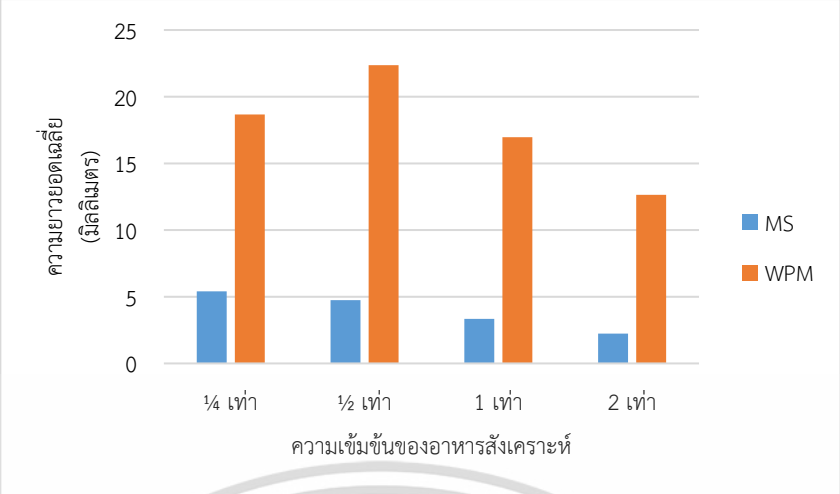
ตารางที่ 4.11 ผลกระทบของการใช้ชนิดและปริมาณของอาหารที่แตกต่างกัน ต่อการชักนำยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทย เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

ชนิดของอาหาร	ร้อยละการเกิดยอด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
¼ MS	50	5.40^{e} ± 0.37
½ MS	50	4.75^{f} ± 0.59
1 MS	30	3.34^{g} ± 0.39
2 MS	25	2.24^{h} ± 0.17
¼ WPM	90	18.67^{b} ± 0.40
½ WPM	95	22.36^{a} ± 0.31
1 WPM	85	16.96^{c} ± 0.21
2 WPM	80	12.64^{d} ± 0.20

หมายเหตุ 1/ ค่าเฉลี่ย ± SE

2/ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan’s multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสูตรที่แตกต่างกัน และเสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

รูปที่ 4.11 ยอดที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

(ก) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร ½ WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ข) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร ¼ MS ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.7 การศึกษาชนิดของสารก่อเจลที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง

การนำผลการทดลองไปประยุกต์ใช้โดยเฉพาะในระดับอุตสาหกรรม การลดต้นทุนถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ควรคำนึงถึงเป็นลำดับต้นๆ และการใช้สารก่อเจลที่เหมาะสมก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการเกิดยอดที่ดีได้ (Schmauder, 1985) การทดลองส่วนนี้จึงได้มีการเปรียบเทียบชนิดของสารก่อเจลที่ส่งผลต่อการชักนำและการเจริญเติบโตของยอดพะยูงพันธุ์ไทย โดยได้ใช้สารก่อเจล 4 ชนิดดังตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.12 พบว่าสารก่อเจลที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการชักนำและการเจริญเติบโตของยอดคือ Phytagel โดยยอดที่ได้เป็นยอดที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง มีใบที่แผ่ขยายและมีสีเขียวเข้ม (รูปที่ 4.13 ก) นอกจากนี้อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีลักษณะที่ใสสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนพืชที่อยู่ใต้อาหาร หรือการปนเปื้อนที่ออกมาจากชิ้นส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืชได้อย่างชัดเจน และการใช้ Phytagel ยังทำให้ได้ร้อยละของการเกิดยอดสูงสุดถึงร้อยละ 90 เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารก่อเจลชนิดอื่นๆที่ใช้ในการทดลองนี้ และมีความยาวยอดเฉลี่ย 19.01 มิลลิเมตร ในขณะที่การใช้ Crystal gel agar G180 และสารก่อเจลคุณภาพระดับใช้ประกอบอาหาร (Agar powder, food grade) ให้ร้อยละการเกิดยอดเท่ากันร้อยละ 70 และให้ความยาวยอดเฉลี่ย 16.54 มิลลิเมตร และ 16.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ พบว่าสารก่อเจลทั้งสองชนิดนี้ให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกันทั้งค่าความยาวยอดเฉลี่ยและลักษณะของยอดที่เกิดขึ้นคือ ยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่ค่อนข้างอ่อนแอกว่ายอดที่เพาะเลี้ยงในสารก่อเจลชนิด Phytagel โดยยอดที่ได้มีลักษณะสีเขียวที่อ่อนกว่า และใบมีการแผ่ขยายของแผ่นใบแค่บางส่วน (รูปที่ 4.13 ข ค) และมีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าโดยพิจารณาจากค่าความยาวยอดเฉลี่ยที่ได้แสดงไว้ข้างต้น แต่อย่างไรก็ตามตัวอย่างก็สามารถเจริญเติบโตได้เป็นปกติและสามารถนำไปชักนำรากในขั้นตอนต่อไปได้เช่นกัน เพียงแต่ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงก่อนที่จะนำไปชักนำรากต้องใช้ระยะเวลาที่มากขึ้นกว่าการเพาะเลี้ยงโดยใช้ Phytagel ประมาณ 2 ถึง 3 เดือน ส่วนสารก่อเจลที่มีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงต่ำที่สุดคือ สารก่อเจลคุณภาพระดับใช้เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (Agar powder, bacteriological grade) โดยให้ร้อยละของการเกิดยอดร้อยละ 50 และให้ความยาวยอดเฉลี่ยเพียง 8.52 มิลลิเมตร ลักษณะของยอดที่ได้มีลักษณะสีเขียว ใบมีการแผ่ขยายบ้างเล็กน้อย แต่ยอดที่ได้ไม่มีการยืดยาวออก (รูปที่ 4.13 ง) และเมื่อเลี้ยงต่อไปเป็นระยะเวลา 1 เดือน ปลายยอดเกิดเป็นสีน้ำตาลไหม้ และยอดจะตายไปในที่สุด ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้ทั้งในด้านของความยาวยอดที่เกิดขึ้น และลักษณะของยอดที่เกิดขึ้นสารก่อเจลชนิด Phytagel มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ทั้งในเรื่องลักษณะและความยาวของยอด แต่ Phytagel เป็นสารก่อเจลที่มีราคาสูง การนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมจึงอาจไม่คุ้มค่า แต่จากการทดลองก็พบว่าการใช้ Crystal gel agar G180 และสารก่อเจลคุณภาพระดับใช้ประกอบอาหาร ก็มีความสามารถในการชักนำยอดและช่วยในการเกิดยอดของพะยูงพันธุ์ไทยได้ดีใกล้เคียงกับการใช้สารก่อเจลชนิด Phytagel ดังนั้นในการประยุกต์ใช้ที่ต้องการลดต้นทุนในการผลิต จึงสามารถพิจารณาใช้สารก่อเจลชนิด Crystal gel agar G180 และสารก่อเจลคุณภาพระดับใช้ประกอบอาหารแทนได้

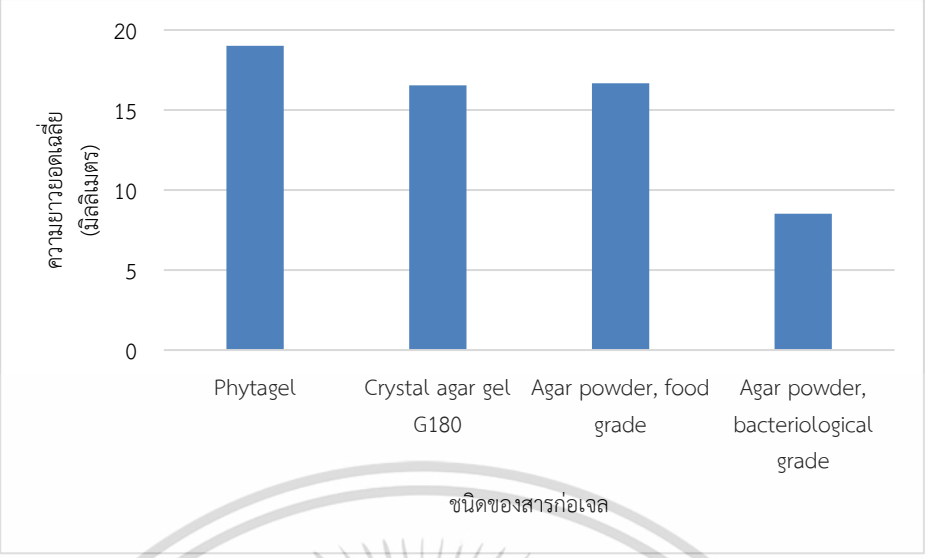
ตารางที่ 4.12 ผลกระทบของการใช้สารก่อเจลที่แตกต่างกันต่อการชักนำยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทยบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน

ชนิดของสารก่อเจล	ร้อยละการเกิดยอด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
Phytagel	90	19.01^{a} ± 0.80
Crystal agar gel G180	70	16.54^{b} ± 0.96
Agar powder, food grade	70	16.67^{b} ± 1.11
Agar powder, bacteriological grade	50	8.52^{c} ± 1.06

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± SE

[2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสาร... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ...ใช้



รูปที่ 4.12 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการใช้สารก่อเจลที่แตกต่างกัน เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน

รูปที่ 4.13 ยอดที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสภาวะของสารก่อเจลที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

(ก) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้ Phytagel เป็นสารก่อเจล

(ข) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้ Crystal agar gel G180 เป็นสารก่อเจล

(ค) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้ Agar powder, food grade เป็นสารก่อเจล

(ง) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้ Agar powder, bacteriological grade เป็นสารก่อเจล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง

จากการศึกษาการใช้แหล่งคาร์บอนที่พืชใช้ในการเจริญเติบโตซึ่งแตกต่างกัน 2 ชนิด คือน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส ในการชักนำยอดของพะยูงพันธุ์ไทยได้ผลดังตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.14 พบว่าการใช้น้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เกิดยอดได้ดีที่สุดโดยมีค่าความยาวยอดเฉลี่ย 18.82 มิลลิเมตร ลักษณะของยอดและใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่สมบูรณ์แข็งแรง มีสีเขียวเข้ม แผ่นใบแผ่ขยาย สังเกตเห็นเส้นใบได้อย่างชัดเจน (รูปที่ 4.15 ก) เมื่อพิจารณาในส่วนของค่าความยาวยอดเฉลี่ยพบว่าการใช้น้ำตาลกลูโคส และซูโครสให้ค่าความยาวยอดเฉลี่ยที่ไม่ได้แตกต่างกันมากนักเมื่อเทียบจากความเข้มข้นที่ดีที่สุดของน้ำตาลแต่ละชนิด แต่สิ่งที่แตกต่างกันคือลักษณะทางกายภาพของยอดที่เกิดขึ้น โดยจากการทดลองได้มีการศึกษาถึง 2 ปัจจัยด้วยกันคือ ความเข้มข้นและชนิดของน้ำตาล เมื่อพิจารณาในส่วนของความเข้มข้นของน้ำตาลทั้ง 2 ชนิด พบว่าการใช้กลูโคส และซูโครส ที่ความเข้มข้น 20 และ 30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่ตัวอย่างมีการเจริญได้ดีที่สุดทั้งค่าความยาวยอดเฉลี่ยและลักษณะทางกายภาพ ของน้ำตาลแต่ละชนิด ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจากความเข้มข้นของน้ำตาลที่ส่งผลต่อความสามารถในการออสโมซิสของน้ำและการแพร่ของสารอาหารเข้าออกจากตัวอย่างของพืชได้อย่างเหมาะสม และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำ (10 กรัมต่อลิตร) ตัวอย่างมีการเจริญเติบโตได้น้อย สังเกตได้จากยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่ค่อนข้างสั้น ใบมีขนาดเล็ก (รูปที่ 4.15 ค) คาดว่าอาจเกิดจากตัวอย่างได้รับสารอาหารที่น้อยเกินไป ในทางตรงกันข้ามที่ความเข้มข้นของน้ำตาลสูง (50 กรัมต่อลิตร) ตัวอย่างมีความยาวยอดที่น้อยเช่นเดียวกัน และมีอาการใบร่วงร่วมด้วย (รูปที่ 4.15 ง) แต่ในส่วนนี้คาดว่าเนื่องมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีมากจนเกินไปทำให้น้ำออสโมซิสจากตัวอย่างออกมาด้านนอก ส่งผลให้พืชมีการคายน้ำที่ลดลงทำให้ตัวอย่างมีการดูดซึมสารอาหารและแร่ธาตุเข้าสู่ตัวอย่างได้น้อยลง ตัวอย่างจึงเจริญได้อย่างไม่เต็มที่ (Santana. *et al*., 2011)

ส่วนชนิดของน้ำตาลเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด ให้ค่าความยาวยอดเฉลี่ยได้ดีที่สุด จะสังเกตเห็นลักษณะที่แตกต่างกันจากผลของน้ำตาลทั้ง 2 ชนิด โดยยอดที่เกิดจากการใช้น้ำตาลซูโครสเป็นยอดที่มีความสมบูรณ์แข็งแรงทั้งยอด และใบมีลักษณะสีเขียวเข้ม ในส่วนของใบมีลักษณะที่หนา เห็นเส้นใบชัดเจน ใบมีการแผ่ขยายออก และมีสีเขียวเข้ม ส่วนการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ค่าความยาวยอดเฉลี่ยในความเข้มข้นที่ดีที่สุดใกล้เคียงกับการใช้ซูโครสแต่ ลักษณะของยอดและใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีเขียวอ่อนนิ่มไม่แข็งแรง จะสามารถเห็นได้ชัดเจนในส่วนของใบถึงแม้ใบจะมีขนาดใหญ่แต่ใบที่ได้มีลักษณะอ่อนนิ่ม และมีสีเขียวอ่อนปนเหลือง ก้านใบมีขนาดเล็ก มองเห็นเส้นใบไม่ชัดเจน และเกิดการหลุดร่วงของใบได้ง่าย (รูปที่ 4.15 ข) ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากทั้งค่าความยาวยอดเฉลี่ย และลักษณะทางกายภาพของยอดที่เกิดขึ้นจากการใช้น้ำตาล 2 ชนิดที่แตกต่างกัน จึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโต และการชักนำยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทยเหมาะสมกว่าการใช้กลูโคส ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Romano. *et al*. (1995) ที่ได้ทดลองเพาะเลี้ยงและชักนำการเกิดยอดของต้น English oak (*Quercus robur*) และพบว่าการเลือกใช้แหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลซูโครส ที่ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ให้ผลการเกิดยอดและการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

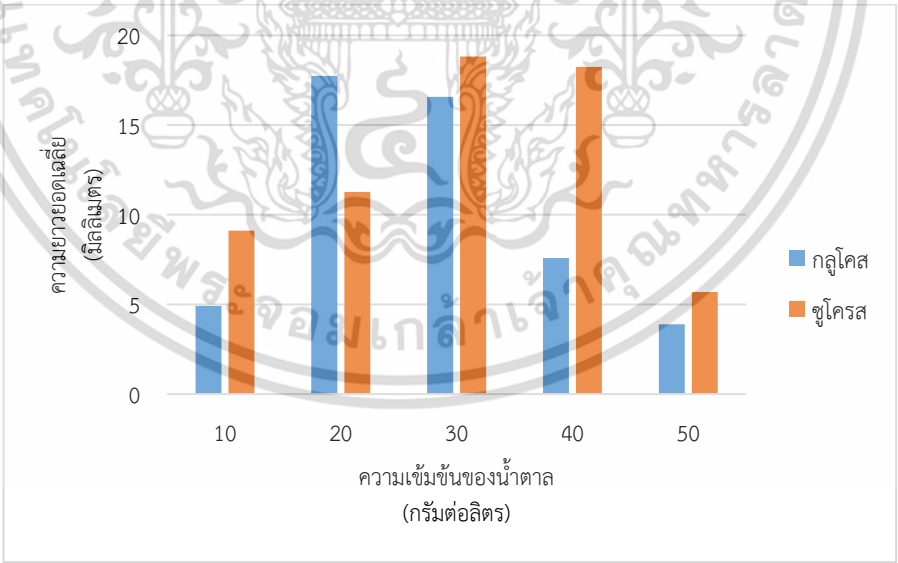
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 ผลกระทบของการใช้ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่แตกต่างกัน ต่อการชักนำยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทย บนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน

ชนิดของน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)		ร้อยละการเกิดยอด	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
กลูโคส	ซูโครส		
10		80	4.92^{g} ± 0.79
20		90	17.74^{b} ± 0.63
30		80	16.57^{c} ± 0.98
40		90	7.58^{f} ± 0.72
50		90	3.89^{h} ± 0.29
	10	90	9.11^{e} ± 0.59
	20	70	11.27^{d} ± 0.54
	30	80	18.82^{a} ± 0.75
	40	80	18.24^{ab} ± 1.46
	50	90	5.69^{g} ± 0.48

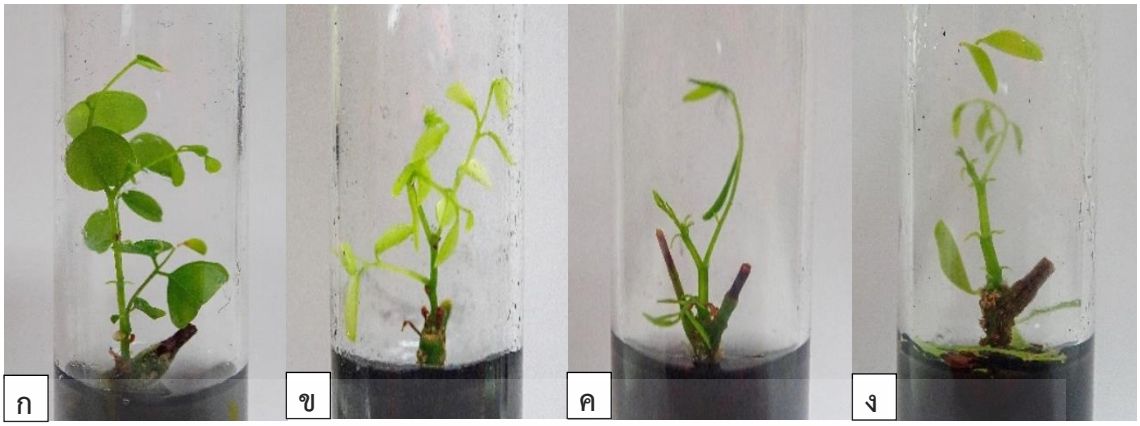
หมายเหตุ 1/ ค่าเฉลี่ย ± SE

2/ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test



รูปที่ 4.14 กราฟเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการใช้น้ำตาลเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 ยอดที่เกิดจากการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสภาวะของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

(ก) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร

(ข) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้น้ำตาลกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร

(ค) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้น้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร

(ง) ยอดที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้น้ำตาลซูโครส 50 กรัมต่อลิตร

4.9 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก

จากการทดลองการชักนำรากของต้นพะยูงพันธุ์ไทย โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน 2 ชนิด ด้วยกันคือ IAA และ IBA ดังตารางที่ 4.14 พบว่าการใช้ IAA สามารถชักนำรากได้ดีกว่าการใช้ IBA (รูปที่ 4.16) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่มีมาก่อนหน้าหลายๆงานวิจัยที่ว่าการใช้ IAA ในการชักนำรากดีกว่าการใช้ IBA และดีกว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซินชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะการนำมาใช้กับวิธีการชักนำรากภายในหลอดทดลองของพืชตระกูลถั่ว (Polanco and Ruiz, 1997 ; Monteuuis and Bon, 2000 ; Barik. *et al*., 2004 ; Barik. *et al*., 2005 ; Patil. *et al*., 2009) โดยพบว่าการใช้ IAA ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากเฉลี่ย 6.8 ราก และมีค่าความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด 54.76 มิลลิเมตร โดยมีร้อยละการเกิดรากสูงสุดเช่นเดียวกันที่ร้อยละ 60 แต่พบว่าการใช้ IAA ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นต้นไปไม่มีรากเกิดขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Borthakur. *et al*. (2012) ที่พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ IAA ที่สูงขึ้นมีโอกาสที่จะลดร้อยละของการเกิดราก และลดการยืดยาวของรากด้วยเช่นกัน ในขณะที่การใช้ IBA ในทุกความเข้มข้นของการทดลองมีการเกิดรากขึ้นแต่ร้อยละการเกิดราก จำนวนราก และความยาวรากโดยรวมที่เกิดขึ้นมีค่าน้อยกว่าการใช้ IAA โดยลักษณะของรากที่ได้จากการใช้ IBA เป็นรากที่มีลักษณะตรง สั้น และมีขนาดเล็ก ออกมาจากลำต้น (รูปที่ 4.17 ค) เมื่อนำไปปลูกมักไม่รอดชีวิตเนื่องจากรากที่ได้มีขนาดเล็ก กรอบหัก และเปื่อยได้ง่ายเมื่อลงในวัสดุปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในทางกลับกันรากที่ได้จากการชักนำโดยการใช้ IAA เป็นรากขนาดใหญ่แตกออกมาจากลำต้นและในแต่ละรากที่มีขนาดใหญ่ยังมีรากฝอยขนาดเล็กๆออกมาจำนวนมาก (รูปที่ 4.17 ข) และรากมีลักษณะที่ยืดหยุ่นกว่ารากที่ได้จาก IBA สามารถโค้งงอไปตามวัสดุปลูกได้ และพบว่าเมื่อนำไปเพาะเลี้ยง เนื่องจากรากมีขนาดใหญ่ หนา และแข็งแรงจึงไม่มีอาการเปื่อย หรือแตกหักทำให้ต้นอ่อนที่ได้มีการเจริญต่อไปได้ ด้วยเหตุนี้จึงสรุปได้ว่า การใช้ IAA ในการชักนำรากจากชิ้นส่วนยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทยดีกว่าการใช้ IBA โดยเฉพาะจากการทดลองการใช้ IAA ในการเร่งรากให้ผลการเกิดรากและการรอดชีวิตของต้นอ่อนหลังออกปลูกได้ดีที่สุด

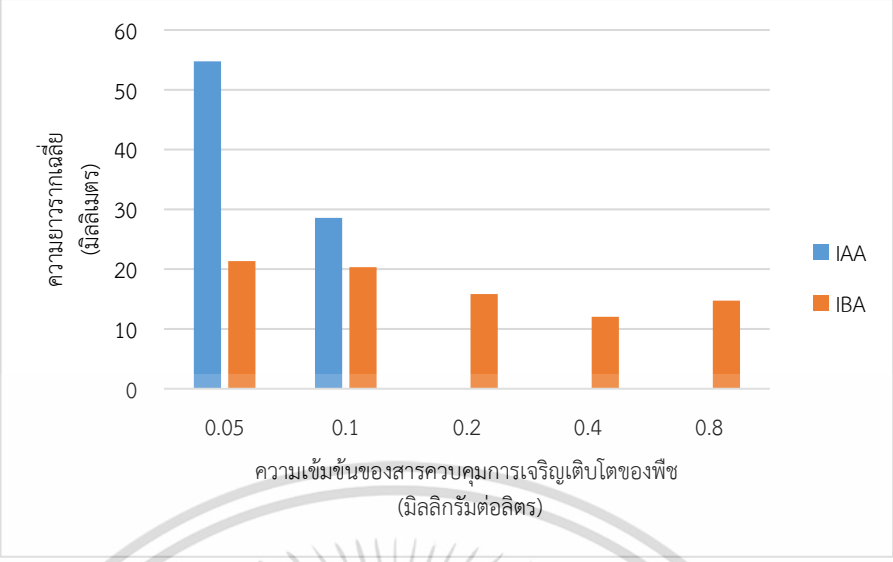
ตารางที่ 4.14 ผลการชักนำรากด้วยวิธี 2 ขั้นตอนจากชิ้นส่วนยอดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช IAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 0.4 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ร้อยละการเกิดราก	จำนวนรากเฉลี่ย	ความยาวรากเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
IAA	IBA			
0.00	0.00	0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
0.05		60	6.80[a] ± 0.58	54.76[a] ± 5.22
0.10		40	4.20[b] ± 1.15	28.57[b] ± 4.39
0.20		0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
0.40		0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
0.80		0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	0.05	40	6.20[a] ± 1.64	21.34[c] ± 2.06
	0.10	20	3.20[bc] ± 0.84	20.32[cd] ± 0.75
	0.20	20	2.80[c] ± 0.45	15.84[de] ± 4.60
	0.40	20	2.60[c] ± 0.55	12.03[e] ± 0.76
	0.80	20	2.00[c] ± 0.71	14.73[e] ± 0.50

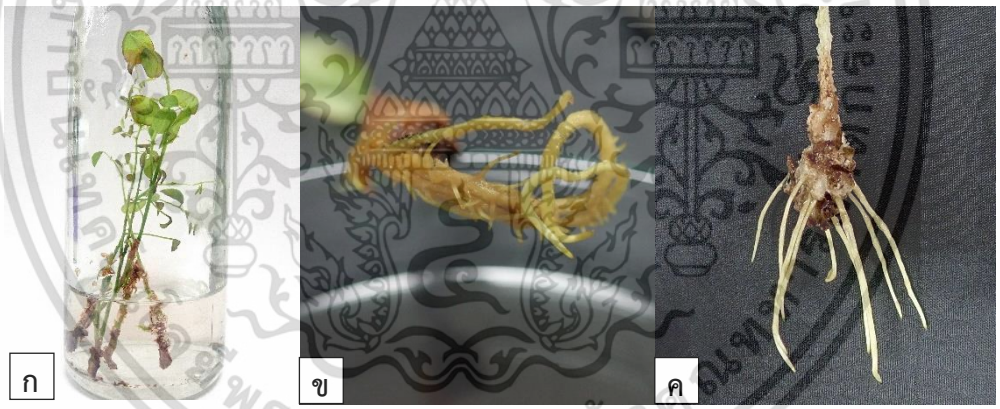
หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± SE

[2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 กราฟเปรียบเทียบความยาวรากเฉลี่ยที่ชักนำด้วยวิธี 2 ขั้นตอนจากชิ้นส่วนยอดพะยูงพันธุ์ไทย เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช IAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 0.4 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน



รูปที่ 4.17 การชักนำรากจากชิ้นส่วนยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงในสภาวะของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

(ก) ลักษณะของยอดที่แช่ในอาหารเหลว ½ WPM ที่ปราศจากน้ำตาล และเสริมด้วย IAA ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 5 วัน

(ข) รากที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร ½ WPM ที่เสริมด้วย IAA ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร

(ค) รากที่เกิดจากการชักนำโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร ½ WPM ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.10 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำตัวอย่างออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมภายนอก

หลังจากนำชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาชักนำจนได้ต้นที่มียอดและรากสมบูรณ์เรียบร้อยแล้ว ในขั้นตอนสุดท้ายเป็นขั้นตอนของการนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาปรับสภาพก่อนการออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมในธรรมชาติ เนื่องจากต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยปกติแล้วจะมีลักษณะที่ค่อนข้างอ่อนแอ และยังไม่สามารถเจริญในสภาพแวดล้อมในธรรมชาติได้ทันที เนื่องจากสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับสภาพแวดล้อมในธรรมชาตินั้นค่อนข้างมีความแตกต่างกัน เช่น สารอาหาร ความชื้น อากาศ เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ รวมถึงการเจอกับแสงที่ต่างกัน เป็นต้น ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะค่อยๆปรับสภาพต้นอ่อนที่ได้ให้แข็งแรงมากขึ้นและชินกับสภาพแวดล้อมในธรรมชาติมากขึ้น หลังจากล้างต้นอ่อนที่ได้ด้วยน้ำสะอาดเพื่อกำจัดเศษวุ้นที่ติดมากับตัวอย่างออก และนำมาเพาะเลี้ยงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกันดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.15 และรูปที่ 4.18 หลังจากนำต้นอ่อนที่ได้ลงในวัสดุปลูกทั้งสี่ชนิดที่แตกต่างกัน พบว่าการใช้พีทมอสเป็นวัสดุปลูกในการปรับสภาพต้นอ่อนมีร้อยละการรอดชีวิตสูงที่สุดที่ร้อยละ 100 โดยมีความยาวยอดเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น และจำนวนใบเฉลี่ย อยู่ที่ 23.76 มิลลิเมตร และ 4.67 ใบ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าต้นอ่อนที่ปรับสภาพโดยใช้พีทมอสมีลักษณะที่ค่อนข้างสมบูรณ์แข็งแรง ทั้งต้นและใบมีลักษณะสีเขียวเข้มและมีจำนวนใบที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.19 ง) ส่วนวัสดุปลูกที่ให้ผลรองลงมาคือ เปลือกมะพร้าวสับโดยให้ร้อยละการรอดชีวิตร้อยละ 80 แต่เมื่อพิจารณาในด้านของความยาวยอดเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น 14.70 มิลลิเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 3.25 ใบ (รูปที่ 4.19 ค) พบว่ามีค่าน้อยกว่าการใช้วัสดุปลูกชนิดอื่นๆ ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นผลมาจากเปลือกมะพร้าวสับมีขนาดชิ้นค่อนข้างใหญ่ จึงส่งผลให้เกิดการอุ้มน้ำและแร่ธาตุได้ไม่ดี ทำให้ต้นอ่อนได้รับน้ำ ความชื้น และแร่ธาตุได้ค่อนข้างน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้วัสดุปลูกชนิดอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามความโปร่งของวัสดุปลูก ช่วยลดการอุ้มน้ำที่มากเกินไปซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการรากเน่า และรากติดเชื้อของต้นอ่อนที่เพิ่งออกจากหลอดทดลองซึ่งมีลักษณะที่ค่อนข้างอ่อนแอ จึงทำให้ร้อยละการรอดชีวิตสูงกว่าการใช้ ดินและดินผสมกับเพอร์ไลท์ (Ismail. *et al.,* 2016) ในส่วนของวัสดุปลูกที่ให้ผลรองลงมาจากการใช้เปลือกมะพร้าวสับคือ ดินผสมเพอร์ไลท์ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยให้ร้อยละการรอดชีวิตอยู่ที่ร้อยละ 75 (รูปที่ 4.19 ข) และวัสดุปลูกที่ให้ผลแย่ที่สุดในการใช้ปรับสภาพคือ การใช้ดินโดยพบว่าให้ร้อยละการรอดชีวิตของตัวอย่างเพียงร้อยละ 50 (รูปที่ 4.19 ก) โดยคาดว่าในส่วนของดินและ ดินผสมเพอร์ไลท์ ให้ร้อยละการรอดชีวิตของต้นอ่อนที่ค่อนข้างน้อยเนื่องจากการใช้ดินและวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดิน วัสดุปลูกค่อนข้างหนาแน่นมีการสะสมน้ำและความชื้นไว้ในดินค่อนข้างมากทำให้ต้นอ่อน ซึ่งเพิ่งออกจากหลอดทดลองนั้นยังคงมีส่วนของรากและลำต้นที่ค่อนข้างอ่อนแอเมื่อสัมผัสกับดินที่ชื้นก็จะเกิดการเน่าเปื่อย ส่งผลให้โอกาสการรอดชีวิตของต้นอ่อนเมื่อออกปลูกน้อยลง จากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่าพีทมอสเป็นวัสดุปลูกสำหรับการปรับสภาพก่อนการออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมในธรรมชาติของต้นพะยูงพันธุ์ไทยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ดีที่สุด เนื่องจากให้ร้อยละของการรอดชีวิต การเจริญเติบโตของลำต้นและใบที่ดีที่สุด เมื่อเทียบกับวัสดุปลูกชนิดอื่นๆที่ใช้ในการทดลอง

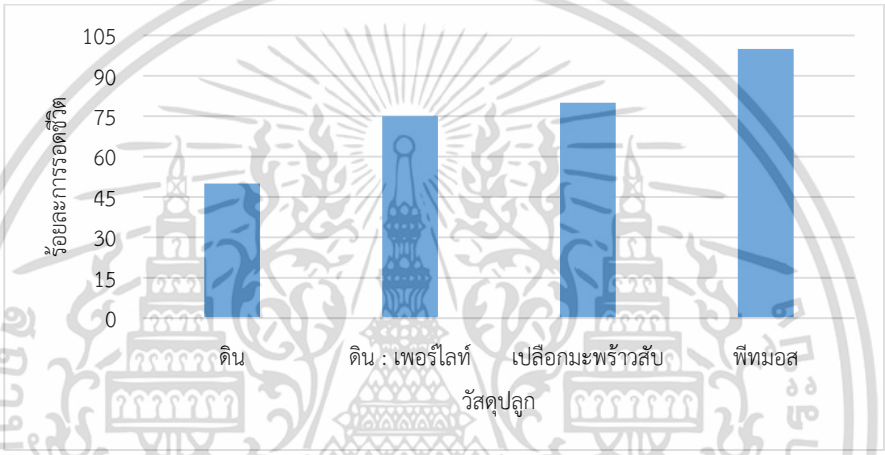
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 ผลของการใช้วัสดุปลูกที่แตกต่างกันต่อการเจริญในสภาวะแวดล้อมภายนอกหลอดทดลองของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน

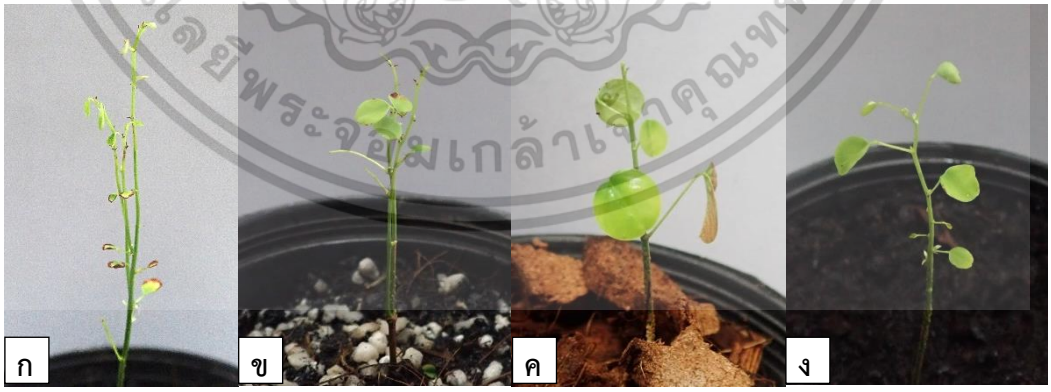
วัสดุปลูก	ร้อยละการรอดชีวิต	ความยาวยอดที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	จำนวนใบเฉลี่ย
ดิน	50	16.35^{bc} ± 1.97	4.33^{ab} ± 0.58
ดิน(1) : เพอร์ไลท์(1)	75	18.26^{b} ± 1.12	4.13^{ab} ± 0.83
เปลือกมะพร้าวสับ	80	14.70^{c} ± 0.74	3.25^{b} ± 0.50
พีทมอส	100	23.76^{a} ± 1.49	4.67^{a} ± 0.58

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± SE

[2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test



รูปที่ 4.18 กราฟเปรียบเทียบร้อยละการรอดชีวิตของต้นอ่อนเมื่อใช้วัสดุปลูกที่แตกต่างกันต่อการเจริญในสภาวะแวดล้อมภายนอกหลอดทดลองของต้นพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน



รูปที่ 4.19 ต้นอ่อนพะยูงพันธุ์ไทยที่ได้จากกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากการเพาะเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในวัสดุออกปลูกที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

(ก) ลักษณะของต้นอ่อนพะยูงพันธุ์ไทย ที่ปรับสภาพโดยใช้ ดิน

(ข) ลักษณะของต้นอ่อนพะยูงพันธุ์ไทย ที่ปรับสภาพโดยใช้ ดิน (1) : เพอร์ไลท์ (1)

(ค) ลักษณะของต้นอ่อนพะยูงพันธุ์ไทย ที่ปรับสภาพโดยใช้ เปลือกมะพร้าวสับ

(ง) ลักษณะของต้นอ่อนพะยูงพันธุ์ไทย ที่ปรับสภาพโดยใช้ พีทมอส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของต้นพะยูงพันธุ์ไทย ในส่วนของเมล็ดนั้นวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองคือ การนำตัวอย่างเมล็ดของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง ตัวอย่างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้วิธีนี้มีร้อยละการรอดชีวิตสูงถึงร้อยละ 100 โดยที่ไม่มีการปนเปื้อนจากทั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ส่วนการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบนั้นพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบโดยการนำตัวอย่างใบของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างด้วยน้ำเปล่าหลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มี nystatin ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง นั้นให้ผลการฟอกฆ่าเชื้อได้ดีที่สุดคือ มีการรอดชีวิตของตัวอย่างสูงถึงร้อยละ 70 ตัวอย่างใบที่ได้หลังจากผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วนั้นมีลักษณะที่เขียวสด และนอกจากนั้นพบว่าเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสแล้วนั้นตัวอย่างที่ได้ผ่านการฟอกโดยใช้วิธีที่3 นั้นมีโอกาสเกิดแคลลัสได้ดีกว่าตัวอย่างที่ผ่านการฟอกมาจากวิธีอื่นๆ และสุดท้ายในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อจากต้นในธรรมชาติของพะยูงพันธุ์ไทยพบว่าการใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อโดยนำตัวอย่างข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาล้างผ่านน้ำเปล่าเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของสารป้องกันกำจัดโรคพืช (carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนข้อมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำชิ้นส่วนข้อลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนข้อมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง แล้วจึงนำชิ้นส่วนข้อลงในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติม PPM ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และสารลดแรงตึงผิว Tween-20 3 หยด เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วย้ายลงน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อล้างตัวอย่าง 4 ครั้ง การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อด้วยวิธีนี้ทำให้ตัวอย่างไม่มีการปนเปื้อน และหลังการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อทั้งหมดรอดชีวิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการงอกและการเจริญของเมล็ดพบว่าจากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชด้วยกัน 4 ชนิด ได้แก่ TDZ BAP Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการเพาะเลี้ยงเมล็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Kn หรือ GA_3 นั้นต้นอ่อนที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่สมบูรณ์ มีองค์ประกอบของยอดและรากครบและสามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยในส่วนของต้นอ่อนที่เจริญมาจากอาหารเพาะเลี้ยงที่เสริมด้วย Kn นั้นพบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตที่สมบูรณ์ที่สุดเมื่อเทียบกับต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นๆ โดยต้นอ่อนที่ได้มีทั้งยอดและรากที่เจริญได้อย่างสมบูรณ์ โดยมีความยาวของยอดเฉลี่ยอยู่ที่ 57.69 มิลลิเมตร ในความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึงแม้ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงที่เสริมด้วย Kn จะมีความสมบูรณ์สูงสุดก็จริง แต่ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงที่เสริมด้วย GA_3 นั้นมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อเทียบกับต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นๆ โดยความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุดอยู่ที่ 71.65 มิลลิเมตร ในความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึงแม้ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงที่เสริมด้วย GA_3 จะมีลำต้นที่ได้ค่อนข้างมีลักษณะที่ผอมบางกว่าต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใน Kn แต่ก็ยังถือว่าเป็นต้นที่มีลักษณะที่สมบูรณ์คือมีทั้งยอด ราก และใบที่สมบูรณ์และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปก็ยังคงสามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี ในส่วนของการศึกษาชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการชักนำการเกิดยอดจากข้อของต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดในการทดลองส่วนที่ 2 ใช้ต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่ต้นอ่อนมีความยาวสูงสุด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิดให้ผลไปในทางเดียวกับผลการทดลองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ด คือความยาวยอดที่สูงสุดเกิดในอาหารสูตรชักนำยอดสูตรที่เสริมด้วย GA_3 ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 27.42 มิลลิเมตร และรองลงมาคือยอดที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดที่เสริมด้วย Kn ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ย 24.37 มิลลิเมตร และในส่วนของ BAP และ TDZ นั้นก็ให้ผลเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงเมล็ดคือ พบว่าการใช้ TDZ ส่งผลให้ยอดอ่อน และใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีเขียวเข้ม ใบเจริญดี แต่ยอดที่ได้มีลักษณะสั้นที่สุดเมื่อเทียบกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นๆ โดยพบว่าความยาวยอดเฉลี่ยที่สูงที่สุดของการใช้ TDZ ในการชักนำยอดเกิดที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูงเพียงแค่ 19.52 มิลลิเมตร ส่วนการใช้ BAP นั้นยอดที่ได้มีลักษณะที่ค่อนข้างสมบูรณ์คล้ายกับยอดที่ได้จาก Kn แต่ยอดที่ได้จากการใช้ BAP มีลักษณะของยอดและใบที่เกิดขึ้นมีสีเขียวอ่อน และอ่อนแอกว่ายอดที่ได้จากการใช้ Kn โดยพบว่ายอดที่มีความยาวที่สุดของ BAP เกิดขึ้นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอดเฉลี่ย 22.42 มิลลิเมตร ดังนั้นจากการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ดีที่สุดในการชักนำยอดจากข้อของต้นอ่อนที่เกิดจากเมล็ดพะยูงพันธุ์ไทยคือ การใช้ Kn ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึงแม้จะให้ความยาวยอดน้อยกว่าการใช้ GA_3 ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็ตามแต่ยอดอ่อนที่ได้จากการชักนำโดยการใช้ Kn มีลักษณะสมบูรณ์กว่าคือ ยอดและใบที่ได้มีลักษณะที่เขียว ใบมีจำนวนมากขึ้น แผ่นใบมีการแผ่ขยายกว้างออก และสามารถสังเกตเห็นเส้นใบที่ชัดเจน เหมาะแก่การอยู่รอด และนำไปใช้ในการทดลองในขั้นต่อไปได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาผลกระทบของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่งผลต่อการเกิดและการพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบพบว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันคือ IAA IBA NAA Pi และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำแคลลัสที่เสริมด้วย IAA IBA และ NAA แคลลัสเกิดขึ้นได้ไม่ดีเนื่องจากแคลลัสที่เกิดขึ้นนั้นมีขนาดเล็ก มีร้อยละการเกิดแคลลัส และน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยที่น้อย การชักนำแคลลัสโดยการใช้ IAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสเท่ากันคือร้อยละ 30 และมีน้ำหนักแคลลัส 0.3528 และ 0.3058 กรัม ตามลำดับ ในส่วนของ NAA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละของการเกิดแคลลัสที่ต่ำที่สุดอยู่ที่ร้อยละ 20 และมีน้ำหนัก 0.4164 กรัม นอกจากนี้เมื่อสังเกตลักษณะของแคลลัสจากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 3 ชนิดที่ได้กล่าวไปข้างต้น แคลลัสที่ได้มีลักษณะที่อ่อนแอสังเกตได้จากหลังการตัดแบ่งแคลลัสเพื่อเพิ่มปริมาณหรือเปลี่ยนอาหาร ตัวอย่างมักไม่รอดชีวิตและมีลักษณะของแคลลัสที่มีการฉ่ำน้ำร่วมด้วย ในส่วนของการชักนำแคลลัสจากเพาะเลี้ยงใบในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย Pi นั้น พบว่ามีร้อยละการเกิดแคลลัสสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับร้อยละการเกิดแคลลัสที่เกิดขึ้นจากอาหารสูตรอื่นๆ โดยพบว่าอาหารชักนำแคลลัสสูตรที่เสริมด้วย Pi ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นมีการเกิดแคลลัสสูงสุดถึงร้อยละ 80 และมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 0.6035 กรัม และแคลลัสมีขนาดใหญ่ แต่พบว่าแคลลัสที่เกิดขึ้นนั้นมีลักษณะที่ใสและโปร่งร่วน หรือบางตัวอย่างแคลลัสมีลักษณะลักษนะที่เป็นฝอยเบาบางไม่จับตัวกันเป็นก้อนแข็ง ในส่วนของสีแคลลัสมีสีขาวล้วนไม่มีสีเขียวปน สุดท้ายในส่วนของการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด 2,4-D ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตรนี้ให้ผลดีที่สุดในด้านลักษนะของแคลลัสที่เกิดขึ้นและร้อยละของการเกิดแคลลัสก็อยู่ในระดับที่สูงถึงร้อยละ 70 และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย 0.8021 กรัม โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่และแน่น มีการเจริญที่ดีสามารถสังเกตได้จากเมื่อนำแคลลัสไปขยายเพื่อเพิ่มปริมาณ หรือมีการเปลี่ยนอาหารแคลลัสสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและมีการรอดชีวิตที่สูง นอกจากนี้พบว่าแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีขาวอมเขียว และพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปเป็นระยะเวลา 2 เดือนตัวอย่างสามารถเปลี่ยนเป็นสีเขียวทั้งก้อน และเป็นแคลลัสมีลักษณะคอมแพคแคลลัส แต่เมื่อนำแคลลัสที่มีลักษณะเป็นคอมแพคแคลลัสไปทดลองต่อในการทดลองส่วนที่ 2 คือชักนำแคลลัสไปเป็นต้น โดยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช BAP Kn TDZ และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 1 3 5 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการทดลองในส่วนที่ 2 นี้ตัวอย่างไม่มีการรอดชีวิตโดยตัวอย่างจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้มและตายไปในที่สุด การทดลองในส่วนนี้จึงพบว่าไม่สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ด้วยวิธีการนี้ได้

การศึกษาปริมาณของสาร Plant Preservative Mixture (PPM) ที่เหมาะสมพบว่าหลังการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของพะยูงพันธุ์ไทยในอาหารสูตรชักนำยอดเป็นระยะเวลา 1 เดือน ตัวอย่างมีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียไหลเป็นทางสีขาวออกมาจากด้านในของชิ้นตัวอย่างสู่อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจนทำให้ชิ้นตัวอย่างนั้นตายในที่สุด จึงได้เพิ่มการทดลองในส่วนนี้ขึ้นมา โดยการทดลองเติมสาร PPM ที่ความเข้มข้นต่างกันที่ 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ลงไปในอาหารเพื่อช่วยลดและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พบว่าในการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเติม PPM ตัวอย่างมีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียถึงร้อยละ 20 หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน และพบว่าเมื่อเติม PPM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลงไปในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช 1 มิลลิลิตรต่อลิตรชิ้นส่วนข้อยังคงมีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียอยู่ที่ร้อยละ 20 เช่นเดียวกับการไม่เติม PPM ลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง แต่พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PPM เป็น 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ร้อยละการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียจากชิ้นส่วนข้อลดลงเหลือเพียงร้อยละ 10 ของตัวอย่างทั้งหมด โดยจากการทดลองพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดของสาร PPM คือที่ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะ 1 เดือน และหลังจากนั้นชิ้นส่วนข้อไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียโดยมีร้อยละการรอดชีวิตสูงที่สุดอยู่ที่ร้อยละ 90 และยังพบว่าการใช้ PPM ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตรให้ร้อยละของการเกิดตายอดเพื่อที่จะพัฒนาไปเป็นยอดได้สูงที่สุดถึงร้อยละ 40 และนอกจากนี้ในการทดลองยังพบว่าเมื่อใช้สาร PPM ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 3 มิลลิลิตรต่อลิตร เติมลงไปในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงคือที่ 4 มิลลิลิตรต่อลิตร และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ชิ้นส่วนข้อมีร้อยละการเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลไหม้สูงถึงร้อยละ 30 และ 40 ตามลำดับ และมีร้อยละการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อลดลงด้วย ในทำนองเดียวกันกับร้อยละการเกิดตายอดที่จะพัฒนาไปเป็นยอดมีการลดลงด้วยอยู่ที่ 30 และ 20 ตามลำดับ หากไม่มีการเติมสาร PPM ลงไปในอาหารร้อยละการเกิดตายอดที่จะพัฒนา ไปเป็นยอดมีเพียงแค่ร้อยละ 10 เท่านั้น ดังนั้นจากการทดลองจึงสรุปได้ว่าความเข้มข้นของ PPM ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร เติมลงไปในอาหารที่ใช้ในการชักนำยอดมีการช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในชิ้นส่วนข้อหลังจากการเพาะเลี้ยงไปแล้วเป็นเวลา 1 เดือน นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มร้อยละการรอดชีวิตและการเกิดตายอดซึ่งจะพัฒนาต่อไปเป็นยอดจากชิ้นส่วนข้อในอนาคตอีกด้วย

การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากข้อพะยูงพันธุ์ไทย หลังจากนำตัวอย่างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโทไคนิน (Kn และ TDZ) และจิบเบอเรลลิน (GA_3) พบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหาสูตรที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ใช้ความเข้มข้นในช่วงกว้าง ห่างกัน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (1 3 5 7 และ9 มิลลิกรัมต่อลิตร) การใช้ Kn ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลของการเกิดยอดโดยรวมได้ดีที่สุด คือยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะสมบูรณ์ แข็งแรง ลำต้น และใบมีสีเขียว ใบมีลักษณะที่แผ่ขยายเป็นแผ่นใบที่กว้าง และเกิดใบขึ้นจำนวนมาก ในส่วนของการใช้ GA_3 พบว่าที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 16.79 มิลลิเมตร ถึงแม้การใช้ GA_3 จะให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุดก็ตาม แต่ลักษณะของยอดที่เกิดขึ้นนั้นมีลักษณะที่ไม่สมบูรณ์ โดยยอดที่ได้มีลักษณะผอม บาง ไม่เกิดการพัฒนาของใบขึ้น เกิดขึ้นเพียงลักษณะของใบเล็กๆที่ไม่สมบูรณ์ และยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีเขียวอ่อนอมเหลือง นอกจากนี้ยังพบว่าในยอดที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่มีลักษณะของการเกิดอาการฉ่ำน้ำ (Vitrification) ร่วมด้วย ในส่วนของการใช้ TDZ พบว่าให้ค่าของความยาวยอดต่ำที่สุดและการเกิดยอดมีลักษณะสั้น มีการพัฒนาของใบเกิดขึ้นเล็กน้อยแต่มีลักษณะสีเขียว และความสมบูรณ์ของยอดที่เกิดขึ้นยังคงด้อยกว่ายอดที่ได้จากการใช้ Kn และในส่วนของการทดลองกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในช่วงห่างจากความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากการทดลองในส่วนแรกที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งในความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นและลดลง พบว่าการใช้ Kn และ GA_3 ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับยังคงเป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุด แต่ในส่วนของ TDZ พบว่าการใช้ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมมากกว่าการใช้ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ได้จากการทดลองในส่วนแรก อย่างไรก็ตามแม้ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 3 ชนิด เป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุดและนำสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นที่ดีที่สุดมาใช้ร่วมกันแล้ว แต่การพัฒนาและการเจริญเติบโตของยอดที่เกิดขึ้นก็ยังคงไม่มีการทดลองไหนที่ดีไปกว่าการการชักนำยอดโดยใช้ Kn ที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

การศึกษาชนิดและปริมาณของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง ในการทดลองได้ใช้อาหารที่ชนิดและความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (1/4MS 1/2MS 1MS 2MS 1/4WPM 1/2WPM 1WPM และ 2WPM) ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ดีที่สุดจากการทดลองในส่วนก่อนหน้าคือ Kn ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการชักนำยอดพะยูงพันธุ์ไทยในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ให้ผลการชักนำยอดดีกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ในทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง โดยพบว่าในการเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นที่ใช้ปกติ(1/2 WPM) ให้ผลของการชักนำยอดที่ดีที่สุด โดยยอดที่เกิดขึ้นเป็นยอดที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรงกว่ายอดที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ใช้ WPM ที่ความเข้มข้นเต็มสูตร ยอดและใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีเขียวเข้ม แผ่นใบแผ่ขยาย และเกิดใบขึ้นในจำนวนมาก และยังพบว่าความยาวยอดที่เกิดขึ้นมีความยาวยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 22.36 มิลลิเมตร และมีร้อยละการเกิดยอดจากจำนวนตัวอย่างทั้งหมดสูงที่สุดอยู่ที่ร้อยละ 95 ในส่วนของการใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS พบว่ายอดที่เกิดขึ้นนอกจากจะให้ค่าความยาวยอดเฉลี่ยที่น้อยแล้วยังพบว่ายอดที่เกิดขึ้นนั้นมีอาการฉ่ำน้ำเกิดขึ้นร่วมด้วย รวมถึงใบที่เกิดขึ้นมีการร่วงจำนวนมากหลังจากการเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 1 เดือน

การศึกษาชนิดของสารก่อเจลที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง การทดลองส่วนนี้ได้มีการเปรียบเทียบชนิดของสารก่อเจลที่ส่งผลต่อการชักนำและการเจริญเติบโตของยอดพะยูงพันธุ์ไทย โดยได้ใช้สารก่อเจลที่แตกต่างกัน พบว่าสารก่อเจลที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการชักนำและการเจริญเติบโตของยอดคือ Phytagel โดยยอดที่ได้เป็นยอดที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง มีใบที่แผ่ขยายและมีสีเขียวเข้ม นอกจากนี้อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีลักษณะที่ใสสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนพืชที่อยู่ใต้อาหาร หรือการปนเปื้อนที่ออกมาจากชิ้นส่วนพืชได้อย่างชัดเจน และการใช้ Phytagel ยังทำให้ได้ร้อยละของการเกิดยอดสูงสุดถึงร้อยละ 90 เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารก่อเจลชนิดอื่นๆที่ใช้ในการทดลองนี้ และมีความยาวยอดเฉลี่ยอยู่ที่ 19.01 มิลลิเมตร ในขณะที่การใช้ Crystal gel agar G180 และสารก่อเจลคุณภาพระดับใช้ประกอบอาหาร ให้ร้อยละการเกิดยอดเท่ากันอยู่ที่ร้อยละ 70 และให้ความยาวยอดเฉลี่ย 16.54 มิลลิเมตร และ 16.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยพบว่าสารก่อเจลทั้งสองชนิดนี้ให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกันทั้งค่าความยาวยอดเฉลี่ยและลักษณะของยอดที่เกิดขึ้นคือ ยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่ค่อนข้างอ่อนแอกว่ายอดที่เพาะเลี้ยงในสารก่อเจลชนิด Phytagel โดยยอดที่ได้มีลักษณะสีเขียวที่อ่อนกว่า และใบมีการแผ่ขยายของแผ่นใบแค่บางส่วน และมีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าโดยพิจารณาจากค่าความยาวยอดเฉลี่ยที่ได้แสดงไว้ข้างต้น แต่อย่างไรก็ตามตัวอย่างก็สามารถเจริญเติบโตได้เป็นปกติ และสามารถนำไปชักนำรากในขั้นตอนต่อไปได้เช่นกัน เพียงแต่ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงก่อนที่จะนำไปชักนำรากต้องใช้ระยะเวลาที่มากขึ้นกว่าการเพาะเลี้ยงโดยใช้ Phytagel ประมาณ 2 ถึง 3 เดือน ส่วนสารก่อเจลที่มีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงต่ำที่สุดคือ สารก่อเจลคุณภาพระดับใช้เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย โดยให้ร้อยละของการเกิดยอดอยู่ที่ร้อยละ 50 และให้ความยาวยอดเฉลี่ยเพียง 8.52 มิลลิเมตร โดยลักษณะของยอดที่ได้มีลักษณะสีเขียว ใบมีการแผ่ขยายบ้างเล็กน้อย แต่ยอดที่ได้ไม่มีการยืดยาวออก และเมื่อเลี้ยงต่อไปเป็นระยะเวลา 1 เดือน ปลายยอดเกิดเป็นสีน้ำตาลไหม้ และตัวอย่างจะตายไปในที่สุด ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้ทั้งในด้านของความยาวยอดที่เกิดขึ้น และลักษณะของยอดที่เกิดขึ้นสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อเจลชนิด Phytagel มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ทั้งในเรื่องลักษณะและความยาวของยอด แต่ Phytagel เป็นสารก่อเจลที่มีราคาสูง การนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมจึงอาจไม่คุ้มค่า แต่จากการทดลองก็พบว่าการใช้ Crystal gel agar G180 และสารก่อเจลคุณภาพระดับใช้ประกอบอาหาร ก็มีความสามารถในการชักนำและช่วยในการพัฒนาของยอดพะยูงพันธุ์ไทยได้ดีใกล้เคียงกับการใช้สารก่อเจลชนิด Phytagel ดังนั้นในการประยุกต์ใช้ที่ต้องการลดต้นทุนในการผลิต จึงสามารถพิจารณาใช้สารก่อเจลชนิด Crystal gel agar G180 และสารก่อเจลคุณภาพระดับใช้ประกอบอาหารแทนได้

การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นพะยูง จากการศึกษาการใช้แหล่งคาร์บอนที่พืชใช้ในการเจริญเติบโตซึ่งแตกต่างกัน 2 ชนิด คือน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครสในการชักนำยอดของพะยูงพันธุ์ไทย พบว่าการใช้น้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เกิดยอดได้ดีที่สุดโดยมีค่าความยาวยอดเฉลี่ย 18.82 มิลลิเมตร ลักษณะของยอดและใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่สมบูรณ์แข็งแรง มีสีเขียวเข้ม แผ่นใบแผ่ขยาย สังเกตเห็นเส้นใบได้อย่างชัดเจน เมื่อพิจารณาในส่วนของค่าความยาวยอดเฉลี่ยพบว่าการใช้น้ำตาลกลูโคส และซูโครสค่าความยาวยอดเฉลี่ยที่ได้ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่สิ่งที่แตกต่างกันคือลักษณะทางกายภาพของยอดที่เกิดขึ้น โดยจากการทดลองได้มีการศึกษาถึง 2 ปัจจัยด้วยกันคือ ความเข้มข้นและชนิดของน้ำตาล เมื่อพิจารณาในส่วนของความเข้มข้นของน้ำตาลทั้ง 2 ชนิด พบว่าการใช้กลูโคส และซูโครส ที่ความเข้มข้น 20 และ 30 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่ตัวอย่างมีการเจริญได้ดีที่สุดทั้งค่าความยาวยอดเฉลี่ยและลักษณะทางกายภาพ ของน้ำตาลแต่ละชนิด ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจากความเข้มข้นของน้ำตาลที่ส่งผลต่อความสามารถในการออสโมซิสของน้ำและการแพร่ของสารอาหารเข้าออกจากตัวอย่างของพืชได้อย่างเหมาะสม และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำ ตัวอย่างมีการเจริญเติบโตได้น้อย สังเกตได้จากยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่ค่อนข้างสั้น ใบมีขนาดเล็ก คาดว่าอาจเกิดจากตัวอย่างได้รับสารอาหารที่น้อยเกินไป ในทางตรงกันข้ามที่ความเข้มข้นของน้ำตาลสูง ตัวอย่างมีความยาวยอดที่น้อยเช่นเดียวกัน แต่ในส่วนนี้คาดว่าเนื่องมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีมากจนเกินไปทำให้น้ำออสโมซิสจากตัวอย่างออกมาข้างนอกตัวอย่างทำให้สารอาหารเข้าไปยังตัวอย่างได้น้อย ตัวอย่างจึงเจริญได้อย่างไม่เต็มที่ ในส่วนชนิดของน้ำตาล ยอดที่เกิดจากการใช้น้ำตาลซูโครสเป็นยอดที่มีความสมบูรณ์แข็งแรงทั้งยอดและใบมีลักษณะสีเขียวเข้ม ในส่วนของใบมีลักษณะที่หนา เห็นเส้นใบชัดเจน ใบมีการแผ่ขยายออก และมีสีเขียวเข้ม ส่วนการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ค่าความยาวยอดเฉลี่ยที่ได้ใกล้เคียงกับการใช้ซูโครสแต่ ลักษณะของยอดและใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีเขียวอ่อนนิ่มไม่แข็งแรง จะสามารถเห็นได้ชัดเจนในส่วนของใบถึงแม้ใบจะมีขนาดใหญ่แต่ใบที่ได้มีลักษณะอ่อนนิ่ม และมีสีเขียวอ่อนปนเหลือง ก้านใบมีขนาดเล็ก มองเห็นเส้นใบไม่ชัดเจน และเกิดการหลุดร่วงของใบได้ง่าย ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากทั้งค่าความยาวยอดเฉลี่ย และลักษณะทางกายภาพของยอดที่เกิดขึ้นจากการใช้น้ำตาล 2 ชนิดที่แตกต่างกัน จึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโต และการชักนำยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทยเหมาะสมกว่าการใช้กลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก จากการทดลองการชักนำรากของต้นพะยูงพันธุ์ไทย โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน 2 ชนิด ด้วยกันคือ IAA และ IBA พบว่าการใช้ IAA สามารถชักนำรากได้ดีกว่าการใช้ IBA โดยการใช้ IAA ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากเฉลี่ย 6.8 ราก และมีค่าความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด 54.76 มิลลิเมตร โดยมีร้อยละการเกิดรากสูงสุดเช่นเดียวกันที่ร้อยละ 60 แต่พบว่าการใช้ IAA ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นต้นไปไม่มีรากเกิดขึ้น ในขณะที่การใช้ IBA ในทุกความเข้มข้นของการทดลองมีการเกิดรากขึ้นแต่ร้อยละการเกิดราก จำนวนราก และความยาวรากโดยรวมที่เกิดขึ้นมีค่าน้อยกว่าการใช้ IAA โดยลักษณะของรากที่ได้จากการใช้ IBA เป็นรากที่มีลักษณะตรง สั้น และมีขนาดเล็ก ออกมาจากลำต้น เมื่อนำไปปลูกมักไม่รอดชีวิตเนื่องจากรากที่ได้มีขนาดเล็ก กรอบหัก และเปื่อยได้ง่ายเมื่อลงในวัสดุปลูก แต่ในทางกลับกันรากที่ได้จากการชักนำโดยการใช้ IAA เป็นรากขนาดใหญ่แตกออกมาจากลำต้น และในแต่ละรากที่มีขนาดใหญ่ยังมีรากฝอยขนาดเล็กๆออกมาจำนวนมาก และรากมีลักษณะที่อ่อนนิ่มกว่ารากที่ได้จาก IBA สามารถโค้งงอไปตามวัสดุปลูกได้ และพบว่าเมื่อนำไปเพาะเลี้ยง เนื่องจากรากมีขนาดใหญ่ หนา และแข็งแรง จึงไม่มีอาการเปื่อย หรือแตกหักทำให้ต้นอ่อนที่ได้มีการเจริญต่อไปได้ ด้วยเหตุนี้จึงสรุปได้ว่า การใช้ IAA ในการชักนำรากจากชิ้นส่วนยอดของต้นพะยูงพันธุ์ไทยดีกว่าการใช้ IBA โดยเฉพาะจากการทดลองการใช้ IAA ในการเร่งรากให้ผลการเกิดรากและการรอดชีวิตของต้นอ่อนหลังออกปลูกได้ดีที่สุด

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำตัวอย่างออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมภายนอก หลังจากนำตัวอย่างข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมาชักนำจนได้ต้นที่มียอดและรากสมบูรณ์เรียบร้อยแล้ว ในขั้นตอนสุดท้ายเป็นขั้นตอนของการนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาปรับสภาพก่อนการออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมในธรรมชาติ เนื่องจากต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยปกติแล้วจะมีลักษณะที่ค่อนข้างอ่อนแอ และยังไม่สามารถเจริญในสภาพแวดล้อมในธรรมชาติได้ทันที เนื่องจากสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับสภาพแวดล้อมในธรรมชาตินั้นค่อนข้างมีความแตกต่างกัน เช่น สารอาหาร ความชื้น อากาศ เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ รวมถึงการเจอกับแสงที่ต่างกัน เป็นต้น ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะค่อยๆปรับสภาพต้นอ่อนที่ได้ให้แข็งแรงมากขึ้นและชินกับสภาพแวดล้อมในธรรมชาติมากขึ้น หลังจากล้างต้นอ่อนที่ได้ด้วยน้ำสะอาดเพื่อกำจัดเศษวุ้นที่ติดมากับตัวอย่างออกและนำมาเพาะเลี้ยงในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน โดยจากการทดลองได้ใช้วัสดุปลูกเพื่อปรับสภาพต้นอ่อนที่ได้ดังนี้คือ ดิน ดินผสมเพอร์ไลท์ในอัตราส่วน 1 : 1 เปลือกมะพร้าวสับ และพีทมอส หลังจากนำต้นอ่อนที่ได้ลงในวัสดุปลูกทั้งสี่ชนิดที่แตกต่างกัน พบว่าการใช้พีทมอสเป็นวัสดุปลูกในการปรับสภาพตัวอย่างมีร้อยละการรอดชีวิตสูงที่สุดที่ร้อยละ 100 โดยมีความยาวยอดเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น และจำนวนใบเฉลี่ย อยู่ที่ 23.76 มิลลิเมตร และ 4.67 ใบ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าต้นอ่อนที่ปรับสภาพโดยใช้พีทมอสมีลักษณะที่ค่อนข้างสมบูรณ์แข็งแรง ทั้งต้นและใบมีลักษณะสีเขียวเข้มและมีจำนวนใบที่เพิ่มขึ้น ส่วนวัสดุปลูกที่ให้ผลรองลงมาคือ เปลือกมะพร้าวสับโดยให้ร้อยละการรอดชีวิตร้อยละ 80 แต่เมื่อพิจารณาในด้านของความยาวยอดเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น 14.70 มิลลิเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 3.25 ใบ พบว่ามีค่าน้อยกว่าการใช้วัสดุปลูกชนิดอื่นๆ ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นผลมาจากเปลือกมะพร้าวสับมีขนาดชิ้นค่อนข้างใหญ่ จึงส่งผลให้เกิดการอุ้มน้ำและแร่ธาตุได้ไม่ดี ทำให้ต้นอ่อนได้รับน้ำ ความชื้น และแร่ธาตุได้ค่อนข้างน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้วัสดุปลูกชนิดอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามความโปร่งของวัสดุปลูก ช่วยลดการอุ้มน้ำที่มากเกินไปซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการรากเน่า และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รากติดเชื้อของตัวอย่างที่เพิ่งออกจากหลอดทดลองซึ่งมีลักษณะที่ค่อนข้างอ่อนแอ จึงทำให้ร้อยละการรอดชีวิตสูงกว่าการใช้ ดินและดินผสมกับเพอร์ไลท์ ในส่วนของวัสดุปลูกที่ให้ผลรองลงมาจากการใช้เปลือกมะพร้าวสับคือ ดินผสมเพอร์ไลท์ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยให้ร้อยละการรอดชีวิตอยู่ที่ร้อยละ 75 และวัสดุปลูกที่ให้ผลแย่ที่สุดในการใช้ปรับสภาพคือ การใช้ดินโดยพบว่าให้ร้อยละการรอดชีวิตของตัวอย่างเพียงร้อยละ 50 โดยคาดว่าในส่วนของดินและ ดินผสมเพอร์ไลท์ ให้ร้อยละการรอดชีวิตของตัวอย่างที่ค่อนข้างน้อยเนื่องจากการใช้ดินและวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดิน วัสดุปลูกค่อนข้างหนาแน่น มีการสะสมน้ำและความชื้นไว้ในดินค่อนข้างมากทำให้ต้นอ่อน ซึ่งเพิ่งออกจากหลอดทดลองนั้นยังคงมีส่วนของรากและลำต้นที่ค่อนข้างอ่อนแอเมื่อสัมผัสกับดินที่ชื้นก็จะเกิดการเน่าเปื่อย ส่งผลให้โอกาสการรอดชีวิตของตัวอย่างเมื่อออกปลูกน้อยลง จากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่าพีทมอสเป็นวัสดุปลูกสำหรับการปรับสภาพก่อนการออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมในธรรมชาติของต้นพะยูงพันธุ์ไทยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ดีที่สุด เนื่องจากให้ร้อยละของการรอดชีวิต การเจริญเติบโตของลำต้นและใบที่ดีที่สุด เมื่อเทียบกับวัสดุปลูกชนิดอื่นๆที่ใช้ในการทดลอง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรเก็บตัวอย่างของต้นพะยูงพันธุ์ไทยจากต้นในธรรมชาติในช่วงฤดูเดียวกันหากเป็นไปได้ เนื่องจากการเก็บตัวอย่างในช่วงฤดูที่ต่างกันอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตของตัวอย่างที่แตกต่างกัน

5.2.2 ควรศึกษาการเพาะเลี้ยงตัวอย่างในอาหารรูปแบบอื่นๆ เช่น อาหารเหลว เนื่องจากตัวอย่างของต้นพะยูงพันธุ์ไทยมีการปล่อยสารฟีนอลิกออกมาในปริมาณมาก เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง หรืออาหารกึ่งแข็งแล้วจะมีการสะสมสารพิษรอบๆชิ้นตัวอย่างมากเกินไปส่งผลให้ไม่เจริญเติบโตและตายในที่สุด

5.2.3 ควรศึกษาการเพาะเลี้ยงในภาชนะที่สามารถถ่ายเทอากาศได้โดยมีตัวกรองอากาศ เนื่องจากตัวอย่างมีการปล่อยแก๊สเอทิลีนเป็นเหตุให้มีปัญหาใบร่วง และตัวอย่างจะตายได้ง่าย

5.2.4 ควรศึกษากระบวนการเร่งรากที่สารถชักนำให้เกิดรากได้เร็วขึ้น เนื่องจากในการทดลองตัวอย่างที่จะเกิดรากได้นั้นต้องใช้ระยะเวลาที่ค่อนข้างนานคือต้องเป็นตัวอย่างที่มีอายุมากกว่า 4 เดือนขึ้นไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมป่าไม้. 2491. **หนังสือชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย**. เล่มที่1. กรุงเทพฯ : สุรีย์รัตน์.

กรมป่าไม้. 2558. **คู่มือการตรวจพิสูจน์เนื้อไม้พะยูง**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : บริษัท วีแคน โซลูชั่น จำกัด.

กฤษณา พงษ์พานิช. 2541. การควบคุมโรคของกล้าไม้ประดู่และพะยูงโดยใช้สารเคมี. หน้า 93-100. ใน **รายงานการประชุม วิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4**, 2542. โรงแรมแอมบาสเดอร์ ซิตี้ จอมเทียน. พัทยา จ.ชลบุรี. 377 หน้า.

จำนรรจ์ เพียรอนุรักษ์, ประสิทธิ์ เพียรอนุรักษ์ และ สาโรจน์ วัฒนสุขสกุล. 2558. **ผลของอัตราส่วนความเข้มข้นของไซโทไคนินและอ็อกซินในอาหารต่อการพัฒนาชิ้นพืชในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพะยูง.** กรุงเทพฯ : กลุ่มงานวนวัฒนวิจัย สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ กรมป่าไม้.

จงรัก วัชรินทรัตน์. 2557. “สถานการณ์ไม้พะยูงในประเทศไทย.” หน้า 49. นนทรี. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ฉวีวรรณ หุตะเจริญ. 2525. **แมลงศัตรูพืชป่าไม้ของไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : กรมป่าไม้.

ธีระ วีณิน. 2559. “ลักษณะทางกายวิภาคที่แตกต่างระหว่างไม้พะยูงและไม้ชิงชัน.” หน้า 50 – 51. ใน 8 ทศวรรษ วนศาสตร์ ศาสตร์แห่งชีวิต. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะวนศาสตร์ ศูนย์วิจัยป่าไม้.

วิชาญ เอียดทอง. 2559. “ไม้พะยูงในวิถีชีวิตคนไทยกับสถานการณ์ที่เปลี่ยนไป.” *วารสารการจัดการป่าไม้*. 10(19) : 89-99.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2531. **พจนานุกรมสมุนไพรไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สุริยบรรณ.

สงคราม ธรรมมิญช. 2557. “คุยเฟื่องเรื่อง ไม้พะยูง.” *มก.อาวุโสสัมพันธ์*. 14(59) : 2-5.

สะอาด บุญเกิด, จเร สดากร และทิพย์พรรณ สดากร. 2525. **ชื่อพรรณไม้ในเมืองไทย**. กรุงเทพฯ : บริษัทอนิเมท พริ้นติ้งแอนด์ ดีไซน์ จำกัด.

สุดารัตน์ หอมหวล. 2563. **ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.** [Online]. Available : http://www.phargarden.com.

สำนักงานหอพรรณไม้. 2557. **หนังสือชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็มสมิตินันทน์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2557**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักงานหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช.

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2550. **เทคโนโลยีชีวภาพของพืช**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : หจก. วี. เจ. พริ้นติ้ง.

Ahmad, A. and Anis, M. 2019. "Meta-topolin improves *in vitro* morphogenesis, rhizogenesis and biochemical analysis in *Pterocarpus marsupium* Roxb.: A potential drug-yielding tree." *Journal of Plant Growth Regulation*. 38 (3) : 1007-1016.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Anis, M. Husain, M.K. and Shahzad, A. 2005. "*In vitro* plantlet regeneration of *Pterocarpus marsupium* Roxb., an endangered leguminous tree." *Current Science* 88 : 861-863.

Arya, I.D. Nautiyal, S. and Arya, S. . 2013. "Tissue culture studies on clonal variations in micropropagation of *Dalbergia sissoo*." *International Journal of Biotechnology Research* 1(4) : 058-070.

Barik, D. P. Mohapatra, U. and Chand, P. K. 2005. "High frequency *in vitro* regeneration of *Lathyrus sativus* L." *Biologia Plantarum* 49(4) : 637-639.

Barik, D. P. Naik, S. K. Mohapatra, U. and Chand, P. K. 2004. "High-frequency plant regeneration by *in vitro* shoot proliferation in cotyledonary node explants of grasspea (*Lathyrus sativus* L.)." *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 40(5) : 467-470.

Borthakur, A. Das, S. Kalita, M. and Sen, P. 2012. "An *in vitro* plant regeneration system for conservation of the leguminous tree Albizzia chinensis (Osbeck) Merr." *Advances in Applied Science Research* 3(3) : 1727-1732.

Fráguas, C. B. Pasqual, M. Dutra, L. F. and Cazetta, J. O. 2004. "Micropropagation of fig (*Ficus carica* L.) 'Roxo de Valinhos' plants." *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 40(5) : 471-474.

George, Mary. and Tripepi, R. 2001. "Plant preservative mixture ™ can affect shoot regeneration from leaf explants of chrysanthemum, European Birch, and Rhododendron." *HortScience* 36.

Giannakoula, A. Ilias, E. Ilias, F. Dragišić Maksimović, J.J. Maksimović, V.M. and Živanović, B.D. 2012. "The effects of plant growth regulators on growth, yield, and phenolic profile of lentil plants." *Journal of Food Composition and Analysis* 28(1) : 46-53.

Husain, M.K. and Anis, M. 2009. "Rapid *in vitro* multiplication of *Melia azedarach* L. (a multipurpose woody tree)." *Acta Physiologiae Plantarum* 31(4) : 765-772.

Husain, M.K. and Shahzad, A. 2005. "*In vitro* plantlet regeneration of *Pterocarpus marsupium* Roxb., an endangered leguminous tree." *Current Science* 88 : 861-863.

Ismail, H. Muniandi, S.K. Yusoff, A.M. Hassan, N.H. and Shukor, N.A. 2016. "*In vitro* micropropagation of *Acacia auriculiformis* from selected juvenile sources." *Dendrobiology* 75 : 157-165.

Khamushi, M. Dehestani, M. Zarei, A. and Aliabad, K. 2019. "An efficient protocol for micropropagation of old cypress of Abarkuh (*Cupressus sempervirens* var. horizontalis [Mill.]) under *in vitro* condition." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 138 : 597–601.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Leshem, B. Werker, E. and Shalev, D. P. 1988. "The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation." *Annals of Botany* 62:271-276.

Lloyd, G. and McCown, B.H. 1981. "Commercially-feasible micropropagation of Mountain Laurel, Kalmia latifolia, by shoot tip culture." *The International Plant Propagators Society.* 30 : 421-427.

Monteuuis, O. and Bon, M.C. 2000. "Influence of auxins and darkness on *in vitro* rooting of micropropagated shoots from mature and juvenile *Acacia mangium*." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 63(3) : 173-177.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures." *Physiol. Plant*. 15 : 473-497.

Niedz, R. and Bausher, M. 2002. "Control of *in vitro* contamination of explants from greenhouse and field-grown trees." *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 38 : 468-471.

Pai, S. and Desai, N. 2018. "Effect of TDZ on various plant cultures." *Springer Nature Singapore*. 439-454.

Patil, G. Patel, R. Jaat, R. Pattanayak, A. Jain, P. and Srinivasan, R. 2009. "Glutamine improves shoot morphogenesis in chickpea (*Cicer arietinum* L.)." *Acta Physiologiae Plantarum* 31 : 1077-1084.

Polanco, M.C. and Ruiz, M.L. 1997. "Effect of benzylaminopurine on *in vitro* and *in vivo* root development in lentil, *Lens culinaris* Medik." *Plant Cell Reports* 17(1) : 22-26.

Rathore, V. Shekhawat, N. Singh, R. Rathore, J. and Dagla, H. 2004. "Cloning of adult trees of Jamun (*Syzygiun cuminii*)." *Indian Journal of Biotechnology* 3 : 241-245.

Romano, A. Noronha, C. and Martins-Loução, M.A. 1995. "Role of carbohydrates in micropropagation of cork oak." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 40(2) : 159-167.

Santana, J.R.F. Paiva, R. Souza, A.V. and Oliveira, L.M. 2011. "Effect of different culture tube caps and concentrations of activated charcoal and sucrose on *in vitro* growth and budding induction of *Annona glabra* L." *Ciência e Agrotecnologia* 35 : 916-923.

Schmauder, H.P. 1985. "Plant propagation by tissue culture." *Journal of Basic Microbiology*. 25.

Vibha, J.B. Shekhawat, N.S. Mehandru, P. and Dinesh, R. 2014. "Rapid multiplication of *Dalbergia sissoo* Roxb.: a timber yielding tree legume through axillary shoot proliferation and *ex vitro* rooting." *Physiol Mol Biol Plants* 20(1) : 81-7.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wannarat, W. Wongwean, P. Supansomporn, S. Kitprechawanich, W. and Pankaew, Y. 2015. “Micro-propagation of *Dalbergia cochinchinensis* Pierre.” *International Symposium on Agricultural Technology.* 81-83.

Warakagoda, P.S. and Subasinghe, S. 2013. "*In vitro* propagation of *Pterocarpus santalinus* L. (Red Sandalwood) through tissue culture." *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka* 41(1) : 53-63.

Ziv, M. 1991. "Vitrification: morphological and physiological disorders of *in vitro* plants." 45-69. In Debergh, P.C. and Zimmerman, R.H. (Eds.) *Dordrecht. Springer Netherlands.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก ที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige & Skoog (1962) Basal Medium with Vitamins

สารเคมี	**ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)**
Ammonium Nitrate	1650
Boric Acid	6.2
Calcium Chloride, Anhydrous	332.2
Cobalt Chloride•$6H_2O$	0.025
Cupric Sulfate•$5H_2O$	0.025
Na_2EDTA•$2H_2O$	37.26
Ferrous Sulfate•$7H_2O$	27.8
Magnesium Sulfate, Anhydrous	180.7
Manganese Sulfate•H_2O	16.9
Molybdic Acid (Sodium Salt)•$2H_2O$	0.25
Potassium Iodide	0.83
Potassium Nitrate	1900
Potassium Phosphate, Monobasic	170
Zinc Sulfate•$7H_2O$	8.6
Glycine (Free Base)	2
myo-Inositol	100
Nicotinic Acid (Free Acid)	0.5
Pyridoxine•HCl	0.5
Thiamine•HCl	0.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก ที่ 2 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร Lloyd & McCown (1981) Woody Plant Basal Medium with Vitamins

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Ammonium Nitrate	400
Boric Acid	6.2
Calcium Chloride, Anhydrous	72.5
Calcium Nitrate	386
Cupric Sulfate•$5H_2O$	0.25
Na_2 EDTA•$2H_2O$	37.3
Ferrous Sulfate•$7H_2O$	27.85
Magnesium Sulfate, Anhydrous	180.7
Manganese Sulfate•H_2O	22.3
Molybdic Acid (Sodium Salt)•2H2O	0.25
Potassium Phosphate, Monobasic	170
Potassium Sulfate	990
Zinc Sulfate•$7H_2O$	8.6
Glycine (Free Base)	2
myo-Inositol	100
Nicotinic Acid (Free Acid)	0.5
Pyridoxine•HCl	0.5
Thiamine•HCl	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

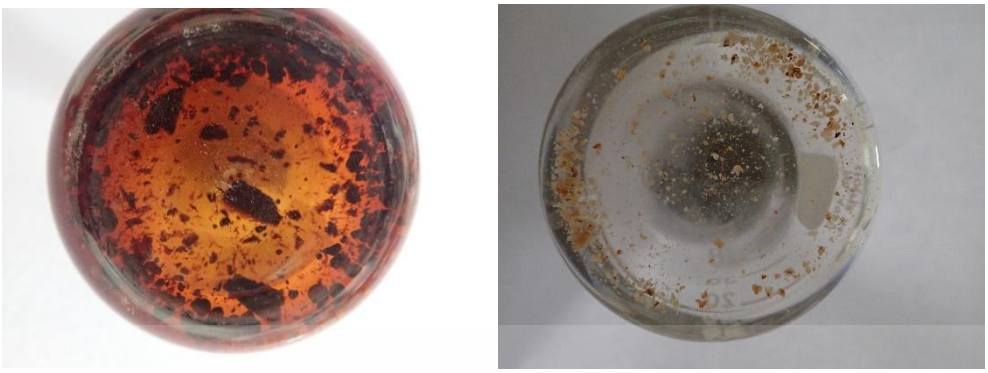
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาคผนวก ข ที่ 1 ชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยในขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อ

รูปภาคผนวก ข ที่ 2 การตากชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทยให้แห้งภายในตู้ปลอดเชื้อ (ซ้าย) การจัดวางอุปกรณ์ในตู้ปลอดเชื้อ (ขวา)

รูปภาคผนวก ข ที่ 3 การหลั่งสารที่เป็นอันตรายต่อตัวอย่าง ออกมาจากชิ้นส่วนข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ข ที่ 4 การหลั่งสารที่เป็นอันตรายต่อตัวอย่าง ออกมาจากชิ้นส่วนแคลลัสของต้นพะยูงพันธุ์ไทย

รูปภาคผนวก ข ที่ 5 การคัดเลือกเมล็ดสำหรับการเพาะเลี้ยง เมล็ดที่ค่อนข้างอ่อนการงอกต่ำ (ซ้าย) เมล็ดระดับกลางการงอกสูง (กลาง) เมล็ดที่มีอายุมากการงอกต่ำ (ขวา)

รูปภาคผนวก ข ที่ 6 ลักษณะของใบที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำแคลลัส (ซ้าย) ลักษณะของใบที่ตัดให้มีความยาวด้านละ 1 เซนติเมตร สำหรับลงในอาหารเพื่อชักนำแคลลัส (ขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาคผนวก ข ที่ 7 ลักษณะของข้อที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำยอด (ซ้าย) ลักษณะของข้อที่ตัดให้มีความยาว 2 เซนติเมตร สำหรับลงในอาหารเพื่อชักนำยอด (ขวา)

รูปภาคผนวก ข ที่ 8 ยอดที่เกิดจากการชักนำข้อของต้นพะยูงพันธุ์ไทย ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยไม่เปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์

รูปภาคผนวก ข ที่ 9 ความขุ่นของอาหารเพาะเลี้ยงที่เกิดจากการใช้สารก่อเจลที่แตกต่างกัน Phytagel (หลอดที่ 1 จากทางซ้าย) Crystal agar gel G180 (หลอดที่ 2 จากทางซ้าย) Agar powder food grade (หลอดที่ 3 จากทางซ้าย) Agar powder bacteriological grade (หลอดที่ 4 จากทางซ้าย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายพชร สุภาพาส
วัน เดือน ปีเกิด	วันจันทร์ที่ 30 เดือน กันยายน พ.ศ. 2539
ที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 43 หมู่ที่ 9 ตำบลชุมพล อำเภอศรีนครินทร์ จังหวัดพัทลุง รหัสไปรษณีย์ 93000
ประวัติการศึกษา	(2562) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ เกรดเฉลี่ย 3.72 (สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง) (2565) วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ เกรดเฉลี่ย 4.00 (สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนผู้ช่วยสอนและผู้ช่วยวิจัย หลักสูตรบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์

ผลงานทางวิชาการ

Supapas, P. Chareonsap, P.P. and Poeaim, A. 2022. "*In vitro* micropropagation of Siamese rosewood *Dalbergia cochinchinensis* Pierre, a timber yielding tree." *Pakistan Journal of Botany*. 54(5).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้