การเพาะเลี้ยงรากหม่อนเพื่อผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ

CULTIVATION OF MULBERRY ROOT FOR MULBERROSIDE A PRODUCTION

ณัฐวรา ดำรงค์มงคลกุล

NATVARA DAMRONGMONGCOLKUL

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2567

KMITL-2024-SC-M-020-001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CULTIVATION OF MULBERRY ROOT FOR MULBERROSIDE A PRODUCTION

NATVARA DAMRONGMONGCOLKUL

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
2024

KMITL-2024-SC-M-020-001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2024

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การเพาะเลี้ยงรากหม่อนเพื่อผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ

ชื่อนักศึกษา นางสาวณัฐวรา ดำรงค์มงคลกุล

รหัสนักศึกษา 63605046

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

พ.ศ. 2567

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาตราจารย์ ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เริ่มต้นจากการเพิ่มจำนวนต้นหม่อนในหลอดทดลอง ผลการทดลองพบว่า อาหารแข็ง MS เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดมากที่สุด (3.33 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) หลังจากการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ ในส่วนของการศึกษาการชักนำให้เกิดรากพบว่าอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการเกิดรากสูงที่สุดที่ ร้อยละ 83.33 ในส่วนการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบหม่อน พบว่าการใช้อาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าการเกิดแคลลัสที่ร้อยละ 100 และน้ำหนักสดของแคลลัสหลังการเพาะเลี้ยงสูงที่สุด คือ 0.34 กรัมต่อขวด ในการตรวจสอบปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากชิ้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ชิ้นส่วนยอด ชิ้นส่วนราก และแคลลัส) พบว่าการสะสมของปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ พบมากที่สุดในรากหม่อน โดยมีปริมาณ 9.05 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมา คือ แคลลัส และยอด ตามลำดับ (3.22 และ 1.49 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

ในการศึกษาต่อมานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบผลของ IBA โซเดียมคลอไรด์ สารสกัดยีสต์ และ Culture filtrate ต่อการเจริญเติบโตของรากหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS พบว่า IBA มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงราก การเติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยง ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโต (0.5) และปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ (43.80 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก และ 7.45 มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง) สูงสุด เพื่อปรับปรุงการเพาะเลี้ยงราก ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น โดยผู้วิจัยเลือกใช้วิธีการเติมสารกระตุ้น ได้แก่ สารละลายเกลือ สารสกัดยีสต์ และ Culture filtrate จากเชื้อรา *Aspergillus niger*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้วิจัยพบว่า การเติมสารละลายเกลือ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 3 วัน ส่งผลให้การสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ สูงที่สุด คือ 61.71 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก และ 8.63 มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตาม ในส่วนของสารสกัดยีสต์ และ Culture filtrate จากเชื้อรา *Aspergillus niger* ในการศึกษานี้ยังไม่สามารถเพิ่มการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ได้ ในการเติมสารกระตุ้นทั้งสองชนิด

การศึกษาต่อมามุ่งเน้นการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์ เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน จากการศึกษาพบว่า ความเจือจางของอาหารเหลว MS (1/24 1/20 1/16 1/12 1/8 1/4 เท่า และ อาหารเหลว MS เต็มสูตรที่ไม่มีการเจือจาง) มีผลต่อดัชนีการเจริญเติบโตของต้นหม่อน ผู้วิจัยพบว่าต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า มีดัชนีการเจริญเติบโตสูงที่สุด (5.41) และปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ สูงสุด (23.12 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก และ 7.86 มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง) นอกจากนี้ยังพบว่า รูปแบบการเพาะเลี้ยงต้นหม่อน เพื่อเก็บเกี่ยวรากหม่อน ก็มีผลต่อทั้งดัชนีการเจริญเติบโตและปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ พบว่ารูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 2 โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ก่อนที่จะเก็บเกี่ยวรากและไม่มีการเพาะเลี้ยงต่อเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ เนื่องจากใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงน้อยและมีความคุ้มค่ากับต้นทุนการผลิตมากกว่ารูปแบบการเพาะเลี้ยงอื่นๆ ต่อมาเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยง ผู้วิจัยเลือกใช้การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง ผู้วิจัยพบว่า ที่ IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มดัชนีการเจริญเติบโตของต้นหม่อนได้ (7.36) แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ต่อกรัมรากแห้ง อย่างไรก็ตามที่อาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า และเสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถช่วยเพิ่มปริมาณรากแห้งต่อต้นได้ มากกว่าชุดควบคุมถึงสองเท่า (0.61 กรัม) จากน้ำหนักรากแห้งที่เพิ่มขึ้นนี้ส่งผลให้ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 14.43 มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง

คำสำคัญ : การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การเพาะเลี้ยงราก มัลเบอร์โรไซด์ เอ สติลบีน สารทุติยภูมิ หม่อน ไฮโดรโปนิกส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Cultivation of Mulberry Root for Mulberroside A Production
Student Name	Miss Natvara Damrongmongcolkul
Student ID	63605046
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2024
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Saranya Phunpruch
Thesis Co-advisor	Asst. Prof. Dr. Pana Lohasupthawee

Abstract

This research firstly began with the *in vitro* culture in order to increase the number of mulberry plantlets. The results showed that using solid MS medium supplemented with 4 mg/l of BA and 0.5 mg/l of NAA resulted in the highest number of shoots (3.33 shoots/explant) after 4 weeks of cultivation. In the study of root induction, it was found that the solid MS medium supplemented with 0.25 mg/l of IBA resulted in the highest rooting percentage at 83.33%. In the study of callus induction from mulberry leaf, it was found that the solid MS medium supplemented with 0.5 mg/l of BA and 2 mg/l of 2,4-D resulted in the highest percentage of callus induction at 100% and the highest fresh weight of callus at 0.34 g/bottle. In the determination of mulberroside A content from *in vitro* culture (shoot, root, and callus), it was found that the highest mulberroside A content occurred in mulberry roots at 9.05 mg/g DW, subsequently in callus and shoots, respectively, at 3.22 and 1.49 mg/g DW.

The following study aims to investigate the effects of IBA, sodium chloride, yeast extract, and culture filtrate on growth of mulberry root and the accumulation of mulberroside A in liquid MS medium. It was observed that IBA played a significant role in root culture, with the addition of 1 mg/l of IBA in the culture medium resulting in the highest growth index (0.50) and mulberroside A content (43.80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

mg/gDW and 7.45 mg/culture). To enhance the efficiency of the culture, we employed elicitation methods, which included the use of a sodium chloride solution, yeast extract, and culture filtrate from *Aspergillus niger*. We found that the addition of sodium chloride solution at a concentration of 50 mg/l for 3 days resulted in the highest mulberroside A content, reaching 61.71 mg/g DW. However, in the case of yeast extract and culture filtrate from *Aspergillus niger*, this study observed that the mulberroside A content could not be increased by the addition of these two elicitors.

The next study focuses on cultivating mulberry in a hydroponic system to investigate its impact on the growth of mulberry trees and the accumulation of mulberroside A in the roots. Based on the study, it was found that the dilution of liquid MS medium (1/24, 1/20, 1/16, 1/12, 1/8, 1/4, and undiluted liquid MS medium) had an impact on the growth index of mulberry trees. We found that mulberry trees cultivated in 1/4 strength liquid MS medium exhibited the highest growth index (5.41) and the highest mulberroside A content (23.12 mg/gDW and 7 . 8 6 mg/culture). Moreover, the cultivation method for harvesting roots had an impact on both the growth and mulberroside A content. It was found that cultivation method 2, involving the cultivation of mulberry trees for 1 month before harvesting roots without continuous cultivation, was the most suitable for mulberroside A production. This is due to its short cultivation period and higher cost-effectiveness compared to other cultivation methods. To enhance the efficiency of cultivation, we chose to add a plant growth regulator to the culture medium. We found that at 0.25 mg/l of IBA, it could increase the growth index of mulberry trees (7.36). However, it had no effect on the increase in the mulberroside A content per gram of dry weight in the roots. Nevertheless, in a 1/4 strength MS liquid medium with 0.25 mg/l of IBA, it could significantly enhance the dry weight of roots per tree, up to two times more than control treatment (0.61 g). The increase in the dry weight of mulberry roots results in an increase in the total content of mulberroside A to 14.43 mg/culture.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Keywords : Hydroponic, *In vitro* root culture, Mulberry, Plant tissue culture, Secondary metabolite, Stilbene

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง “การเพาะเลี้ยงรากหม่อนเพื่อผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ” ฉบับนี้สำเร็จลงไปด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี และ รองศาสตราจารย์ ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน ให้คำแนะนำและปรึกษาตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความใส่ใจเป็นอย่างยิ่ง ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลาในการตรวจสอบความถูกต้อง พร้อมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องและสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณครอบครัวอันเป็นที่รัก คุณพ่อ คุณแม่ เจ๊วาวา ขนมปัง เม็ดขนุน ชาเย็น และพี่มาร์ค ที่มอบโอกาสทางการศึกษาอันมีค่าอย่างยิ่ง อีกทั้งคอยสนับสนุนในทุกด้าน เป็นพลังกาย พลังใจ เป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา จนผู้เขียนสามารถก้าวข้ามผ่านลูกระนาดของชีวิตไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนพี่น้อง ชาว Plant Lab. ทุกคน ที่ร่วมสร้างเรื่องราว ประสบการณ์ต่างๆ บทเรียนชีวิตมากมาย คอยให้ความช่วยเหลือซึ่งกันและกัน ให้การสนับสนุน ให้คำปรึกษาต่างๆ ล้วนแล้วแต่เป็นความทรงจำที่มีค่าสำหรับผู้เขียนอย่างมาก

ในส่วนสุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณทุนยกเว้นค่าทำเนียมการศึกษาสำหรับหลักสูตรปริญญาโท เป็นระยะเวลาไม่เกิน 2 ปี จากคณะวิทยาศาสตร์ สจล. และขอขอบพระคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ ตลอดจนความช่วยเหลือต่างๆ จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ไปได้ด้วยดี ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่มีความสนใจ หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความผิดพลาดประการใด ขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

ณัฐวรา ดำรงค์มงคลกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญรูปภาพ	ฐ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 หม่อน หรือ Mulberry	4
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	4
2.1.2 สรรพคุณของหม่อน	6
2.2 มัลเบอร์โรไซด์ เอ (Mulberroside A)	7
2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	8
2.3.1 รูปแบบการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเนื้อเยื่อ	9
2.3.2 ขั้นตอนหลักในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	9
2.3.3 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	10
2.4 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช	10
2.4.1 ออกซิน (Auxins)	11
2.4.2 จิบเบอเรลลิน (Gibberellins)	11
2.4.3 ไซโทไคนิน (Cytokinins)	12
2.4.4 เอทิลีน (Ethylene)	12
2.4.5 สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth retardants)	13
2.4.6 สารยับยั้งการเจริญเติบโต (Plant growth inhibitors)	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.7 สารอื่นๆ (Miscellaneous)	14
2.5 การผลิตสารทุติยภูมิโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	14
2.5.1 สารทุติยภูมิ (Secondary metabolites)	14
2.5.2 การผลิตสารทุติยภูมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	14
2.5.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร	15
2.6 การปลูกพืชไร้ดิน หรือ ไฮโดรโปนิกส์ (Hydroponics)	16
2.6.1 ความหมาย	16
2.6.2 รูปแบบการปลูกพืชไร้ดิน	16
2.6.3 ข้อดีและข้อเสียของการปลูกพืชไร้ดิน	17
2.7 โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	18
2.7.1 หลักการทำงาน	18
2.7.2 องค์ประกอบที่สำคัญ	19
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	20
2.8.1 การฟอกฆ่าเชื้อ	20
2.8.2 การชักนำให้เกิดยอด	21
2.8.3 การชักนำให้เกิดราก	22
2.8.4 การชักนำให้เกิดแคลลัส	23
2.8.5 การเพาะเลี้ยงรากแบบเขย่า	24
2.8.6 การเพาะเลี้ยงพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์	25
2.8.7 การตรวจสอบสารมัลเบอร์โรไซด์ เอ	26
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	27
3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	27
3.1.1 พืชที่ใช้ในการศึกษา	27
3.1.2 สารเคมี	27
3.1.3 อุปกรณ์	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2 การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนหม่อน โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	28
3.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน	28
3.2.2 การศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA	28
3.2.3 การศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA	29
3.2.4 การศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ 2,4-D	29
3.2.5 การศึกษาปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากชิ้นส่วนยอด ราก และแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง	30
3.3 การเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	30
3.3.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	30
3.3.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเกลือต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	31
3.3.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดยีสต์ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	32
3.3.4 การศึกษา Culture filtrate จากเชื้อรา Aspergillus niger ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	32
3.4 การเพาะเลี้ยงต้นหม่อนเพื่อผลิตราก ด้วยวิธีไฮโดรโปนิกส์	33
3.4.1 การปรับสภาพต้นอ่อนหม่อน	33
3.4.2 การศึกษาความเจือจางอาหารเหลว MS ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.3 การศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงต้นหม่อน เพื่อเก็บเกี่ยวรากหม่อน ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์	34
3.4.4 การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์	35
3.5 การวิเคราะห์ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ	35
3.5.1 การสกัดสารจากชิ้นส่วนหม่อน	35
3.5.2 การสกัดสารจากอาหารเพาะเลี้ยงแบบเหลว	35
3.5.3 การวัดปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ด้วยเครื่อง HPLC	36
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	36
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	37
4.1 การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนหม่อน โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	37
4.1.1 การศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA	37
4.1.2 การศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA	42
4.1.3 การศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ 2,4-D	46
4.1.4 การศึกษาปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากชิ้นส่วนยอด ราก และแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง	50
4.2 การเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	51
4.2.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	51
4.2.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเกลือต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดยีสต์ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	56
4.2.4 การศึกษา Culture filtrate จากเชื้อรา Aspergillus niger ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	59
4.3 การเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์	62
4.3.1 การศึกษาความเจือจางอาหารเหลว MS ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์	62
4.3.2 การศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงต้นหม่อน เพื่อเก็บเกี่ยวรากหม่อน ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์	65
4.3.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์	68
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	74
5.1 สรุปผลการวิจัย	74
5.2 ข้อเสนอแนะ	76
เอกสารอ้างอิง	77
ภาคผนวก ก	83
ภาคผนวก ข	84
ประวัติผู้เขียน	85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างหม่อน	39
4.2	อิทธิพลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดหม่อนในอาหารแข็ง MS ภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์	45
4.3	อิทธิพลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบหม่อนบนอาหารแข็ง MS ภายในระยะเวลา 4 สัปดาห์	49
4.4	ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นหม่อน	50
4.5	อิทธิพลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อการเจริญเติบโตของรากหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	52
4.6	อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเกลือต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	55
4.7	อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดยีสต์ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	58
4.8	อิทธิพลของ Culture filtrate จากการเลี้ยงเชื้อรา Aspergillus niger ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ	61
4.9	อิทธิพลของความเจือจางของอาหารเหลว MS ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ระยะเวลา 1 เดือน	63
4.10	รูปแบบการเพาะเลี้ยงต้นหม่อน เพื่อเก็บเกี่ยวรากหม่อน ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของสารมัลเบอร์รไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์	66
4.11	อิทธิพลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ระยะเวลา 4 สัปดาห์	70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	ต้นหม่อน (Mulberry)	4
2.2	ลักษณะของใบหม่อน	5
2.3	ลักษณะของดอกหม่อน (ก) ดอกเพศผู้ (ข) ดอกเพศเมีย	5
2.4	ลักษณะของผลหม่อน	6
2.5	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสติลบีน ก.โครงสร้างของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ข.โครงสร้างของเรสเวอราทรอล ค.โครงสร้างของออกซีเรสเวอราทรอล	7
2.6	กระบวนการสังเคราะห์มัลเบอร์โรไซด์ เอ จากสารตั้งต้นฟีนิลอะลานีน	8
2.7	การเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่า	15
2.8	แผนผังของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)	18
2.9	เฟสคงที่ซิลิกา	19
2.10	การเรียงสภาพขั้วของคอลัมน์	20
4.1	ลักษณะการเกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน บนอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย BA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับ ชุดควบคุม (อาหาร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญ) ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์	41
4.2	ลักษณะของรากที่เกิดจากยอดหม่อน ภายหลังการเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ (ก) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) (ข-ซ) ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.25 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ	44
4.3	ลักษณะของรากที่เกิดจากยอดหม่อน ภายหลังการเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ (ก) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) (ข-ซ) ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.25 0.5 1 2 3 4 และ 5มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.4	ลักษณะชิ้นส่วนใบหม่อน ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (ก-ค) อาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ง-จ) อาหาร MS ที่เสริมด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ช-ฌ) อาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ญ-ฏ) อาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ฐ-ฒ) อาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ณ) อาหารแข็ง MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม)	48
4.5	ตัวอย่างหม่อนจากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่ใช้ในการสกัดเพื่อตรวจสอบปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ (ก) ชิ้นส่วนยอด (ข) ชิ้นส่วนราก (ค) แคลลัส	51
4.6	ลักษณะของรากหม่อนภายหลังการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ 2 สัปดาห์ (ก-ง) อาหารเหลว MS ที่เสริมด้วย IBA ที่ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ	53
4.7	เปรียบเทียบลักษณะรากหม่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง (ก) ชุดควบคุม (ข) Culture filtrate ความเข้มข้นร้อยละ 100 ภายหลังการกระตุ้น 7 วัน	61
4.8	ลักษณะของต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารเหลว MS ที่ความเจือจางต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ก-ช) อาหารเหลว MS ปราศจากซูโครส ที่ความเจือจาง 1/24 1/20 1/16 1/12 1/8 1/4เท่า และ อาหารเหลว MS เต็มสูตรที่ไม่มีการเจือจาง ตามลำดับ	64
4.9	ลักษณะต้นหม่อนภายหลังการเพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารเหลว MS ความเจือจาง 1/4เท่า ที่รูปแบบการเพาะเลี้ยงต่างๆ (ก) ลักษณะต้นหม่อนก่อนการเพาะเลี้ยง (ข) รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 2 (ระยะเวลา 1 เดือน) (ค) รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 3 (ระยะเวลา 2 เดือน) (ง) รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 4 (ระยะเวลา 3 เดือน)	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.10	ลักษณะของต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4 เท่า และเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ก) ปราศจากสารความคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) (ข) 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) 4 มิลลิกรัมต่อลิตร	71
4.11	ลักษณะของต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4 เท่า และเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ก) ปราศจากสารความคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) (ข) 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) 4 มิลลิกรัมต่อลิตร	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	ชื่อเต็ม
IBA	Indole-3-butyric acid (IBA)
NAA	1-Naphthaleneacetic acid
BA	6-Benzylaminopurine
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
MS	Murashige and Skoog medium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

หม่อน หรือ Mulberry (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Morus alba* Linn.) มีต้นกำเนิดในประเทศจีน นิยมปลูกทั่วไปในทวีปเอเชีย หม่อนมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นไม้พุ่มขนาดกลางที่มีเปลือกต้นสีน้ำตาลแดง มีลำต้นตั้งตรง มีใบเดี่ยวคล้ายรูปหัวใจ ปลายแหลมหรือเรียวยาว มีดอกเป็นดอกช่อรูปทรงกระบอก มีผลเป็นผลรวมรูปทรงกระบอกสีเขียว เมื่อสุกสีม่วงแดงเข้ม เกือบดำ ฉ่ำน้ำ มีรสหวานอมเปรี้ยว (Devi *et al*., 2013) ใบหม่อนสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้โดยนำมาใช้เป็นอาหารตามธรรมชาติของหนอนไหมที่ใช้ในการผลิตรังไหม ผลหม่อนสามารถรับประทานได้ นอกจากนี้ในทางการแพทย์แผนไทยหม่อนถูกใช้เป็นยาขับเหงื่อ บำรุงไตและตับ (Wuttidhammaved, 2007) ทั้งนี้ในใบ ผล และรากหม่อนยังสามารถพบสารประกอบทางเคมีหลายชนิด อาทิเช่น โพลีฟีนอล (Polyphenol) แอลคาลอยด์ (Alkaloid) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) และ สติลบีนอยด์ (Stilbenoid) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติทางเคมีที่น่าสนใจ คือ มัลเบอร์โรไซด์ เอ (Mulberroside A) ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในรูปของไกลโคไซด์ของสติลบีน (Glycoside stilbene) มีออกซีเรสเวอราทรอล (Oxyresveratrol) เป็นส่วนประกอบ มีรายงานการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ดังนี้ มีฤทธิ์ต้านไวรัส (Anti-viral activity) มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (Cytotoxic activity) มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity) มัลเบอร์โรไซด์ เอ เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลักของหม่อนที่พบมากในส่วนของราก (ยลดา และคณะ, 2559) จากประโยชน์ทางเภสัชวิทยาของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ส่งผลให้เป็นที่ต้องการของตลาดและมีราคาสูง โดยในปี 2566 บริษัท MedChemexPress ได้ทำการจัดจำหน่าย มัลเบอร์โรไซด์ เอ 1 มิลลิกรัม อยู่ที่ราคา 1,900 บาท แต่รากหม่อนจากต้นในธรรมชาติใช้เวลานานกว่าจะเก็บเกี่ยวได้ นอกจากนี้การผลิตและการสะสมสารทุติยภูมิในพืชมีขีดจำกัดจากปัจจัยภายนอก ได้แก่ ฤดูกาล อุณหภูมิ ปริมาณแสงที่พืชได้รับ รวมไปถึงธาตุอาหารในดิน ปัจจัยเหล่านี้ล้วนส่งผลต่อการผลิตสารทุติยภูมิในพืช ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากรากของหม่อน โดยใช้กระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพในการเพาะเลี้ยงรากหม่อน เพื่อเป็นแนวทางในการสร้างแหล่งการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและยาจากพืชสมุนไพรต่อไป

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะเนื้อเยื่อ เซลล์ หรือเซลล์ไม่มีผนัง มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ และอยู่ในสภาพควบคุมอุณหภูมิ แสงและความชื้นเพื่อให้เซลล์พืชที่นำมาเพาะเลี้ยงนั้น ปราศจากเชื้อที่มารบกวนและทำลายการเจริญเติบโตของพืช ทำให้ได้พืชต้นใหม่ จำนวนมาก อย่างรวดเร็วในเวลาอันจำกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยมีคุณภาพดีเหมือนเดิม (วีระพล, 2559) งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหลอดทดลอง ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและไซโทไคนินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อเพิ่มจำนวนต้นอ่อนหมอนให้แข็งแรง นอกจากนี้ยังเลือกใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงรากแบบเขย่าในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของรากหมอนและการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ

การปลูกพืชไร้ดิน หรือ ไฮโดรโปนิกส์ (Hydroponics) เป็นการปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหารพืช โดยให้รากแช่ในสารละลายธาตุอาหารพืช และบางส่วนสัมผัสอากาศ หรือเป็นการปลูกพืชบนวัสดุที่ไม่ใช่ดินและรดด้วยสารละลายธาตุอาหารพืชหรือน้ำปุ๋ย ส่งผลให้วิธีไฮโดรโปนิกส์ สามารถควบคุมปริมาณธาตุอาหารพืช ควบคุมโรค แมลงศัตรูพืชได้ง่ายกว่าพืชปกติ ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงพืชแบบไร้ดิน ได้แก่ น้ำ ธาตุอาหาร แสง และอุณหภูมิ พืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวิธีนี้จึงเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ได้ผลผลิตในปริมาณสูง สม่ำเสมอ สะอาด มีคุณภาพดี ใช้แรงงานน้อย และปลูกได้ต่อเนื่องตลอดปี (ธรรมศักดิ์ และ จตุรงค์, 2554) ด้วยเหตุนี้งานวิจัยนี้จึงเลือกวิธีไฮโดรโปนิกส์ในการเพาะเลี้ยงหมอนเพื่อผลิตรากและทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหมอนให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดและต้นทุนต่ำ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการชักนำให้เกิดยอดและรากของตาข้างของหมอน
2. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของรากหมอนและการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหมอน ด้วยการเพาะเลี้ยงรากแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ
3. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นหมอนและการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหมอน ด้วยการเพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาอาหารที่เหมาะสมต่อ การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างของหมอน การชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของหมอน และการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของหมอน ด้วยการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง MS (Murashige and Skoog medium, 1962) ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและกลุ่มไซโทไคนินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในส่วนของการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธีเพาะเลี้ยงรากหมอนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อและการเพาะเลี้ยงต้นหมอนในระบบไฮโดรโปนิกส์ โดยการเพาะเลี้ยงรากหมอนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ จะทำการเพาะเลี้ยงรากในอาหารเหลว MS เพื่อศึกษาปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA การเติมสารละลายเกลือ การเติมสารละลายสารสกัดยีสต์ และการเพาะเลี้ยงรากใน Culture filtrate จากเชื้อรา ที่อาจมีผลต่อดัชนีการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหมอน ในส่วนการเพาะเลี้ยงต้นหมอนให้เกิดรากในระบบไฮโดรโป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิกส์ จะทำการศึกษาผลของความเจือจางของอาหารเหลว MS รูปแบบการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนเพื่อเก็บเกี่ยวราก และชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในกลุ่มออกซิน เพื่อศึกษาผลของปัจจัยเหล่านี้ต่อดัชนีการเจริญเติบโตของต้นหม่อน และการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน การวิเคราะห์ปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ โดยการสกัดตัวอย่างหม่อนด้วยเมทานอล และตรวจวัดปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดและรากของตาข้างของหม่อน
2. ทราบสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากรากหม่อนด้วยการเพาะเลี้ยงรากแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ
3. ทราบสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากรากหม่อนด้วยการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 หม่อน หรือ Mulberry

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

หม่อน (*Morus alba* Linn.) เป็นพืชใบเลี้ยงคู่อยู่ในสกุล *Morus* วงศ์ Moracea เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศจีนตอนใต้ แถบเทือกเขาหิมาลัย แต่ภายหลังได้มีการนำเข้ามาปลูกในอินโดจีน ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ ไทย ฯลฯ โดยจัดเป็นไม้พุ่มขนาดกลางหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก (รูปที่ 2.1) มีลำต้นตั้งตรง สูงได้ประมาณ 2.5 เมตร บางพันธุ์สูงได้ประมาณ 3-7 เมตร แตกกิ่งก้านไม่มากนัก เปลือกลำต้นเรียบเป็นสีน้ำตาลแดง สีขาวปนสีน้ำตาล หรือสีเทาปนขาว ส่วนเปลือกรากเป็นสีน้ำตาลแดงหรือสีเหลืองแดง พบได้ทั่วไปในป่าดิบ (Devi *et al.*, 2013)

รูปที่ 2.1 ต้นหม่อน (Mulberry)

ใบหม่อน ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ ลักษณะของใบเป็นรูปไข่ ปลายใบแหลมยาว โคนใบเว้าเป็นรูปหัวใจหรือค่อนข้างตัด ขอบใบเรียบหรือหยักเว้าเป็นพู (ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ที่ปลูก) ใบอ่อนขอบใบจักเป็นพูสองข้างไม่เท่ากัน ขอบพูจักเป็นซี่ฟัน ใบมีขนาดกว้างประมาณ 8-14 เซนติเมตร และยาวประมาณ 12-16 เซนติเมตร แผ่นใบเป็นสีเขียวเข้มเรียบเงา ท้องใบเป็นสีเขียวอ่อน ใบค่อนข้างหนา หลังใบสากระคายมือ เส้นใบมี 3 เส้น ออกจากโคนยาวไปถึงกลางใบ และเส้นใบออกจากเส้นกลางใบอีก 4 คู่ เส้นร่างแหเห็นได้ชัดเจนจากด้านล่าง ก้านใบเรียวเล็ก ยาวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร มีหูใบเป็นรูปแถบแคบปลายแหลม ยาวได้ประมาณ 0.2-0.5 เซนติเมตร(Devi *et al.*, 2013) โดยรูปที่ 2.2 แสดงลักษณะของใบหม่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.2 ลักษณะของใบหม่อน

ดอกหม่อน ออกดอกเป็นช่อ ตามซอกใบและปลายยอด ดอกเป็นแบบแยกเพศแต่อยู่บนต้นเดียวกัน ลักษณะของดอกเป็นรูปทรงกระบอก ช่อดอกเพศผู้และช่อดอกเพศเมียจะอยู่ต่างช่อกัน ดอกย่อยมีขนาดเล็ก วงกลีบรวมเป็นสีขาวหม่นหรือเป็นสีขาวแกมสีเขียว ช่อดอกเป็นหางกระรอก ยาวได้ประมาณ 2 เซนติเมตร ดอกเพศผู้ (รูปที่ 2.3ก)วงกลีบรวมมีแฉก 4 แฉก เกลี้ยง ส่วนดอกเพศเมีย (รูปที่ 2.3ข) วงกลีบรวมมีแฉก 4 แฉก เกลี้ยง ขอบมีขน เมื่อเป็นผลจะอวบน้ำ รังไข่เกลี้ยง ก้านเกสรเพศเมียมี 2 อัน (Devi *et al.*, 2013)

รูปที่ 2.3 ลักษณะของดอกหม่อน (ก) ดอกเพศผู้ (ข) ดอกเพศเมีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลหม่อน (รูปที่ 2.4) เป็นผลที่เกิดจากช่อดอก ผลเป็นผลรวมอยู่ในกระจุกเดียวกัน โดยจะออกตามซอกใบ ลักษณะของผลเป็นรูปทรงกระบอก ยาวประมาณ 1-2.5 เซนติเมตร ผลเป็นสีเขียว เมื่อผลสุกแล้วจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงเข้มหรือสีม่วงดำ เกือบดำ เนื้อนิ่ม ฉ่ำน้ำ และมีรสหวานอมเปรี้ยว (Devi *et al.*, 2013)

รูปที่ 2.4 ลักษณะของผลหม่อน

2.1.2 สรรพคุณของหม่อน (วุฒิ, 2540)

ยอดหม่อน เมื่อนำมาต้มเพื่อดื่ม สามารถช่วยผ่อนคลายและช่วยบำรุงสายตา

ใบหม่อน มีสารออกฤทธิ์กลุ่มฟลาโวนอยด์ ไตรเทอปีน อัลคาลอยด์เซราไมด์ และน้ำมันหอมระเหย นอกจากนี้ยังมีสารอาหารต่างๆ ในปริมาณสูง เช่น คาร์โบไฮเดรต เพคติน โปรตีน เส้น ใยอาหาร รวมทั้งวิตามินบี ซี และแคโรทีน ใบหม่อนนั้นสามารถช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลลด ปริมาณน้ำตาลในเลือด ลดความดันโลหิต ใบมีรสจืดเย็นเป็นยาขับเหงื่อ แก้ไข้ แก้ตัวร้อน แก้ร้อนใน กระหายน้ำ แก้เจ็บคอ และทำให้เนื้อเยื่อชุ่มชื้น

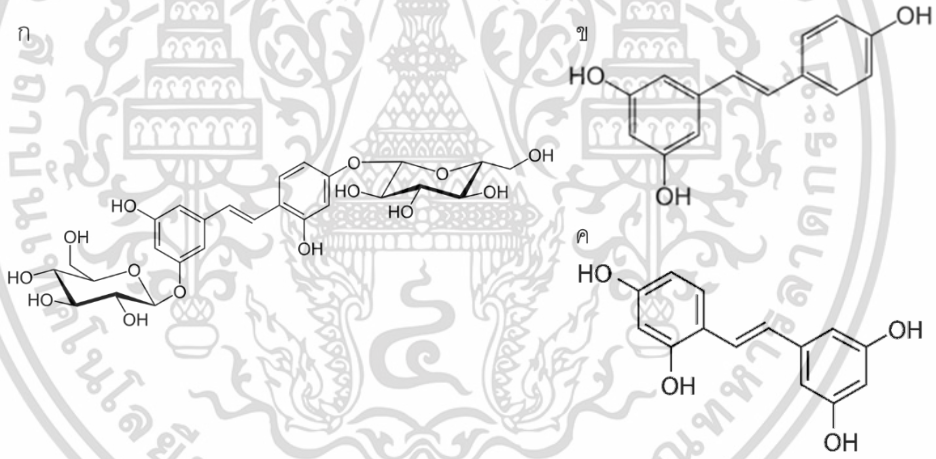
ผลหม่อนสุก ให้รสชาติหวานอมเปรี้ยว มีสรรพคุณใช้รักษาโรคไขข้อ บำรุงหัวใจ บำรุงผมให้ดกดำ มีความสำคัญในด้านบำรุงเลือด

รากหม่อน มีสารที่เป็นประโยชน์ต่อผิวพรรณหลายชนิด เช่น โพลีฟีนอล (Polyphenol) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และแคทิซิน (Catechin) ที่ช่วยต้านความชรา ชะลอการเกิดริ้ว รอยก่อนวัยได้อย่างดีเยี่ยม และอุดมไปด้วยวิตามินซีสูงมาก ทำให้ผิวพรรณสดใส เปล่งปลั่ง แลดูอ่อนกว่าวัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

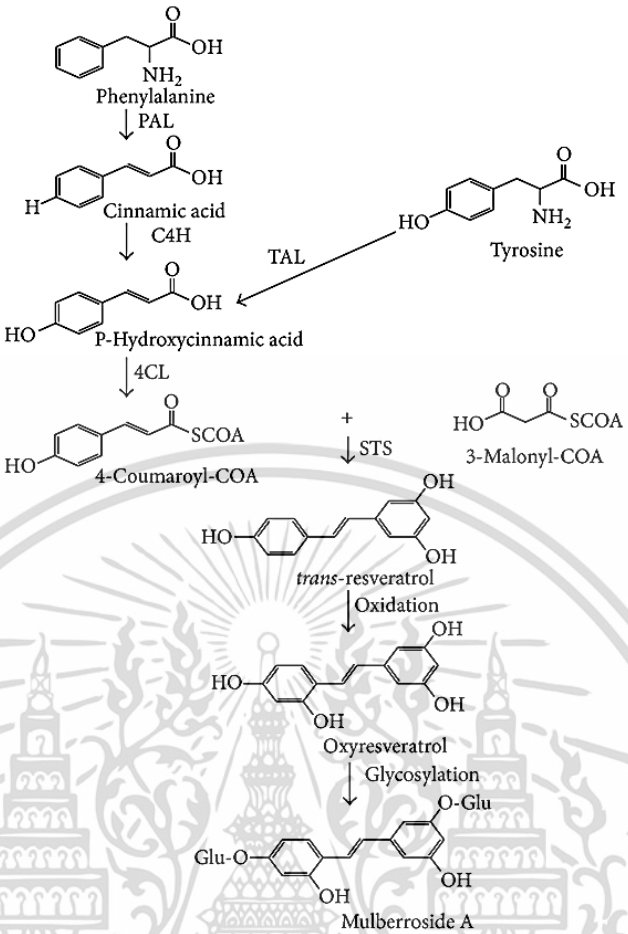
2.2 มัลเบอร์โรไซด์ เอ (Mulberroside A)

มัลเบอร์โรไซด์ เอ (Mulberroside A) เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลักของหม่อนที่พบมากในส่วนของราก ซึ่งอยู่ในรูปของไกลโคไซด์ของสติลบีน (Glycoside stilbene) มีเรสเวอราทรอล (Resveratrol) และ ออกซีเรสเวอราทรอล (Oxyresveratrol) เป็นส่วนประกอบ (รูปที่ 2.5) กระบวนการสังเคราะห์มัลเบอร์โรไซด์ เอ โดยใช้ฟีนิลอะลานีนเป็นสารตั้งต้น ผ่านวิถีการสังเคราะห์สติลบีน (รูปที่ 2.6) ได้ผลิตภัณฑ์ในรูปของเรสเวอราทรอล ออกซีเรสเวอราทรอล และมัลเบอร์โรไซด์ เอ ตามลำดับ มีรายงานการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ดังนี้ มีฤทธิ์ต้านไวรัส (Anti-viral activity) มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (Cytotoxic activity) มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity) (Mei *et al*., 2011)



รูปที่ 2.5 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสติลบีน
ก.สูตรโครงสร้างของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ข. สูตรโครงสร้างของเรสเวอราทรอล
ค. สูตรโครงสร้างของออกซีเรสเวอราทรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 กระบวนการสังเคราะห์มัลเบอร์โรไซด์ เอ จากสารตั้งต้นฟีนิลอะลานีน (Zhou *et al.,* 2013) Phenylalanine ammonia lyase (PAL); Tyrosine ammonia lyase (TAL);Cinnamate-4-hydroxylase (C4H); 4-Coenzyme A ligase (4CL); Stilbene synthase (STS).

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture หรือ Micropropagation หรือ *In vitro* culture) คือ นำชิ้นส่วนพืช (Explant) มาทำให้สะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ แล้วเลี้ยงบนอาหารวิทยาศาสตร์ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ (Aseptic technique) ภายใต้สภาพแวดล้อมที่สามารถควบคุมได้ (วีระพล, 2559)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจัดเป็นพื้นฐานอันสำคัญของเทคโนโลยีชีวภาพ (Biotechnology) เป็นการเอาสิ่งมีชีวิตหรือชิ้นส่วนของสิ่งมีชีวิตมาปรับปรุง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่มีประโยชน์เพิ่มขึ้น เช่น ในการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคการตัดต่อ-ย้ายยีน เพื่อสร้างสายพันธุ์ใหม่ๆจำเป็นต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อสายพันธุ์ใหม่ที่ได้สามารถมีชีวิตอยู่ได้และเจริญเติบโตได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 รูปแบบการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเนื้อเยื่อ (สิริภัทร์, 2560)

การเกิดแคลลัส (Callus formation) แคลลัสเป็นกลุ่มเซลล์พาเรนไคมาที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ไปเป็นรากหรือลำต้น อาจจะอยู่กันหลวมๆ หรือ เกาะกันแน่น แคลลัสอาจเกิดจากจากเซลล์หรืออวัยวะอื่น เช่น ใบเลี้ยง ช่อดอกอ่อน และเมล็ดอ่อน เป็นต้น

การเกิดอวัยวะ หรือออร์แกโนจีเนซิส (Organogenesis) เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงจนกระทั่งได้เป็นอวัยวะหรือเป็นการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่โดยตรง โดยการสร้างยอดหรือราก การเปลี่ยนแปลงเป็นอวัยวะต่าง ๆ เป็นผลของฮอร์โมนต่อกลุ่มของเซลล์ อาจเป็นอิทธิพลของฮอร์โมนชนิดเดียว หรือหลายชนิดก็ได้ เมื่อมีการผันแปรระหว่างฮอร์โมนออกซินและไซโทไคนิน พบว่าโดยถ้าสัดส่วนของออกซินมากกว่าไซโทไคนินจะชักนำให้เกิดราก ในทางกลับกันถ้ามีไซโทไคนินมากกว่าออกซินจะพัฒนาไปเป็นยอด การเชื่อมต่อระหว่างยอดและรากในการเกิดอวัยวะเป็นขบวนการที่เป็นอิสระต่อกัน รากอาจเกิดต่างบริเวณกับที่เกิดของยอดจึงอาจไม่ติดต่อกันได้ แต่บางครั้งเกิดขึ้นใกล้เคียงกันมากจนท่อน้ำท่ออาหารเชื่อมติดกันได้ นอกจากฮอร์โมนแล้วยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเป็นยอดหรือรากของพืชได้ เช่น ตำแหน่งของชิ้นพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง อายุและสภาพของต้นแม่ ชนิดของพืชและอวัยวะ ตลอดจนสภาพการเพาะเลี้ยงอื่น ๆ เช่น จำนวนครั้งในการถ่ายอาหาร แสง อุณหภูมิ น้ำตาล และความเป็นกรด-ด่างของอาหารเพาะเลี้ยง เป็นต้น

การเกิดคัพภะ หรือเอ็มบริโอจีเนซิส (Embryogenesis) คัพภะของพืชที่ขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ เอ็มบริออยด์ (Embryoid) เกิดจากเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาเหมือนกับการพัฒนาของไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแต่เอ็มบริออยด์มีจุดกำเนิดจากเซลล์ร่างกาย หลังจากนั้นจะพัฒนาเป็นขั้นตอนต่าง ๆ เป็นต้นกล้าซึ่งมียอดและรากติดต่อกัน จึงมีท่อน้ำท่ออาหารเชื่อมต่อกัน

2.3.2 ขั้นตอนหลักในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ขั้นตอนการเตรียมต้นแม่พันธุ์ (Preparative stage) การเพาะเลี้ยงต้นแม่พันธุ์ (Stock plant) ที่ต้องการในสภาพแวดล้อมที่ค่อนข้างสะอาด เพื่อจะได้ต้นแม่พันธุ์ที่สะอาด และสมบูรณ์เต็มที่

ขั้นตอนเริ่มต้น (Initiation stage) การนำชิ้นส่วนของพืชที่เตรียมความพร้อมในขั้นตอนการเตรียมต้นแม่พันธุ์มาทำการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดอยู่กับผิวพืช แล้วทำการผ่าตัดเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อภายในตู้ปลอดเชื้อ ย้ายเนื้อเยื่อ เลี้ยงบนอาหารวิทยาศาสตร์ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จนได้ต้นพืชที่ต้องการ

ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณ (Multiplication) เมื่อเนื้อเยื่อพืชในขั้นตอนที่ 2 โตพอสมควรแล้ว จะทำการเพิ่มปริมาณโดยการตัดแบ่งเนื้อเยื่อของออกเป็นชิ้น และแยกไปเลี้ยงในอาหารใหม่ เรียกว่า การตัดแบ่ง (Sub cultures) ทำการตัดแบ่งไปได้เรื่อย ๆ จนกว่าจะได้ปริมาณที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการชักนำให้เกิดราก (Root induction) ต้นกล้ามีปริมาณตามจำนวนที่ต้องการแล้วจะทำการชักนำให้ออกราก และเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าที่แข็งแรงสมบูรณ์

ขั้นตอนการเตรียมออกขวดและการย้ายออกปลูก (Acclimatization) ต้นกล้าในขวดที่ทำการย้ายออกสู่สภาพภายนอกขวดมักมีเปอร์เซ็นต์รอดต่ำเพราะถูกเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อและถูกเลี้ยงในสภาพที่แสงและอุณหภูมิค่อนข้างต่ำกว่าสภาพภายนอกมาก ดังนั้นก่อนการการย้ายออกนอกขวดเพาะจึงต้องมีการเพิ่มความเข้มแสง ปรับอุณหภูมิ พอต้นกล้ามีความพร้อมแล้วก็ทำการย้ายออกนอกขวดนำไปเลี้ยงในโรงเรือนต่อไป

2.3.3 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญยิ่งต่อความสำเร็จในการขยายพันธุ์พืช การพิจารณาคัดเลือกอาหารเพื่อให้เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และจุดประสงค์การผลิต

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประกอบไปด้วย สารอนินทรีย์ ได้แก่ ธาตุอาหารหลักคือธาตุอาหารที่พืชจำเป็นต้องใช้ในปริมาณมาก เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแตสเซียม กำมะถัน แคลเซียม แมกนีเซียม และธาตุอาหารรองหรือธาตุอาหารที่พืชจำเป็นต้องใช้ในปริมาณน้อย เช่น เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง โมลิบดีนัม โบรอน ไอโอดีน โคบอล คลอรีน นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยสารอินทรีย์ ได้แก่ สารที่มีคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และ ออกซิเจน (O) เช่น น้ำตาล วิตามิน กรดอะมิโน และสารควบคุมการเจริญเติบโต (อรดี, 2542)

ประเภทของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมี 2 ประเภท คือ อาหารแข็ง (Solid medium) กับอาหารเหลว (Liquid medium) อาหารแข็งใช้วุ้น (Agar) ในการปรับสารละลายอาหารให้มีสภาพเป็นของแข็ง ความเข้มข้นของวุ้นที่ใช้กันแพร่หลายและได้ผลดี คือ ร้อยละ 0.8 ของปริมาตรอาหารทั้งหมด ส่วนอาหารเหลวเนื้อเยื่อจะจมหรือแขวนลอยอยู่บนกระดาษกรองที่จุ่มในอาหารเหลวตลอดเวลา เนื้อเยื่อที่จมอยู่ในอาหารเหลวอาจถูกคนที่ความเร็ว 100 - 160 รอบต่อนาที เพื่อช่วยในการเพิ่มอากาศและให้เซลล์กระจายตัวในอาหาร (อรดี, 2542)

2.4 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโต หรือที่เรียกกันทั่วไปว่า ฮอร์โมน จัดเป็นกลุ่มของสารที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันนี้เนื่องจากสามารถใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางและเห็นผลได้ค่อนข้างเด่นชัดโดยใช้ในการติดผล เร่ง หรือ ชะลอการแก่การสุก ซึ่งลักษณะต่างๆ เหล่านี้ถูกควบคุมโดยสารแต่ละชนิดแตกต่างกันไป ดังนั้น ถ้ามีการเลือกใช้ได้อย่างถูกต้องก็จะทำให้สามารถควบคุมการเติบโตของพืชได้ตามต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1 ออกซิน (Auxins) (พีรเดช, 2529)

ออกซินเป็นกลุ่มของสารที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ (Cell enlargement) การแบ่งตัวของเซลล์ในแคมเบียม การขยายขนาดของใบ การเกิดราก การขยายขนาดของผล ป้องกันการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล ยับยั้งการแตกตาข้าง ฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นก็คือ Indole-3-acetic acid (IAA) โดยสร้างมากที่บริเวณปลายยอด ปลายราก ผลอ่อน และบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) อยู่มาก ปริมาณ IAA ภายในเนื้อเยื่อพืชแต่และส่วนมีมากน้อยแตกต่างกันไป โดยจะมีอยู่มากในส่วนที่กำลังเจริญเติบโต การรักษาระดับปริมาณภายในเนื้อเยื่อพืชถูกควบคุมโดยระบบการสร้างและการทำลายพร้อมๆ กันไป ถ้าเป็นเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตจะมีการสร้างมากกว่าการทำลาย และในทางตรงกันข้าม ในเนื้อเยื่อที่มีอายุมากขึ้นจะมีการทำลายมากกว่าการสร้าง สารสังเคราะห์ในกลุ่มออกซินที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), 2 ,4 -Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 4 -Chlorophenoxyacetic acid (4 -CPA) และ Indole-3-butyric acid (IBA) คุณสมบัติที่สำคัญของออกซิน คือ ความสามารถในการกระตุ้นการเกิดราก การเจริญของราก จึงได้มีการนำออกซินมาใช้กับ กิ่งปักชำหรือกิ่งตอนของพืชทั่ว ๆ ไป เพื่อเร่งให้เกิดรากเร็วขึ้นและมากขึ้น นอกจากนี้พืชบางชนิดออกรากได้ยาก แต่ถ้ามีการใช้ออกซินเข้าช่วยก็จะทำให้เกิดรากได้ง่ายขึ้น ผลทางด้านอื่นๆของออกซิน ได้แก่ ป้องกันผลร่วงได้ในพืชหลายชนิด และ การเปลี่ยนเพศดอก

2.4.2 จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) (พีรเดช, 2529)

จิบเบอเรลลินเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการยืดตัวของเซลล์ (Cell elongation) ทำลายการพักตัวของพืช กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิด และยับยั้งการออกดอกของพืชบางชนิด สารกลุ่มนี้มีทั้งที่พืชสร้างขึ้นเอง และเชื้อราบางชนิดสร้างขึ้น ในปัจจุบันพบจิบเบอเรลินทั้งหมด 102 ชนิด โดยที่ทุกชนิดเรียกชื่อเหมือนกัน คือ จิบเบอเรลลิน เอ หรือ GA (Gibberellin A) แต่มีหมายเลขตามหลังตั้งแต่ 1 ถึง 71 เช่น GA3 GA4 GA7 จิบเบอเรลลินที่นำมาใช้มากทางการเกษตร คือ GA3 หรือ Gibberellic acid พืชสามารถสร้าง GA3 ได้โดยมีปริมาณน้อยมาก ซึ่ง GA3 ที่นำมาใช้ทางการเกษตรนั้น ได้มาจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราบางชนิดแล้วสกัด GA3 ออกมา เนื่องจากปัจจุบันยังไม่สามารถสังเคราะห์ GA ได้ด้วยวิธีทางเคมี จิบเบอเรลลินมีคุณสมบัติสำคัญเกี่ยวข้องกับการยืดตัวของเซลล์ ดังนั้นจึงใช้ในการเร่งการเติบโตของพืชทั่วไป ถ้ามีการใช้จิบเบอเรลลินกับพืชเหล่านี้ในระยะต้นกล้า จะทำให้เกิดการยืดตัวของต้นอย่างรวดเร็ว และออกดอกได้ ซึ่งเป็นประโยชน์ในแง่การผลิตเมล็ดพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 ไซโทไคนิน (Cytokinins) (พีรเดช, 2529)

เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช ชะลอการแก่ชราและกระตุ้นการแตกตาข้าง พบมากในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญและในคัพภะ (Embryo) ส่วนใหญ่แล้วไซโทไคนินมีการเคลื่อนย้ายน้อย แต่มีคุณสมบัติสำคัญในการดึงสารอาหารต่างๆ มายังแหล่งที่มีไซโทไคนินสะสมอยู่ (Cytokinin-induced translocation) ฮอร์โมนที่พบในพืช ได้แก่ Zeatin ส่วนสารสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่มไซโทไคนิน ได้แก่ 6-Benzylaminopurine (BA) และ Kinetin คุณสมบัติในการช่วยแบ่งเซลล์ ของไซโทไคนินมีประโยชน์ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นอย่างมาก โดยใช้ผสมเข้าไปในสูตรอาหารเพื่อช่วยการเติบโตของแคลลัสและกระตุ้นให้ก้อนแคลลัส พัฒนากลายเป็นต้นได้ ประโยชน์ทางด้านอื่นของไซโทไคนินมีค่อนข้างจำกัด นอกจากการนำมาใช้เร่งการแตกตาของพืช ซึ่งมีประโยชน์ในด้านการควบคุมทรงพุ่มและเร่งการแตกตาของพืชที่ขยายพันธุ์ด้วยการติดตาแล้ว ไซโทไคนินยังมีคุณสมบัติชะลอการแก่ชราของพืชได้ จึงสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผักกินใบและผลไม้ รวมทั้งดอกไม้ได้หลายชนิด แต่อย่างไรก็ตามเรื่องนี้เป็นเพียงงานทดลองเท่านั้น ยังไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้จริงจัง

2.4.4 เอทิลีน (Ethylene) (พีรเดช, 2529)

เอทิลีนเป็นก๊าซชนิดหนึ่งและจัดเป็นฮอร์โมนพืช เนื่องจากพืชสร้างขึ้นมาได้โดยมีผลควบคุมการแก่ชรา การสุก รวมทั้งการออกดอกของพืชบางชนิด และเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล การเหลืองของใบ การงอกของหัวพืช และเมล็ดพืชบางชนิด เอทิลีนจะสร้างมากในส่วนของพืชที่กำลังเข้าสู่ระยะชราภาพ (Senescence) เช่น ในผลแก่หรือใบแก่ใกล้หลุดร่วง เนื่องจากเอทิลีนเป็นก๊าซ ดังนั้นจึงฟุ้งกระจายไปได้ทั่ว จึงไม่มีการเคลื่อนย้ายเหมือนกับฮอร์โมนในกลุ่มอื่นๆ สารอินทรีย์บางชนิดมีคุณสมบัติคล้ายเอทิลีน เช่น อะเซทิลีน (Acetylene) โปรปลีน (Propylene) ดังนั้น จึงอาจนำสารเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร เช่น การใช้อะเซทิลีนในการบ่มผลไม้ และเร่งการออกดอกของสับปะรด แต่เนื่องจากสารที่กล่าวมานี้เป็นก๊าซ จึงมีความยุ่งยากในการใช้ และไม่สามารถควบคุมความเข้มข้นได้แน่นอน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในแปลงปลูกพืช ดังนั้น จึงได้มีการสังเคราะห์สารบางชนิด ซึ่งเป็นของเหลวแต่สามารถปลดปล่อยหรือสลายตัวได้ก๊าซเอทิลีน ซึ่งได้แก่ เอทีฟอน (Ethephon) และสารจัดว่าเป็นสารที่นำมาใช้ประโยชน์มากที่สุดในโลกชนิดหนึ่ง ในปัจจุบันนี้นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมสับปะรดโดยใช้เพื่อบังคับให้สับปะรดออกดอกสม่ำเสมอทั้งแปลง

2.4.5 สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth retardants) (พีรเดช, 2529)

สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช สารกลุ่มนี้ไม่จัดเป็นฮอร์โมนพืช แต่เป็นสารสังเคราะห์ทั้งหมด มีคุณสมบัติสำคัญ คือ ยับยั้งการสร้างหรือยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนจิบเบอเรลลินในพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จึงมีผลลดการยืดตัวของเซลล์ ทำให้ปล้องสั้น ใบหนา เขียวเข้ม กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิด และมีคุณสมบัติอื่น ๆ ได้แก่ ทำให้พืชทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ร้อนจัด เย็นจัด ดินแห้ง ดินเกลือ เพิ่มผลผลิตพืชบางชนิด เพิ่มการติดผลของพืชบางชนิด สารชะลอการเจริญเติบโตที่สำคัญ ได้แก่ แอนซิมิดอล (Ancymidol) คลอมีควอท (Chlormequat) แดมิโนไซด์ (daminozide) และ พาโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol) สารชะลอการเจริญเติบโตของพืชมีผลยับยั้งจิบเบอเรลลิน ดังนั้น ลักษณะใดก็ตามที่ถูกควบคุมโดยจิบเบอเรลลิน ก็สามารถเปลี่ยนแปลงได้โดยการใช้สารชะลอการเจริญเติบโต คุณสมบัติสำคัญของสารกลุ่มนี้คือ ยับยั้งการยืดตัวของปล้อง ทำให้ต้นเตี้ย กะทัดรัด จึงมีประโยชน์มากในการผลิตไม้กระถางประดับเพื่อให้มีทรงพุ่มสวยงาม (Compact) และยังมีประโยชน์สำหรับการผลิตไม้ผลโดยระบบปลูกชิด (High density planting) คุณสมบัติอีกประการหนึ่งของสารคือ ทำให้พืชทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ดังนั้น จึงอาจใช้เพิ่มผลผลิตพืชบางชนิดที่ปลูกในสภาพดังกล่าวได้ เช่น แดมิโนไซด์ (Daminozide) สามารถเพิ่มผลผลิตผักกาดขาวปลี และผักกาดเขียวปลี ซึ่งปลูกในฤดูร้อนได้ ประโยชน์ที่สำคัญของสารชะลอการเจริญเติบโต คือ สามารถเร่งดอกไม้ผลบางชนิดได้ เช่น การใช้แพคโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol) กับมะม่วงและมะนาวทำให้มีช่อดอกมากขึ้น และการออกนอกฤดูกาลปกติทั้งนี้เนื่องจากสารชะลอการเจริญเติบโตมีผลลดปริมาณจิบเบอเรลลินภายในต้น ซึ่งจิบเบอเรลลินมีผลยับยั้งการออกดอก ดังนั้นเมื่อ จิบเบอเรลลิน น้อยลงกว่าปกติจึงทำให้ไม้ผลเหล่านี้ออกดอกได้

2.4.6 สารยับยั้งการเจริญเติบโต (Plant growth inhibitors) (พีรเดช, 2529)

สารยับยั้งการเจริญเติบโต สารกลุ่มนี้มีหน้าที่ในการถ่วงดุลกับสารเร่งการเติบโตพวกออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโทไคนิน เพื่อให้การเติบโตเป็นไปอย่างพอเหมาะพอดี ส่วนใหญ่มีหน้าที่ยับยั้งการแบ่งเซลล์ และการเติบโตของเซลล์ ทำให้เกิดการพักตัว (Dormancy) และเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของอวัยวะพืช ฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีพบในพืชมากกว่า 200 ชนิด แต่ที่สำคัญที่สุด และรู้จักกันดี คือ ABA (Abscisic acid) ในทางการเกษตรมีการใช้ประโยชน์จากสารกลุ่มนี้น้อยมาก อย่างไรก็ตามมีการใช้สารสังเคราะห์เพื่อประโยชน์บางอย่างเช่นยับยั้งการงอกของหัวมันฝรั่ง และหอมหัวใหญ่ ระหว่างการเก็บรักษา ใช้แทนการเด็ดยอด (Pinching) เพื่อกระตุ้นให้แตกตาข้าง รวมทั้งยับยั้งการเติบโตทางกิ่งใบ ซึ่งมีผลในการกระตุ้นดอกได้ในพืชบางชนิด สารสังเคราะห์ที่สำคัญได้แก่ คลอฟลูรินอล (Chlorflurenol) ไดกูแลก โซเดียม (Dikegulac sodium) มาเลอิกไฮดราไซด์ (Maleic hydrazide) และ TIBA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.7 สารอื่นๆ (Miscellaneous) (พีรเดช, 2529)

เป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติแตกต่างจากทั้ง 6 กลุ่มที่กล่าวมาข้างต้น ส่วนใหญ่ใช้เพื่อประโยชน์เฉพาะอย่าง เช่น เพิ่มผลผลิต ขยายขนาดผล ป้องกันผลร่วง ช่วยในการแบ่งเซลล์ อย่างไรก็ตาม ยังจัดว่ามีประโยชน์ค่อนข้างน้อย และการใช้ยังไม่กว้างขวาง สารในกลุ่มนี้ได้แก่ เออร์โกสติม และ อโทนิก เป็นต้น

2.5 การผลิตสารทุติยภูมิโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

2.5.1 สารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) (ศุภวรรณ, 2549)

สารทุติยภูมิ หมายถึง สารเคมีที่พืชสร้างขึ้นตามธรรมชาติ โดยไม่ได้มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช แต่มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืช สารเคมีเหล่านี้จะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืชซึ่งมีลักษณะเฉพาะตัวของพืชนั้นๆ ในธรรมชาติสารทุติยภูมิจะทำหน้าที่ในการป้องกันพืชจากการถูกทำลายโดยศัตรูพืช ได้แก่ จุลินทรีย์ แมลง หรือ สัตว์ต่างๆ ส่วนใหญ่เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารกลุ่ม Alkaloids, Glycosides, และ Volatile oils เป็นต้น ด้วยสรรพคุณที่มีประโยชน์ จึงมีการเพาะเลี้ยงพืชเหล่านี้เพื่อนำมาสกัดแยกสารทุติยภูมิเหล่านี้ไปใช้ทางเภสัชกรรม

2.5.2 การผลิตสารทุติยภูมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ศุภวรรณ, 2549)

รูปแบบและวิธีการผลิตสารทุติยภูมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายวิธี เช่น เซลล์ตรึง การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย การเพาะเลี้ยงรากพืชแบบเขย่า และการเติมสารกระตุ้น

เซลล์ตรึง เป็นการตรึงเซลล์ให้อยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน ด้วยใช้สารต่างๆ ห่อหุ้มเซลล์ไว้ เช่น Gel entrapment, Biofilms, Adsorption และ Film immobilization โดยวิธีนี้ทำให้เซลล์ที่ถูกตรึงนั้นมีลักษณะเป็นอวัยวะหนึ่งๆ หรือเซลล์มีความจำเพาะเพิ่มขึ้น (Differentiated cells) ซึ่งอาจส่งผลต่อการผลิตสารทุติยภูมิได้คล้ายคลึงกับต้นในธรรมชาติ โดยวิธี Gel entrapment โดยใช้แคลเซียมแอลจิเนต เป็นวิธีตรึงเซลล์ที่ได้รับความนิยมมากที่สุด

การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย โดยปกติเซลล์เพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยจะมีการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว แต่ความสามารถในการผลิตสารทุติยภูมิอาจลดลง ดังนั้นการรักษาลักษณะที่เป็น Differentiated cells โดยการเปลี่ยนแปลงสัณฐานของเนื้อเยื่อให้กลายเป็นอวัยวะที่สร้างหรือสะสมสารทุติยภูมิที่ต้องการ จะสามารถเพิ่มการผลิตสารทุติยภูมิจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ อวัยวะเพาะเลี้ยงที่เกิดขึ้นนี้ เรียกว่า Organized plant culture ซึ่งส่วนใหญ่นิยมเปลี่ยนแปลงเซลล์ให้มีลักษณะเป็นยอดหรือรากเพิ่มขึ้น โดยขึ้นอยู่กับว่าสารทุติยภูมิที่ต้องการนั้นมีการสร้างหรือสะสมที่อวัยวะใด วิธีการนี้เรียกว่า Organogenesis ซึ่งสามารถทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงรากแบบเขย่า (รูปที่ 2.7) คือการนำรากมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวปลอดเชื้อภายใต้สภาวะควบคุม โดยอาศัยการเขย่าช่วยให้รากแขวนลอยอยู่ในอาหาร การเพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคนี้รากพืชจะสัมผัสอาหารโดยตรงทำให้เซลล์มีดัชนีการเจริญเติบโตสูง เพราะว่าพืชสามารถรับธาตุอาหารและอากาศได้อย่างดี นอกจากนี้ยังเป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการนำไปพัฒนาการเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพรเพื่อการผลิตสารทุติยภูมิ เช่น สารที่มีฤทธิ์ทางยา กลิ่นรส และ น้ำหอม เนื่องจากเป็นการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะควบคุมจึงสามารถจัดการปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชและการผลิตสารทุติยภูมิได้ เช่น องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ปริมาณแสงที่จะได้รับต่อวัน เป็นการลดปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ไม่ขึ้นกับฤดูกาล จึงสามารถเพาะเลี้ยงได้ตลอดทั้งปี โดยที่พืชเจริญเติบโตได้เร็วและผลิตสารทุติยภูมิต่อเนื่องและยั่งยืน

รูปที่ 2.7 การเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่า

การเติมสารกระตุ้น (Elicitation) คือการเติมสารซึ่งมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์สารทุติยภูมิได้ พบว่าภายหลังการเติมสารเหล่านี้ลงไปในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแล้ว จะส่งผลต่อการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์หลักที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารทุติยภูมินั้นเพิ่มขึ้นด้วย จึงสามารถเพิ่มการผลิตของสารทุติยภูมิได้ โดยสารกระตุ้น สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ สารกระตุ้นจากสิ่งมีชีวิต (Biotic elicitor) ได้แก่ เซลล์จุลินทรีย์ สารสกัดจากสิ่งมีชีวิต หรือส่วนต่างๆของจุลชีพ และประเภทที่สอง คือ สารกระตุ้นจากสิ่งไม่มีชีวิต (Abiotic elicitor) ได้แก่ อุณหภูมิ รังสี และเกลือของโลหะหนัก

2.5.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร (ศุภวรรณ, 2549)

การที่พืชจะเจริญเติบโตจนสามารถผลิตสารทุติยภูมิได้นั้นมีปัจจัยที่สำคัญหลายประการ ทั้งปัจจัยภายนอก และ ปัจจัยภายใน ล้วนแล้วแต่มีความจำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพรปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงพืช ได้แก่ แสงสว่าง โดยการให้แสงสว่างนั้นไม่ได้มีเป้าหมายเพื่อให้พืชเกิดการสังเคราะห์ด้วยแสง แต่เพื่อช่วยควบคุมการเกิดลักษณะทางสัณฐาน โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องคำนึงถึงความเข้มของแสง ระยะเวลาการให้แสง และคุณภาพของแสง นอกจากนี้ยังมีปัจจัยในเรื่องของอุณหภูมิ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืชนั้น ๆ โดยปกติจะอยู่ในช่วง 25±2 องศาเซลเซียส

ปัจจัยภายในที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยง ได้แก่ ชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง โดยชิ้นส่วนพืชของพืชต้องมีขนาดที่เหมาะสม เพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและลดโอกาสติดเชื้อจุลินทรีย์ ควรเป็นเนื้อเยื่อเจริญ ได้แก่ ปลายยอด และ ปลายราก และจะต้องผ่านการฆ่าเชื้อที่พื้นผิวพืชก่อนที่จะนำมาเพาะเลี้ยง ปัจจัยต่อมาที่มีผลต่อการเจริญของพืช คือ อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงพืช โดยอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงนั้นมี 2 ประเภท ได้แก่ อาหารแข็ง ซึ่งเหมาะสำหรับเพาะเลี้ยงแคลลัส และ อวัยวะต่างๆ และอาหารเหลว ซึ่งเหมาะสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย โดยอาหารทั้งสองประเภท จะประกอบไปด้วยสารอาหาร แร่ธาตุ และสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยมีการควบคุมสภาพความเป็นกรดด่าง ให้อยู่ในช่วง 5.0-6.0

2.6 การปลูกพืชไร้ดิน หรือ ไฮโดรโปนิกส์ (Hydroponics)

2.6.1 ความหมาย (ธรรมศักดิ์ และ จตุรงค์, 2554)

การปลูกพืชโดยไร้ดิน หรือที่มักเรียกกันในปัจจุบันว่า “ไฮโดรโปนิกส์” หรือ Soilless culture เป็นการปลูกพืชโดยใช้วัสดุที่ไม่ใช่ดิน พืชจะได้รับน้ำและอาหารที่ต้องการจากสารละลายธาตุอาหารที่ผู้ปลูกเป็นผู้ให้กับพืชเท่านั้น ดินในที่นี้ หมายถึงดินชนิดต่าง ๆ รวมถึงอินทรียวัตถุทั้งหลายที่มีแร่ธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์แก่พืช เช่น ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสด กากน้ำตาล กากของเสียบางชนิด ฯลฯ ส่วนวัสดุที่ไม่ใช่ดิน ได้แก่ วัสดุใดๆ ที่ไม่มีแร่ธาตุอาหารเจือปนอยู่ มีทั้งวัสดุจากธรรมชาติ เช่น ทราย กรวด น้ำ ขุยมะพร้าว แกลบ และวัสดุที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น แร่ใยหิน พูไมซ์ เพอร์ไรท์ เวอร์มิคูไลท์ และ เม็ดดินเผา ดังนั้นการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินจึงเป็นการปลูกพืชในลักษณะที่ผู้ปลูกสามารถควบคุมปริมาณน้ำและแร่ธาตุอาหารให้กับพืชได้อย่างสมบูรณ์

2.6.2 รูปแบบการปลูกพืชไร้ดิน (ธรรมศักดิ์ และ จตุรงค์, 2554)

การปลูกพืชไร้ดิน มี 3 รูปแบบ

1. การปลูกในสารละลาย (Water culture) เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมาก เนื่องจากมีการจัดการที่ไม่ยุ่งยากและพืชสามารถเจริญเติบโตได้ดี ด้วยการนำรากพืชจุ่มแช่อยู่ในสารละลายโดยตรง ทั้งนี้รากพืชสามารถทำงานได้ 2 หน้าที่พร้อมกัน คือ ดูดออกซิเจน และดูดอาหาร ส่วนที่ดูดออกซิเจนอยู่บริเวณโคนราก ซึ่งจะสัมผัสกับอากาศโดยตรง ส่วนปลายรากจะทำหน้าที่ดูดอาหาร สามารถแบ่งได้ 2 วิธี

1.1 แบบสารละลายไม่หมุนเวียน โดยสามารถปลูกพืชแล้วให้มีส่วนที่เป็นท่อนำสารละลายมาสัมผัสกับรากพืชโดยตรงและไม่มีการหมุนเวียนของสารละลาย วิธีนี้มีทั้งแบบเติมอากาศและไม่เติมอากาศ เหมาะสำหรับการศึกษาพืชในระยะแรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 แบบสารละลายหมุนเวียน โดยใช้ปั๊มในการทำให้สารละลายมีการไหลเป็นการเพิ่มออกซิเจนแก่รากพืชโดยตรง และช่วยมิให้แร่ธาตุอาหารต่าง ๆ เกิดการตกตะกอน ต้นพืชจึงได้รับธาตุอาหารอย่างเต็มที่ ระบบนี้เหมาะสำหรับปลูกพืชเชิงการค้า

2. การปลูกให้รากลอยอยู่กลางอากาศ (Aeroponics) เป็นการปลูกพืชโดยส่วนรากลอยอยู่บนอากาศและฉีดสารละลายธาตุอาหารเป็นฝอยไปที่รากพืชโดยตรงเป็นช่วงเวลา พืชในระบบนี้มีการเจริญดี เนื่องจากรากพืชไม่มีผลกระทบกระเทือนและไม่มีสิ่งกีดขวางเหมือนในดิน ทำให้การแพร่กระจายของรากดี รากได้รับอากาศเต็มที่ วิธีนี้เหมาะสำหรับงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตหรือปัจจัยที่มีผลต่อราก เพราะเห็นการพัฒนาของรากได้ตลอดแต่ต้องลงทุนค่าใช้จ่ายในด้านวัสดุอุปกรณ์ค่อนข้างสูง จึงไม่เหมาะสมจะปลูกเป็นการค้า

3. การปลูกแบบปลูกในวัสดุปลูก (Substrate culture) เป็นการปลูกโดยใช้วัสดุปลูกทำหน้าที่แทนดิน สำหรับให้รากยึดและค้ำจุนต้นพืช วัสดุปลูกที่นิยมใช้มักมีความเป็นกลางไม่มีธาตุอาหารไม่เป็นอันตรายต่อการเจริญเติบโตของพืช และหาได้ง่าย เช่น แกลบ ขุยมะพร้าว ขี้เลื่อย เปลือกไม้ ทราย กรวด ใยหิน เพอร์ไลท์ และ เวอร์มิคิวไลท์

2.6.3 ข้อดีและข้อเสียของการปลูกพืชไร้ดิน (ธรรมศักดิ์ และ จตุรงค์, 2554)

ข้อดีของการปลูกพืชไร้ดิน

1. สามารถปลูกพืชในสถานที่ที่ดินอาจไม่เหมาะสมต่อการการปลูกพืช เช่น ดินกรดจัด ดินเค็มจัด ดินเสื่อมโทรมขาดความอุดมสมบูรณ์ หรือพื้นที่ที่ไม่มีดิน เช่น พื้นคอนกรีต ดาดฟ้า หลังคาตึก

2. สามารถปลูกพืชได้จำนวนต้นต่อพื้นที่มากโดยไม่ต้องคำนึงถึงความอุดมสมบูรณ์ของดิน

3. พืชสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากได้รับน้ำและอาหารอย่างเพียงพอและตลอดเวลา

4. ผลผลิตที่ได้สะอาดและมีคุณภาพ เนื่องจากมีการควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยงปราศจากดินจึงไม่มีสารเคมีและยาฆ่าแมลงตกค้างและการไม่ใช้ดินส่งผลให้พืชได้รับผลกระทบจากโรคและแมลงน้อย สามารถลดการใช้สารเคมีลงได้ การควบคุมสารอาหารต่าง ๆ ทำให้พืชเจริญเติบโตอย่างสม่ำเสมอ และน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเป็นน้ำสะอาดจึงสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ลงได้

5. เป็นวิธีการปลูกพืชที่ไม่ต้องมีการเตรียมดิน ใส่ปุ๋ย ฉีดยา ทำให้ประหยัดค่าแรงและเวลาในส่วนนี้

6. เป็นวิธีที่สามารถปลูกพืชได้ตลอดทั้งปี และปลูกพืชรุ่นใหม่ต่อได้ทันทีและต่อเนื่อง

7. เป็นวิธีการปลูกพืชที่ช่วยประหยัดทรัพยากรน้ำและปุ๋ย เนื่องจากสามารถนำกลับมาใช้ได้ในระยะหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสียของการปลูกพืชไร้ดิน

1. เป็นวิธีการที่ลงทุนสูงในระยะแรก

2. สิ้นเปลืองพลังงาน เนื่องจากต้องให้พลังงานไฟฟ้าในการทำงานของระบบ

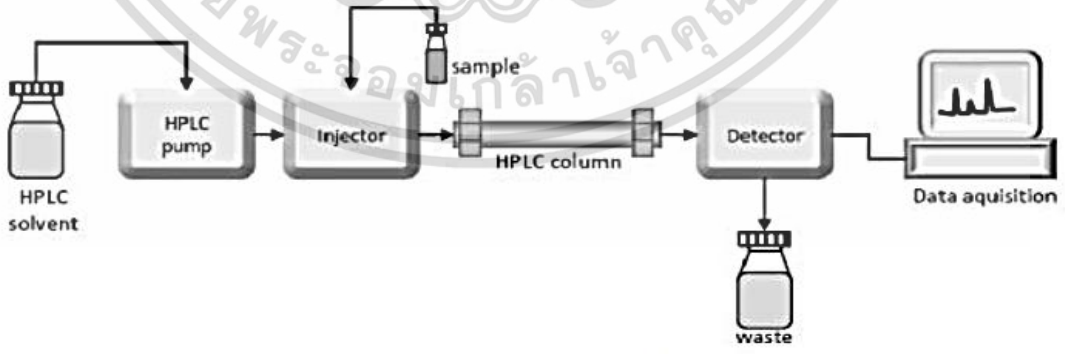
3. ต้องใช้บุคลากรที่มีความรู้ ความชำนาญ และประสบการณ์ ในการดูแลรักษา

4. เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมจากการใช้พลังงานไฟฟ้า และ วัสดุปลูกบางชนิดที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ

2.7 โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

2.7.1 หลักการทำงาน (พัฒนา, 2554)

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) เป็นเครื่องมือใช้สำหรับแยกสารประกอบ ที่สนใจที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดยกระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสคงที่ กับ เฟสเคลื่อนที่ สารจะถูกแยกออกมาในเวลาที่ต่างกัน ซึ่งสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับเฟสเคลื่อนที่ หรือ เฟสคงที่ สารที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสเคลื่อนที่จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสเคลื่อนที่ หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสคงที่ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณแสดงผลในลักษณะเป็นพีค ซึ่งเรียกว่า โครมาโทแกรม ระยะเวลาที่สารแต่ละชนิดถูกหน่วงเหนี่ยวไว้กับเฟสคงที่ (Retention time) หรือตำแหน่งของพีคที่ปรากฏบนโครมาโทแกรมสามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ และพื้นที่ใต้พีค หรือความสูงของพีคใช้ประโยชน์ด้านการวิเคราะห์เชิงปริมาณ แผนผังของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 แผนผังของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

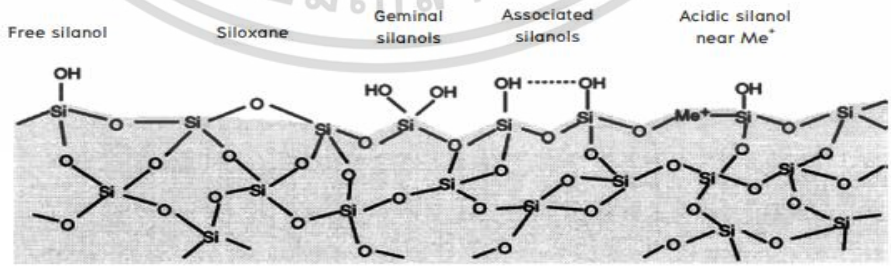
2.7.2 องค์ประกอบที่สำคัญ (พัฒนา, 2554)

แหล่งเก็บตัวทำละลาย (Solvent reservoir) ใช้เป็นที่เก็บตัวทำละลาย ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ เพื่อใช้เป็นตัวพาสารตัวอย่างผ่านคอลัมน์ ตัวทำละลายที่ใช้จะต้องมีความบริสุทธิ์สูง สามารถละลายตัวอย่างได้ดี มีความเหมาะสมกับหน่วยตรวจวัดสัญญาณที่ใช้ และต้องปราศจากฝุ่นและแก๊ส เพื่อป้องกันไม่ให้อนุภาคแปลกปลอมเข้าสู่ตัวปั๊ม ซึ่งมีผลกระทบต่อการทำงานของปั๊มได้ จึงจำเป็นต้องมีอุปกรณ์ในการกรอง

ปั๊ม (Pump) ทำหน้าที่พาตัวทำละลายให้เข้าไปในคอลัมน์ด้วยอัตราเร็วต่าง ๆ กัน โดยปกติความดันที่ใช้จะประมาณ 100 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (Pound per square inch : psi) และมีอัตราการไหลของตัวทำละลายผ่านคอลัมน์ในช่วง 0.5-2.0 มิลลิลิตรต่อนาที การพัฒนาปั๊มให้มีประสิทธิภาพถือเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการพัฒนาระบบ HPLC ลักษณะของปั๊มที่ดีต้องควบคุมอัตราการไหลหรือความดันของตัวทำละลายให้คงที่ เพื่อป้องกันการเกิดพัลส์ (Pulse) มีความเฉื่อยต่อสารเคมีเพื่อให้ใช้ได้กับตัวทำละลายที่เป็นทั้งสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ ทำให้สามารถทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างได้หลายชนิด

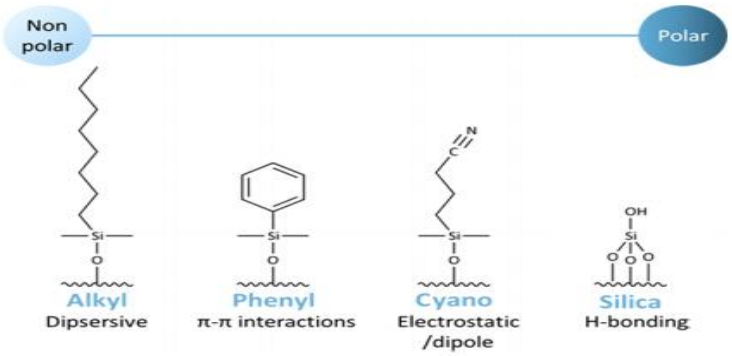
ระบบฉีดสารตัวอย่าง (Injection system) การฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ HPLC ในปัจจุบันจะฉีดสารตัวอย่างด้วยระบบอัตโนมัติที่มีปริมาตรเท่ากัน สารตัวอย่างเข้าสู่กระแสของเฟสเคลื่อนที่แล้วเกิดการแยกในคอลัมน์

คอลัมน์ (Column) คอลัมน์ส่วนมากทำด้วยเหล็กกล้าไร้สนิม บรรจุด้วยอนุภาคชนิดต่าง ๆ ที่เฉพาะสำหรับการวิเคราะห์ ระบบ HPLC ดั้งเดิมมักใช้เฟสคงที่ เป็นอนุภาคพวกซิลิกา หรืออะลูมินา ซึ่งพื้นผิวของอนุภาคเหล่านี้มีสภาพขั้ว (รูปที่ 2.9) สำหรับ HPLC ระบบใหม่นิยมใช้อนุภาคที่เป็น Bonded phase ชนิด Reversed phase ซึ่งผิวของอนุภาคซึ่งสามารถจะเรียงสภาพขั้ว ได้ดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.9 เฟสคงที่ซิลิกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.10 การเรียงสภาพขั้วของคอลัมน์

การ์ดคอลัมน์ (Guard column) มีลักษณะเป็นคอลัมน์สั้น ๆ ต่ออยู่ด้านหน้าของคอลัมน์ที่ใช้แยกสาร เพื่อเป็นตัวป้องกันคอลัมน์ที่ใช้แยกสาร มิให้ถูกกระทบกระแทกจากเฟสเคลื่อนที่และสารละลายตัวอย่างมากเกินไป รวมถึงใช้เป็นตัวดักจับสิ่งสกปรกต่าง ๆ ซึ่งอาจทำให้อนุภาคในคอลัมน์ที่ใช้แยกสารเสื่อมสมรรถนะได้

หน่วยตรวจวัดสัญญาณ (Detector) มีหลายประเภท การเลือกใช้หน่วยตรวจวัดชนิดใดขึ้นอยู่กับชนิดของสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ หน่วยตรวจวัดสัญญาณจะทำให้ทราบข้อมูลของพีคต่าง ๆ ในยูวีสเปกตรัมที่อยู่ในโครมาโทแกรมได้อย่างดี และข้อมูลต่าง ๆ เหล่านี้ยังสามารถเก็บเข้าไว้ได้ในคอมพิวเตอร์ ซึ่งสามารถนำออกมาใช้เมื่อไรก็ได้ ในการตรวจหาสารประกอบที่อยู่ในสารตัวอย่างว่าเป็นอะไรนั้น อาจนำไปเปรียบเทียบกับสารประกอบที่คิดว่าน่าจะเป็นไปได้ นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จากสเปกตรัมยังใช้ตรวจหาสารเจือปนได้อีกด้วย

เครื่องบันทึกสัญญาณ (Recorder) เป็นหน่วยหนึ่งซึ่งทำหน้าที่แปลสัญญาณจากหน่วยตรวจวัดให้ออกมาเป็นโครมาโทแกรม เพื่อสามารถหาพื้นที่ และ เวลารีเทนชันได้ ดั้งเดิมใช้อินทิเกรเตอร์แบบอัตโนมัติในการบ่งบอกพื้นที่ พีค และปริมาณสารที่ตรวจวัดได้ ปัจจุบันได้มีการพัฒนาระบบโดยนำเอาคอมพิวเตอร์เข้ามาควบคุมการทำงานส่วนต่าง ๆ ของเครื่อง เช่น ระบบการนำเฟสเคลื่อนที่ ผ่านคอลัมน์ ระบบฉีดสารมาตรฐานและฉีดสารตัวอย่าง ระบบการตรวจวัด และมีการประมวลผลแบบอัตโนมัติ ทำให้มีการทำงานสะดวกสบายมากขึ้น

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.8.1 การฟอกฆ่าเชื้อ

Yildiz and Er (2002) ได้ทำการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดของต้น *Linum usitatissimum* ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite, NaOCl) ความเข้มข้นร้อยละ 40 60 และ 80 และอุณหภูมิของสารละลายที่แตกต่างกัน คือ 0 10 20 และ 30 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ต่อการงอกของเมล็ด การรอดชีวิต และการเจริญเติบโตไปเป็นต้น ผลการศึกษาพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และอุณหภูมิของสารละลายมีผลต่อการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโต และการเกิดยอดใหม่ โดยสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น ร้อยละ 40 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

Yildiz *et al.* (2012) ได้รายงานว่า ถึงแม้ว่าจะมีสารเคมีหลายชนิดที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช เช่น เอทานอล เมอร์คิวริกคลอไรด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซิลเวอร์ไนเตรต และยาปฏิชีวนะ แต่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เป็นที่นิยมและแพร่หลายมากที่สุด เนื่องจาก มีคุณสมบัติในการออกซิไดซ์ที่แรง ซึ่งทำให้มีปฏิกิริยาสูงต่อ กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิก เอมีน และ เอไมด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบในเซลล์จุลลินทรีย์ ด้วยเหตุนี้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ จึงมีประสิทธิภาพสูงในการต่อต้านแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส

สกุลณา และคณะ (2556) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหม่อนในหลอดทดลอง ได้ทำการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน ด้วยไฮเตอร์ ความเข้มข้น ร้อยละ 20 ที่ระยะเวลาในการเขย่า 20 30 40 50 และ 60 นาที ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้นร้อยละ 20 ที่ระยะเวลาการเขย่า 40 และ 50 นาที มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ โดยชิ้นส่วนตาข้างของหม่อนที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ระยะเวลานี้มีการรอดชีวิตสูงถึงร้อยละ 75 และพบการเกิดเป็นยอดใหม่ภายหลังการเพาะเลี้ยง 2 สัปดาห์

2.8.2 การชักนำให้เกิดยอด

Anis *et al*. (2003) ได้ทำการค้นหาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงต้นหม่อน (*Morus alba* L.) เพื่อการชักนำให้เกิดยอด โดยศึกษา สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนิน ได้แก่ BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 2 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญในกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน เนื่องจากมีร้อยละการเกิดยอดสูงและมีจำนวนยอดต่อตาข้างมากที่สุด (6.4 ยอด)

Sajeevan *et al*. (2011) การศึกษาการเกิดยอดในหลอดทดลองอย่างมีประสิทธิภาพของ *Morus alba* L variety V1 ในการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดยอด โดยใช้อาหารแข็ง MS เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนิน (BA TDZ) ร่วมกับ NAA ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน พบว่าสูตรอาหารที่ให้จำนวนยอดมากที่สุด (7.33±0.33 ยอด) คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

Akram and Aftab (2012) ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างหม่อน (*Morus macroura* Miq.) ด้วยการเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 2 4 8 10 หรือ 12 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 2 หรือ 3 ไมโครโมลาร์ พบว่า ที่ BA ความเข้นข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 หรือ 3 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ ร้อยละ 100 ในเวลา 6 วัน

Aroonpong and Chang (2015) ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน โดยพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ตาข้างพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ แต่การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นร่วมกับ BA สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของ BA ให้สูงขึ้นได้

2.8.3 การชักนำให้เกิดราก

Sugiyama (1999) รายงานว่า ความเข้มข้นของออกซินต่ำจะส่งผลต่อการชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าความเข้มข้นสูง นอกไปจากนี้ในสูตรอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินความเข้มข้นสูงๆ จะพบร้อยละการเกิดแคลลัสสูง มีการรวมกลุ่มของแคลลัสที่บริเวณโคนต้น

Bhau and Wakhlu (2001) การศึกษาผลของจีโนไทป์ ชนิดของชิ้นส่วนพืช และสารควบคุมการเจริญเติบโต ต่อการเกิดอวัยวะของต้นหม่อน (*Morus alba*) ในการศึกษาการชักนำให้เกิดราก จากนส่วนตาข้างของหม่อนขนาด 1-1.5 เซนติเมตร ที่เกิดภายในหลอดทดลอง ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ได้แก่ IAA (0.5 1.0 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) IBA (0.5 1.0 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ NAA (0.5 1.0 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเจริญราก (ร้อยละ 80) และความยาวราก (1.5 เซนติเมตร) สูงที่สุด

Ali *et al.* (2009) มีรายงานว่าร้อยละการเกิดรากมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินสูงขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อร้อยละการเกิดรากอยู่ในจุดสูงสุดแล้ว การเพิ่มความเข้มข้นของออกซินจะเป็นการยับยั้งการเกิดราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Akram and Aftab (2012) ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากยอดหม่อน (*Morus macroura* Miq.) ที่เกิดภายในหลอดทดลอง โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร MS และอาหาร MS ที่เจือจาง 1/2เท่า ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 2 หรือ 4 ไมโครโมลาร์ ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 25 วัน พบว่า อาหาร MS ที่เจือจาง 1/2เท่า และเสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลาร์ มีร้อยละการเกิดรากสูงสุด คือ ร้อยละ 85 นอกจากนี้ที่อาหารสูตรนี้ ยังพบการเกิดรากจำนวนมาก ความยาวรากสูงสุด และ ต้นหม่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงนี้เมื่อนำปรับสภาพและออกปลูก พบอัตราการรอดชีวิตสูงถึง ร้อยละ 65

Aroonpong and Chang (2015) ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของหม่อน โดยพบว่าร้อยละการเกิดรากสูงสุดอยู่ที่ ร้อยละ 90 ในสูตรอาหารแข็ง MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ภายหลังการเพาะเลี้ยง 30 วัน เมื่อทำการปรับสภาพเตรียมออกปลูกพบว่ามีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง ร้อยละ 94 พวกเขารายงานว่า ความเข้มข้นของออกซินที่สูงเกินไป มีส่วนช่วยในการส่งเสริมให้เกิดแคลลัสบริเวณโคนของยอดหม่อนจึงยับยั้งการเกิดราก

Elmongy *et al.* (2018) ที่ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากยอดของต้น Azalea พบว่า รากที่เกิดจากสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ให้รากที่มีความยาวและแข็งแรง ในขณะที่รากที่เกิดจากสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA มีลักษณะสั้น จำนวนรากน้อยและเปราะขาดง่าย ทั้งนี้เป็นผลมาจากความเข้มข้นของ NAA ขึ้น จึงส่งผลให้ยับยั้งการยืดยาวของราก จึงทำให้รากที่เกิดขึ้นมีลักษณะดังที่กล่าวไปข้างต้น

2.8.4 การชักนำให้เกิดแคลลัส

Bhau and Wakhlu. (2001) ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบข้อ และก้านใบ จากต้นหม่อน (*Morus alba)* โดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BA พบว่า ใบเป็นชิ้นส่วนที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด และในสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มากถึงร้อยละ 100

Muthi'ah *et al.*, (2023) ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสของต้น *Calotropis gigantea* ซึ่งเป็นพืชที่มีฤทธิ์ทางยา โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า อาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 ppm และ 2,4-D ความเข้มข้น 1.5 ppm สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายใน 6 วัน หลังการเพาะเลี้ยง และสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 1.5 ppm และ 2,4-D ความเข้มข้น 1.5 ppm ช่วยส่งเสริมลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัส โดยพบว่าแคลลัสที่เกิดจากอาหารสูตรนี้ มีสีเขียว และเซลล์ของแคลลัสมีการเกาะกลุ่มกันอย่างแน่นหนา (Compact callus)

2.8.5 การเพาะเลี้ยงรากแบบเขย่า

Flores *et al.* (1987) รายงานว่า รากพืชเป็นแหล่งของสารทุติยภูมิที่มีประโยชน์ ไม่ว่าเป็น สารออกฤทธิ์ทางยา น้ำหอม และสารให้กลิ่นรส สารเหล่านี้ล้วนเป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรมต่างๆ และมีราคาแพง การเพาะเลี้ยงรากในธรรมชาติใช้เวลานาน และมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการสะสมสารทุติยภูมิในรากพืช ดังนั้นการเพาะเลี้ยงรากในหลอดทดลองจึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตราก เพื่อเป็นแหล่งของสารทุติยภูมิที่ยั่งยืน โดยทำการเพาะเลี้ยงรากในอาหารวิทยาศาสตร์ ภายใต้สภาวะควบคุม เพื่อให้เหมสะสมต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมสารทุติยภูมิ

Nandagopal and Kumari (2007) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงราก *Cichorium intybus* L. cv. Focus 0.5 กรัม ในอาหารเหลวครึ่ง MS ที่เสริมด้วย NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 110 rpm พบว่าชีวมวลของการเพาะเลี้ยงรากเพิ่มขึ้นเป็น 5.820 กรัม หลังการเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์

Komaikul and Kitisripanya (2013) การศึกษาผลของสารกระตุ้นต่อการสร้างมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากเพาะเลี้ยงต้นหม่อน เปลือกรากหม่อนจัด เป็นยาแผนโบราณซึ่งถูกนำ มาใช้เพื่อการรักษาอาการไอ อักเสบ และหอบหืด ในปัจจุบันนี้มีการนำสารสกัดจากหม่อนมาใช้ในผลิตภัณฑ์สุขภาพทางธรรมชาติอย่างกว้างขวาง ในการศึกษาครั้งนี้สารมัลเบอร์รไซด์เอ ซึ่งเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพถูกผลิตขึ้นโดยใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการเติมสารกระตุ้น เพื่อศึกษาผลของสารกระตุ้นต่อการสร้างสมัลเบอร์โรไซด์ เอ โดยใช้เทคนิคอีไลซา (Enzyme linked immunosorbent assay: ELISA) ผลการศึกษาพบว่าการเติมสารสกัด จากยีสต์ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมทิลจัสโมเนต 200 ไมโครโมลาร์ กรดซาลิกซิลลิก 100 ไมโครโมลาร์ สารสกัดจากเชื้อรา *Phoma* sp. ร้อยละ 3 ปริมาตรต่อปริมาตร และสารสกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* extract ร้อยละ 3 ปริมาตรต่อปริมาตร สามารถเพิ่มการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากเพาะเลี้ยงต้นหม่อนได้ (เพิ่มขึ้นร้อยละ 556.32, 69.89, 20.29, 26.29 และ 37.52 ตามลำดับ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fang *et al.* (2022) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงรากเพื่อผลิตสารทุติยภูมิในกลุ่มสติลบีนและเบนโซฟูรันด้วยการเติมตัวกระตุ้น ได้แก่ เมทิลเบตาไซโคลเดกซ์ทริน (Methyl-β-cyclodextrin) แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) เมทิลจัสโมเนต (Methyl jasmonate) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) พบว่าการกระตุ้นด้วยเมทิลเบตาไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้น 18 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ และ $MgCl_2$ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ช่วยส่งเสริมการสะสมของสติลบีนและเบนโซฟูแรนได้

2.8.6 การเพาะเลี้ยงพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์

Gontier *et al.* (2002) ได้นำเสนอวิธีการผลิตสารทุติยภูมิด้วยเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพร ได้แก่ *Datura innoxia* Mill ในระบบไฮโรโปนิกส์ โดยพบว่า การเพาะเลี้ยงนี้สามารถผลิตสาร hyoscyamine และ scopolamine ได้ถึง 180 มิลลิกรัม ใน 27 วัน แสดงถึงแนวทางความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพรในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารวิทยาศาสตร์ ภายใต้สภาวะที่ควบคุมได้ จึงเป็นการผลิตที่ต่อเนื่องไม่ขึ้นกับฤดูกาลและปัจจัยต่างๆ อันการส่งเสริมความสามารถในการผลิตและสะสมของสารทุติยภูมิได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Zapata *et al.* (2003) ได้ทำการเพาะเลี้ยงต้น *Curcuma longa* L. ในหลอดทดลอง ภายหลังกระบวนการชักนำให้เกิดยอดและกระบวนการชักนำให้เกิดรากแล้ว ผู้วิจัยเลือกใช้ระบบไฮโดรโปนิกส์ในการปรับสภาพต้นอ่อนของ *Curcuma longa* L. พบว่า ระบบไฮโดรโปนิกส์สามารถช่วยให้พืชปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมที่มีความชื้นต่ำได้ดี โดยมีร้อยละการรอดชีวิตสูงและมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง

Sakurai *et al* (2022) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นหม่อน (*Morus alba* L.) ในระบบไฮโดรโปนิกส์ เปรียบเทียบกับการเพาะปลูกในธรรมชาติ พบว่า ใบหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์มีลักษณะของ Boundary Layer ที่บางลง ส่งผลให้มีเนื้อสัมผัสที่นุ่มมากขึ้น ลักษณะคล้ายกับการรับประทานผัก ในด้านปริมาณสารทุติยภูมิ พบว่า หม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ มีการสะสมสาร 1-deoxynojirimycin (DNJ) และ โพลีฟีนอล ที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับต้นหม่อนในธรรมชาติ โดยสารดังกล่าวมีฤทธิ์ในการป้องกันโรคเบาหวานและโรคอ้วนได้ จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่เหมาะสมในการผลิตพืชสมุนไพรเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.7 การตรวจสอบสารมัลเบอร์โรไซด์ เอ

Piao *et al* (2011) การวัดปริมาณสติลบีน 5 โครงสร้าง ในรากของ *Morus albus* L. (Cortex Mori) ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง Cortex Mori หนึ่งในยาสมุนไพรจีนโบราณที่เป็นที่รู้จัก โดยได้มาจากเปลือกรากของ *Morus alba* L. ตามรายงานสติลบีเป็นส่วนประกอบหลักที่แยกได้จาก *Morus alba* ปริมาณที่ได้ก็ขึ้นกับแหล่งที่มาของ Cortex Mori เพื่อศึกษาการวัดปริมาณของสติลบีน 5 โครงสร้าง ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ควบคู่กับการตรวจจับการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต ในตัวอย่างรากของ *Morus albus* L. (Cortex Mori) จำนวน 34 ตัวอย่าง จากแหล่งที่มาที่แตกต่างกัน โดยวิเคราะห์ปริมาณของสติลบีด้วยคอลัมน์ ODS ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายเมทานอลต่อน้ำต่อกรดอะซิติก อัตราส่วน 18:82:0.1 ปริมาตรต่อปริมาตร ทำการตรวจสอบพีคที่ 320 นาโนเมตร โดยให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ Intra-day และ Inter-day มีค่าน้อยกว่า ร้อยละ 1.45 และ ร้อยละ 2.14 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้มีประสิทธิภาพในการวัดปริมาณสติลบีนทั้ง 5 โครงสร้าง รวมถึงจำแนกคู่ซิส ทรานส์ และไอโซเมอร์ ในตัวอย่าง Cortex Mori ทั้ง 34 ตัวอย่างได้

Damrongmongcolkul *et al.* (2022) ได้ทำการตรวจสอบปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากชิ้นส่วนยอดและชิ้นส่วนรากหม่อน โดยนำตัวอย่างดังกล่าว อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นบดตัวอย่างที่ได้ แล้วจึงนำผงตัวอย่าง 0.5 กรัม ไปสกัดด้วยซอกห์เลต (Soxhlet extracted) ใช้เมทานอล 200 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย ใช้เวลาสกัด 2 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร สารสกัดดังกล่าวจะถูกนำมาวิเคราะห์ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ด้วยเครื่อง HPLC ด้วยเฟสคงที่ คือ ROC C18 column และเฟสเคลื่อนที่ คือ เมทานอล ร้อยละ 60 ร่วมกับ กรดอะซิติก ร้อยละ 0.1 อัตราการไหลอยู่ที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจสอบพีคที่ 320 นาโนเมตร

Damrongmongcolkul *et al.* (2023) ภายหลังการเพาะเลี้ยงทำการเก็บอาหารเหลวปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,500 rpm เป็นเวลา 1 นาที เพื่อกำจัดเศษเซลล์ จากนั้นทำการเก็บส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร อบระเหยสารละลายที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส แล้วจึงละลายกลับด้วยเมทานอลร้อยละ 70 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้จะถูกกรองด้วยตัวกรองไนลอนขนาด 0.45 ไมโครเมตร ก่อนนำไปวัดปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ภายนอกเซลล์ ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 พืชที่ใช้ในการศึกษา

1. ชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน (*Morus alba* Linn.) ภายในคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

3.1.2 สารเคมี

1. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite) ความเข้มข้น ร้อยละ 6
2. น้ำกลั่น
3. น้ำตาลซูโครส
4. ผงวุ้น
5. เมทานอล
6. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 1-Naphthaleneacetic acid (NAA)
7. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
8. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 6-Benzylaminopurine (BA)
9. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช Indole-3-butyric acid (IBA)
10. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (Normal saline solution) ความเข้มข้นร้อยละ 0.9
11. สารสกัดจากยีสต์
12. อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog medium, 1962 (MS)
13. แอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 70 และ ร้อยละ 95
14. Tween20

3.1.3 อุปกรณ์

1. กระบอกตวง
2. กล้องถ่ายรูป
3. โกร่งบดยาพร้อมที่บด
4. ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
5. เครื่องเขย่า
6. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)
7. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
8. เครื่องบด
9. จานแก้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. ช้อนคนสาร
11. ตะเกียงแอลกอฮอล์
12. ตู้ปลอดเชื้อ
13. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
14. ถ้วยตวงสาร
15. บีกเกอร์
16. ปั๊มเติมอากาศ สายยาง และหัวทราย
17. ปากคีบ
18. พีเอชมิเตอร์ (pH meter)
19. มีดผ่าตัด
20. ไมโครปิเปต พร้อมทิป
21. ไมโครเวฟ
22. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

3.2 การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนหม่อน โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน

คัดเลือกชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน (*Morus alba* Linn.) นำมาล้างด้วยน้ำประปา ทำการเขย่าชิ้นส่วนตาข้างด้วยแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 70 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นย้ายชิ้นส่วนตาข้างลงในสารละลายไฮเตอร์ (Haiter®) ความเข้มข้น ร้อยละ 20 และ สารละลาย Tween-20 3 หยด เขย่าเป็นเวลา 40 นาที แล้วจึงย้ายชิ้นส่วนตาข้างภายในตู้ปลอดเชื้อลงขวดน้ำกลั่นปลอดเชื้อ เขย่าเป็นเวลา 5 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นตัดเนื้อเยื่อที่ตายออก และให้ได้ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ก่อนย้ายลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

3.2.2 การศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA

การเตรียมอาหารแข็ง MS โดยใช้อาหารสำเร็จรูป MS โดยชั่ง 4.43 กรัมต่อการเตรียมอาหารหนึ่งลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้น 8 กรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (ความเข้มข้น 0 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (ความเข้มข้น 0 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปรับ pH ของสารละลายอาหารให้อยู่ที่ 5.8 บรรจุอาหารลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ขวดละ 20 มิลลิลิตร ทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำชิ้นส่วนตาข้างที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อในข้อที่ 3.2.1 ย้ายลงในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นดังกล่าว สูตรละ 5 ขวด 3 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บผลการทดลองหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ โดยทำการบันทึกความสูงยอด จำนวนยอด น้ำหนักสดของยอด และร้อยละการเกิดแคลลัส

3.2.3 การศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA

การเตรียมอาหารแข็ง MS โดยใช้อาหารสำเร็จรูป MS โดยชั่ง 4.43 กรัมต่อการเตรียมอาหารหนึ่งลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้น 8 กรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 0.25 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับ pH ของสารละลายอาหารให้อยู่ที่ 5.8 บรรจุอาหารลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ขวดละ 20 มิลลิลิตร ทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

นำส่วนยอดที่เกิดขึ้นในการทดลองที่ 3.2.2 ย้ายลงในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นดังกล่าว สูตรละ 5 ขวด 3 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สังเกตระยะเวลาในการเกิดรากทุกวันและเก็บผลการทดลองหลังการเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ โดยทำการบันทึกระยะเวลาที่เกิดราก ร้อยละการเกิดราก ความยาวราก จำนวนราก ลักษณะของรากที่เกิดขึ้น และร้อยละการเกิดแคลลัส

3.2.4 การศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ 2,4-D

การเตรียมอาหารแข็ง MS โดยใช้อาหารสำเร็จรูป MS โดยชั่ง 4.43 กรัมต่อการเตรียมอาหารหนึ่งลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้น 8 กรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D (ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ที่ 5.8 บรรจุอาหารลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ขวดละ 20 มิลลิลิตร ทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

นำใบหม่อนอายุ 1 เดือน ที่เกิดภายในหลอดทดลอง ตัดให้ได้ขนาด 1×1 เซนติเมตร ย้ายชิ้นส่วนใบลงบนอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้นตามที่กล่าวไว้ข้างต้น ขวดอาหารละ 1 ชิ้น สูตรอาหารละ 5 ขวด 3 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สังเกตระยะเวลาในการเกิดแคลลัสทุกวันและเก็บผลการทดลองหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ โดยทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบันทึกร้อยละการเกิดแคลลัส ลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้น น้ำหนักสดของแคลลัสหลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ การเกิดยอดและการเกิดราก

3.2.5 การศึกษาปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากชิ้นส่วนยอด ราก และแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาข้างของหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นย้ายยอดหม่อนที่เกิดขึ้นไปยังอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วจึงเก็บเกี่ยวชิ้นส่วนยอด และชิ้นส่วนรากที่เกิดขึ้นไปวิเคราะห์ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ตามวิธีในข้อที่ 3.5

ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบหม่อน ด้วยอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน แล้วจึงเก็บเกี่ยวแคลลัสที่เกิดขึ้น ไปวิเคราะห์ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ตามวิธีในข้อที่ 3.5

3.3 การเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

3.3.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

การเตรียมอาหารเหลว MS โดยใช้อาหารสำเร็จรูป MS โดยชั่ง 4.43 กรัมต่อการเตรียมอาหารหนึ่งลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับ pH ของสารละลายอาหารให้อยู่ที่ 5.8 บรรจุอาหารลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 8 ออนซ์ ขวดละ 50 มิลลิลิตร ทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

ต้นหม่อนอายุประมาณ 4 สัปดาห์ ที่เกิดภายในหลอดทดลอง จะถูกตัดเอาเฉพาะส่วนราก นำรากที่ได้มาล้างทำความสะอาดเศษวุ้นอาหารด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ซับน้ำส่วนเกินด้วยกระดาษทิชชูปลอดเชื้อ ก่อนทำการชั่งน้ำหนัก 1 กรัม แล้วจึงย้ายรากดังกล่าวลงในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้นตามที่กล่าวไปแล้ว สูตรอาหารละ 5 ขวด 3 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 125 rpm ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นเก็บรากหม่อนที่เกิดขึ้นและอาหารเหลว เพื่อคำนวณหาดัชนีการเจริญของรากหม่อน และเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ตามวิธีการในข้อที่ 3.5 ต่อไป เปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ อาหารเหลว MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการหาดัชนีการเจริญน้ำหนักแห้งของรากหม่อน โดยภายหลังการเพาะเลี้ยง รากหม่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจะถูกนำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ จากนั้นซับด้วยกระดาษทิชชู แล้วจึงนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการชั่งและจดบันทึกน้ำหนักแห้งของรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ดัชนีการเจริญของรากหม่อนคำนวณได้จากสมการที่ 1

สมการที่ 1

$$\text{ดัชนีการเจริญน้ำหนักแห้งของราก} = \frac{\mathrm{DW2} - \mathrm{DW1}}{\mathrm{DW1}}$$

เมื่อ DW1 คือ น้ำหนักแห้งของรากก่อนการเพาะเลี้ยง (0.08 กรัม)
DW2 คือ น้ำหนักแห้งของรากหลังการเพาะเลี้ยง (กรัม)

3.3.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเกลือต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

เตรียมสารละลายเกลือความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการเจือจางสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (Normal saline solution) ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 มวลต่อปริมาตร ปริมาตร 11.11 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ของสารละลายเกลือให้อยู่ที่ 5.8 ทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

ทำการเพาะเลี้ยงรากหม่อน 1 กรัม ในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 125 rpm ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการเติมสารละลายเกลือที่ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0 1 10 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 5 ขวด 3 ซ้ำ แล้วจึงเพาะเลี้ยงต่อ ทำการเก็บผลการทดลองในวันที่ 1 2 และ 3 หลังจากการเติมสารละลายเกลือ โดยเก็บรากหม่อนที่เกิดขึ้นและอาหารเหลว เพื่อคำนวณหาดัชนีการเจริญของรากหม่อน (สมการที่ 1) และเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ตามวิธีการในข้อที่ 3.5 ต่อไป เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่มีการเติมสารละลายเกลือ และเพาะเลี้ยงต่อเพิ่มอีก 1 2 และ 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดยีสต์ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

เตรียมสารละลายสารสกัดยีสต์ ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการละลายสารสกัดยีสต์ผงด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ที่ 5.8 ทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

ทำการเพาะเลี้ยงรากหม่อน 1 กรัม ในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 125 rpm ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการเติมสารละลายสารสกัดยีสต์ที่ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 5 ขวด 3 ซ้ำ แล้วจึงเพาะเลี้ยงต่อทำการเก็บผลการทดลองในวันที่ 1 3 และ 7 หลังจากการเติมสารละลายสารสกัดยีสต์ โดยทำการเก็บรากหม่อนที่เกิดขึ้นและอาหารเหลวเพื่อคำนวณหาดัชนีการเจริญของรากหม่อน (สมการที่ 1) และเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ตามวิธีการในข้อที่ 3.5 ต่อไป เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่มีการเติมสารสกัดยีสต์ และเพาะเลี้ยงต่อเพิ่มอีก 1 3 และ 7 วัน

3.3.4 การศึกษา Culture filtrate จากเชื้อรา Aspergillus niger ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus niger* ในอาหารเหลว MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 125 rpm เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการกรองเส้นใยเชื้อราออก นำสารละลายที่ได้กรองผ่านตัวกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร เพื่อกำจัดจุลินทรีย์ สารละลายนี้จะถูกเรียกว่า Culture filtrate ภายหลังการกรองเพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ออก Culture filtrate จะถูกบรรจุลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 8 ออนซ์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ขวดละ 50 มิลลิลิตร

ทำการเพาะเลี้ยงรากหม่อน 1 กรัม ในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 125 rpm ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายรากหม่อนลงในขวดอาหารที่บรรจุ Culture filtrate ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วจึงเพาะเลี้ยงต่อทำการเก็บผลการทดลองในวันที่ 1 3 และ 7 หลังจากการเปลี่ยนอาหาร ชุดการทดลองละ 5 ขวด 3 ซ้ำ โดยทำการเก็บรากหม่อนที่เกิดขึ้นและอาหารเหลวเพื่อคำนวณหาดัชนีการเจริญของรากหม่อน (สมการที่ 1) และเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ตามวิธีการในข้อที่ 3.5 เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เพาะเลี้ยงในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหลว MS เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่มีการเปลี่ยนอาหาร และเพาะเลี้ยงต่อเพิ่มอีก 1 3 และ 7 วัน

3.4 การเพาะเลี้ยงต้นหม่อนเพื่อผลิตราก ด้วยวิธีไฮโดรโปนิกส์

3.4.1 การปรับสภาพต้นอ่อนหม่อน (Damrongmongcolkul *et al.*, 2022)

ทำการคัดเลือกต้นอ่อนหม่อนในหลอดทดลองที่มีทั้งยอดและรากสมบูรณ์ นำต้นอ่อนออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยปากคีบ ล้างทำความสะอาดวุ้นอาหารออกจนหมด จากนั้นนำต้นอ่อนใส่ลงในถ้วยปลูกวางบนปากขวดที่บรรจุอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/24เท่า ปราศจากน้ำตาลซูโครส ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ครอบปากขวดด้วยถุงพลาสติกเจาะรู ทำการเพาะเลี้ยงภายในห้องที่ควบคุมแสงและอุณหภูมิเป็นเวลา 15 วัน จากนั้นถอดถุงพลาสติกออกและเพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 5 วัน

3.4.2 การศึกษาความเจือจางอาหารเหลว MS ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์

เตรียมอาหารเหลว MS ความเจือจาง 1/24 1/20 1/16 1/12 1/8 1/4เท่า และอาหารเหลว MS เต็มสูตรที่ไม่มีการเจือจาง ปราศจากน้ำตาลซูโครส โดยชั่งผงอาหารสำเร็จรูป MS ตามอัตราส่วนดังกล่าว ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ที่ 5.8 จากนั้นบรรจุลงขวด ขวดละ 500 มิลลิลิตร

คัดเลือกต้นหม่อนที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว 20 วัน ทำการวัดความสูงต้นและชั่งน้ำหนักต้นเริ่มต้น จากนั้นนำต้นหม่อนใส่ลงในถ้วยปลูกวางบนปากขวดที่บรรจุอาหารเหลว MS ความเจือจางต่าง ๆ โดย 1 ต้นต่ออาหาร 500 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 5 ต้น 3 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นทำการวัดความสูงต้นและชั่งน้ำหนักต้นภายหลังการเพาะเลี้ยง 30 วัน เพื่อคำนวณหาดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อน (สมการที่ 2) แล้วจึงตัดเก็บรากหม่อนที่เกิดขึ้นในแต่ละความเจือจาง จากนั้นนำรากหม่อนที่ได้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จดบันทึกน้ำหนักแห้งของรากหม่อน แล้วจึงนำรากแห้งที่ได้ทำการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ตามวิธีการในข้อที่ 3.5 ต่อไป

สมการที่ 2

$$\text{ดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อน} = \frac{\mathrm{FW2} - \mathrm{FW1}}{\mathrm{FW1}}$$

เมื่อ FW1 คือ น้ำหนักสดของต้นหม่อนก่อนการเพาะเลี้ยง (กรัม)

FW2 คือ น้ำหนักสดของต้นหม่อนหลังการเพาะเลี้ยง (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงต้นหม่อน เพื่อเก็บเกี่ยวรากหม่อน ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์

คัดเลือกต้นหม่อนที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว 20 วัน ทำการวัดความสูงต้นและชั่งน้ำหนักต้นเริ่มต้น จากนั้นนำต้นหม่อนใส่ลงในถ้วยปลูกวางบนปากขวดที่บรรจุอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า โดย 1 ต้นต่ออาหาร 500 มิลลิลิตร ทำการเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยในการทดลองนี้จะถูกแบ่งออกเป็น 4 รูปแบบการเพาะเลี้ยง รูปแบบการเพาะเลี้ยงละ 5 ต้น 3 ซ้ำ โดยทำการเก็บผลดังต่อไปนี้

รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 1 ภายหลังการเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 30 วัน ต้นหม่อนแต่ละต้นจะถูกนำมาวัดความสูงต้นและชั่งน้ำหนักต้นภายหลังการเพาะเลี้ยง 30 วัน เพื่อคำนวณหาดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อน (สมการที่ 2) แล้วจึงตัดเก็บรากหม่อนที่เกิดขึ้น เพื่อหาน้ำหนักแห้งรากและสกัดเพื่อตรวจสอบปริมาณมัลเบอร์โรไซด์เอของเดือนที่ 1 ตามวิธีในข้องที่ 3.5 ต่อไป ภายหลังทำการเก็บเกี่ยวรากและตัดแต่งใบแล้ว ต้นหม่อนจะถูกนำมาวัดความสูงต้นและชั่งน้ำหนักต้นเพื่อเป็นน้ำหนักเริ่มต้นของเดือนถัดไป ก่อนย้ายลงในอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า ขวดใหม่ เพื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อ เป็นเวลา 30 วัน เก็บผลการทดลองในเดือนที่ 2 แล้วจึงนำต้นหม่อนที่ตัดรากแล้ว ย้ายลงในอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า ขวดใหม่ ทำการเพาะเลี้ยงต่อ เป็นเวลา 30 วัน เพื่อเก็บผลดัชนีการเจริญเติบโตและปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในราก ในเดือนที่ 3

รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 2 ภายหลังการเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 30 วัน ต้นหม่อนแต่ละต้นจะถูกนำมาวัดความสูงต้นและชั่งน้ำหนักต้นภายหลังการเพาะเลี้ยง 30 วัน เพื่อคำนวณหาดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อน (สมการที่ 2) แล้วจึงตัดเก็บรากหม่อนที่เกิดขึ้น เพื่อหาน้ำหนักแห้งรากและสกัดเพื่อตรวจสอบปริมาณมัลเบอร์โรไซด์เอ ตามวิธีในข้องที่ 3.5 ต่อไป

รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 3 ภายหลังการเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 30 วัน ต้นหม่อนจะถูกนำมาล้างทำความสะอาดบริเวณโคนต้นและราก ก่อนจะถูกย้ายลงในอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า ขวดใหม่ เพื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อ เป็นเวลา 30 วัน แล้วต้นหม่อนแต่ละต้นจะถูกนำมาวัดความสูงต้นและชั่งน้ำหนักต้นภายหลังการเพาะเลี้ยง 60 วัน เพื่อคำนวณหาดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อน (สมการที่ 2) แล้วจึงตัดเก็บรากหม่อนที่เกิดขึ้น เพื่อหาน้ำหนักแห้งรากและสกัดเพื่อตรวจสอบปริมาณมัลเบอร์โรไซด์เอ ตามวิธีในข้องที่ 3.5 ต่อไป

รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 4 ภายหลังการเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 30 วัน ต้นหม่อนจะถูกนำมาล้างทำความสะอาดบริเวณโคนต้นและราก ก่อนจะถูกย้ายลงในอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า ขวดใหม่ เพื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อ เป็นเวลา 30 วัน ทำการเปลี่ยนอาหารอีกครั้งตามวิธีข้างต้น แล้วจึงเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 30 วัน จากนั้นต้นหม่อนแต่ละต้นจึงจะถูกนำมาวัดความสูงต้นและชั่งน้ำหนักต้นภายหลังการเพาะเลี้ยง 90 วัน เพื่อคำนวณหาดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้นหม่อน (สมการที่ 2) แล้วจึงตัดเก็บรากหม่อนที่เกิดขึ้น เพื่อหาน้ำหนักแห้งรากและสกัดเพื่อตรวจสอบปริมาณมัลเบอร์โรไซด์เอ ตามวิธีในข้องที่ 3.5 ต่อไป

3.4.4 การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์

เตรียมอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4 เท่า โดยชั่งผงอาหารสำเร็จรูป MS ตามอัตราส่วนดังกล่าว ละลายด้วยน้ำกลั่น เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA หรือ NAA ที่ความเข้มข้น 0.25 1 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ที่ 5.8 จากนั้นบรรจุลงขวด ขวดละ 500 มิลลิลิตร

คัดเลือกต้นหม่อนที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว 20 วัน ทำการวัดความสูงต้นและชั่งน้ำหนักต้นเริ่มต้น จากนั้นนำต้นหม่อนใส่ลงในถ้วยปลูกวางบนปากขวดที่บรรจุอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า โดย 1 ต้นต่ออาหาร 500 มิลลิลิตร สูตรอาหารละ 5 ต้น 3 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นทำการวัดความสูงต้นและชั่งน้ำหนักต้นภายหลังการเพาะเลี้ยง 30 วัน เพื่อคำนวณหาดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อน (สมการที่ 2) แล้วจึงตัดเก็บรากหม่อนที่เกิดขึ้นในแต่ละสูตรอาหาร จากนั้นนำรากหม่อนที่ได้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จดบันทึกน้ำหนักแห้งของรากหม่อน แล้วจึงนำรากแห้งที่ได้ทำการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ตามวิธีการในข้อที่ 3.5 ต่อไป เปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ ต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นระยะเวลา 30 วัน

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ

3.5.1 การสกัดสารจากชิ้นส่วนหม่อน (Damrongmongcolkul *et al.*, 2022)

นำตัวอย่างหม่อน อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง บดให้เป็นผง จากนั้นนำผงแห้ง 0.5 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง แล้วทำการสกัดด้วยเครื่องสกัดซอกห์เลต (Soxhlet extractor) โดยใช้เมทานอล 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการระเหยสารสกัดที่ได้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส แล้วจึงปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ครบ 20 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้จะถูกกรองด้วยตัวกรองไนลอนขนาด 0.45 ไมโครเมตร ก่อนนำไปวัดปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ด้วยเครื่อง HPLC

3.5.2 การสกัดสารจากอาหารเพาะเลี้ยงแบบเหลว (Damrongmongcolkul *et al.*, 2023)

ภายหลังการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อแล้ว ทำการเก็บอาหารเหลวปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,500 rpm เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เก็บรวบรวมส่วนใสให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร อบระเหยอาหารเหลวนี้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส แล้วจึงละลายกลับด้วยเมทานอลร้อยละ 70 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้จะถูกกรองด้วยตัวกรองไนลอนขนาด 0.45 ไมโครเมตร ก่อนนำไปวัดปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ภายนอกเซลล์ ด้วยเครื่อง HPLC

3.5.3 การวัดปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ด้วยเครื่อง HPLC (Damrongmongcolkul *et al.*, 2022)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC, MiniLC-80, USA) โดยใช้เฟสคงที่ คือ คอลัมน์ ROC C_{18} (4.6 มิลลิเมตร × 150 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร; Restek, USA) เฟสเคลื่อนที่ คือ สารละลายเมทานอล ร้อยละ 60 และ กรดอะซิติก ร้อยละ 0.1 อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรการฉีด 20 ไมโครลิตร หน่วยตรวจวัดสัญญาณ (Detector) ที่ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร โดยปริมาณของมัลเบอร์รไซด์ เอ จะถูกคำนวณจากกราฟสารละลายมาตรฐานของมัลเบอร์โรไซด์ เอ

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS ทำการเปรียบเทียบรายคู่ของค่าเฉลี่ยของผล โดยใช้ Duncan test และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One – way Analysis of Variance : One - way Anova) ที่ระดับนัยสำคัญร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนหม่อน โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4.1.1 การศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาข้างหม่อนบนอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.1 จากการทดลองพบว่าชิ้นส่วนตาข้างหม่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ร่วมกับ NAA ทุกความเข้มข้น สามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ (รูปที่ 4.1) ในส่วนของความสูงยอดมีขนาดใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกสูตรอาหาร จำนวนยอดเฉลี่ยต่อขวดสูงที่สุดคือ 3.33 ยอดต่อขวด ในสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และในสูตรอาหารนี้ยังพบน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อยอดสูงสุด คือ 0.69 กรัมต่อยอด ในส่วนการเกิดแคลลัสพบว่ามีแคลลัสเกิดขึ้นในทุกสูตรอาหาร มีร้อยละการเกิดแคลลัสต่ำสุดคือ ร้อยละ 50 ในสูตรอาหาร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม)

จากตารางที่ 4.1 พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ยต่อการเพาะเลี้ยงจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และที่ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด (3 ยอดต่อขวด) ก่อนที่จำนวนยอดจะลดลง ที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่า BA มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมตาข้างให้เกิดยอดหลายยอด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sajeevan *et al.* (2011) ที่ทำการศึกษาการเกิดยอดในหลอดทดลองของ *Morus alba* L variety V1 โดยใช้อาหารแข็ง MS เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนิน (BA TDZ) ร่วมกับ NAA ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน พบว่าBA มีส่วนช่วยในการชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด นอกจากนี้ผู้วิจัยพบว่า เมื่อเพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ส่งผลให้ความยาวของยอดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เป็นผลมาจากสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่ส่งเสริมการเจริญของเนื้อเยื่อส่วนปลายเป็นผลให้ความยาวยอดเพิ่มขึ้น Aroonpong and Chang (2015) รายงานว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ตาข้างพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ แต่การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นร่วมกับ BA สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของ BA ให้สูงขึ้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษานี้จึงเลือกอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของต้นหม่อนสายพันธุ์นี้ เนื่องจากมีจำนวนยอดสูงสุดและลักษณะยอดที่ได้มีความสมบูรณ์แข็งแรง ซึ่งเป็นลักษณะที่เหมาะสมต่อการนำยอดนี้ไปชักนำให้เกิดรากต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างหม่อน

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความสูงยอดเฉลี่ย (เซนติเมตร)	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อขวด	น้ำหนักสดเฉลี่ยของยอด (กรัม)	ร้อยละการเกิดแคลลัส
BA	NAA				
0	0	1.60 ± 0.36 ^{a}	1.00 ± 0.00 ^{b}	0.18 ± 0.06 ^{e}	50
1	0	1.93 ± 0.42 ^{a}	2.00 ± 1.00^{ab}	0.27 ± 0.07 ^{de}	100
	0.5	2.07 ± 0.60 ^{a}	2.67 ± 1.53^{ab}	0.61 ± 0.02 ^{abc}	100
	1	2.67 ± 0.29 ^{a}	2.67 ± 0.58^{ab}	0.49 ± 0.04 ^{abcd}	100
	1.5	2.83 ± 0.29 ^{a}	2.67 ± 1.53^{ab}	0.41 ± 0.10 ^{abcde}	100
	2	2.40 ± 0.26 ^{a}	1.67 ± 0.58^{ab}	0.38 ± 0.06 ^{bcde}	100
2	0	1.63 ± 0.25 ^{a}	2.33 ± 0.58^{ab}	0.58 ± 0.34 ^{abc}	100
	0.5	1.90 ± 0.15 ^{a}	3.00 ± 2.00^{ab}	0.56 ± 0.15 ^{abcd}	100
	1	1.93 ± 0.08 ^{a}	2.00 ± 1.00^{ab}	0.54 ± 0.16 ^{abcd}	100
	1.5	2.23 ± 0.68 ^{a}	2.00 ± 0.00^{ab}	0.52 ± 0.09 ^{abcd}	100
	2	2.23 ± 0.46 ^{a}	1.33 ± 0.58^{ab}	0.50 ± 0.15 ^{abcd}	100
3	0	1.57 ± 0.51 ^{a}	2.67 ± 2.89^{ab}	0.37 ± 0.15^{bcde}	100
	0.5	1.73 ± 0.75 ^{a}	2.00 ± 1.00^{ab}	0.54 ± 0.07 ^{abcd}	100
	1	2.33 ± 0.35 ^{a}	2.67 ± 0.58^{ab}	0.58 ± 0.23 ^{abc}	100
	1.5	1.67 ± 0.29 ^{a}	2.67 ± 1.53^{ab}	0.47 ± 0.06 ^{abcd}	100
	2	1.67 ± 0.76 ^{a}	1.00 ± 0.00 ^{b}	0.34 ± 0.15^{cde}	100
4	0	1.73 ± 0.77 ^{a}	3.00 ± 2.83^{ab}	0.48 ± 0.49 ^{abcd}	100
	0.5	2.50 ± 0.17 ^{a}	3.33 ±0.58 ^{a}	0.69 ± 0.10 ^{a}	100
	1	2.30 ± 0.36 ^{a}	3.00 ± 0.00^{ab}	0.69 ± 0.11^{a}	100
	1.5	2.27 ± 0.25 ^{a}	1.67 ± 1.15^{ab}	0.45 ± 0.05 ^{bcde}	100
	2	2.03 ± 0.35 ^{a}	2.33 ± 0.58^{ab}	0.48 ± 0.06 ^{abcd}	100

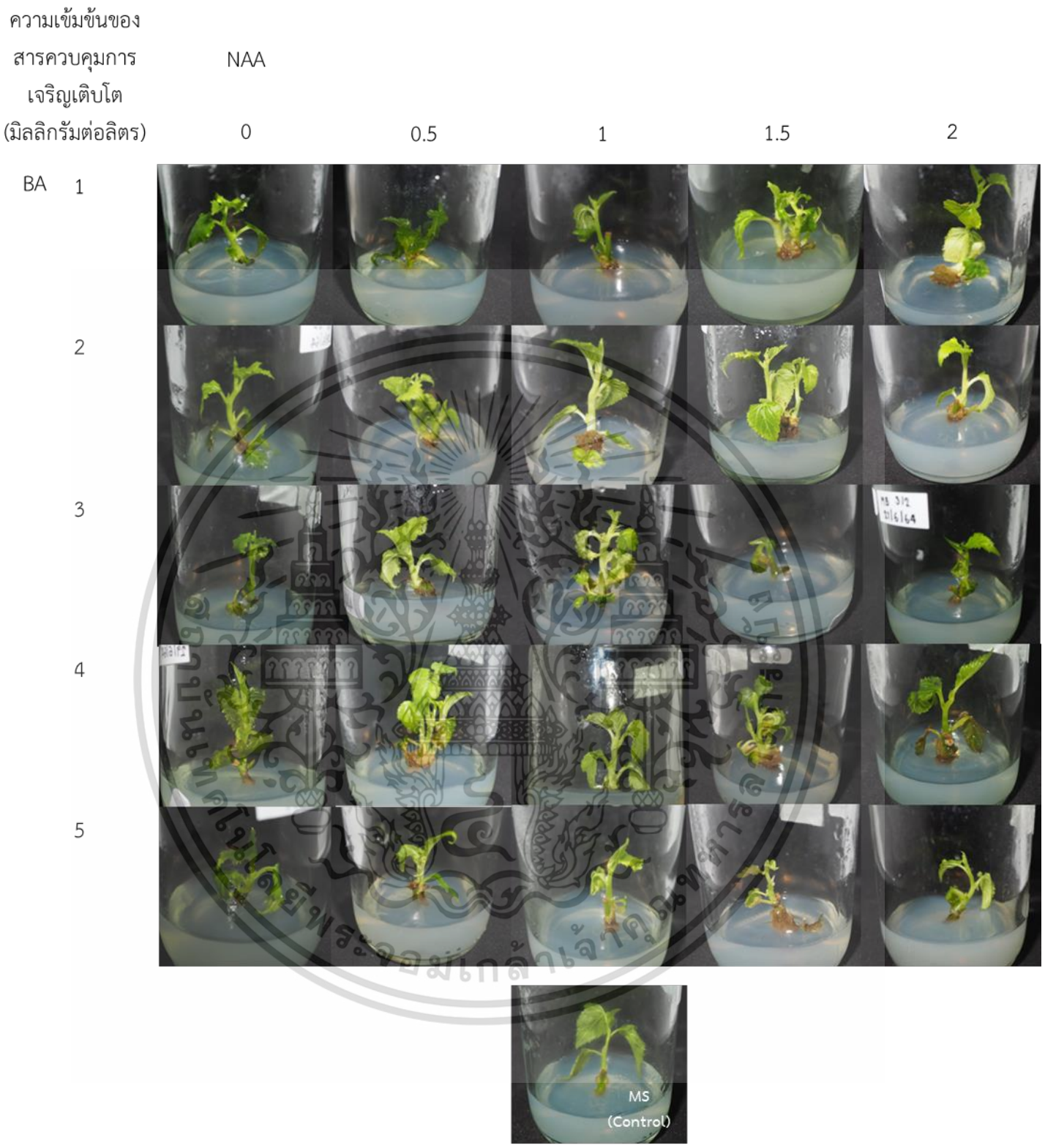
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1(ต่อ) อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างหม่อน

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความสูงยอดเฉลี่ย (เซนติเมตร)	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อขวด	น้ำหนักสดเฉลี่ยของยอด (กรัม)	ร้อยละการเกิดแคลลัส
BA	NAA				
5	0	1.50 ± 0.00 [a]	2.67 ± 0.58[ab]	0.59 ± 0.12 [abc]	100
	0.5	2.20 ± 0.32 [a]	3.33 ± 1.53 [a]	0.66 ± 0.12 [ab]	100
	1	1.83 ± 0.29 [a]	3.33 ± 0.58 [a]	0.59 ± 0.10 [abc]	100
	1.5	1.67 ± 0.29 [a]	1.00 ± 0.00 [b]	0.52 ± 0.04 [abcd]	100
	2	1.73 ± 0.25 [a]	2.33 ± 0.58[ab]	0.52 ± 0.07 [abcd]	100

*หมายเหตุ [1/]ค่าเฉลี่ย ± SD [2/]ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ลักษณะการเกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน บนอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย BA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับ ชุดควบคุม (อาหาร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญ) ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 การศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA

ภายหลังการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาข้างหม่อนในหลอดทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จนเกิดเป็นยอดใหม่ ยอดหม่อนเหล่านี้จะถูกย้ายลงในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA หรือ NAA ที่ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดราก ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย IBA มีรากเกิดขึ้นในความเข้มข้นที่ 0.25 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในความเข้มข้นที่ 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่พบการเกิดราก (รูปที่ 4.2) เช่นเดียวกับอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย NAA พบการเกิดรากที่ความเข้มข้นที่ 0.25 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในความเข้มข้นที่ 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่พบการเกิดราก (รูปที่ 4.3) งานวิจัยของ Ali *et al.* (2009) มีรายงานว่าร้อยละการเกิดรากมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินสูงขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อร้อยละการเกิดรากอยู่ในจุดสูงสุดแล้ว การเพิ่มความเข้มข้นของออกซินจะเป็นการยับยั้งการเกิดราก นอกจากนี้ผู้วิจัยพบการเกิดแคลลัสต่ำสุด ในสูตรอาหารแข็ง MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) ให้ค่าอยู่ที่ ร้อยละ 50 และพบการเกิดแคลลัสเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของออกซินที่สูงขึ้น จากงานวิจัยของ Sugiyama (1999) รายงานว่า ความเข้มข้นของออกซินต่ำจะส่งผลต่อการชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าความเข้มข้นสูง นอกไปจากนี้ในสูตรอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินความเข้มข้นสูงๆ จะพบร้อยละการเกิดแคลลัสสูง มีการรวมกลุ่มของแคลลัสที่บริเวณโคนต้น และ Aroonpong and Chang (2015) กล่าวว่า ออกซินมีส่วนช่วยในการส่งเสริมให้เกิดแคลลัส ดังนั้นความเข้มข้นของออกซินที่สูงเกินไป สามารถช่วยส่งเสริมให้เกิดแคลลัสจึงเป็นผลให้ยับยั้งการเจริญรากได้

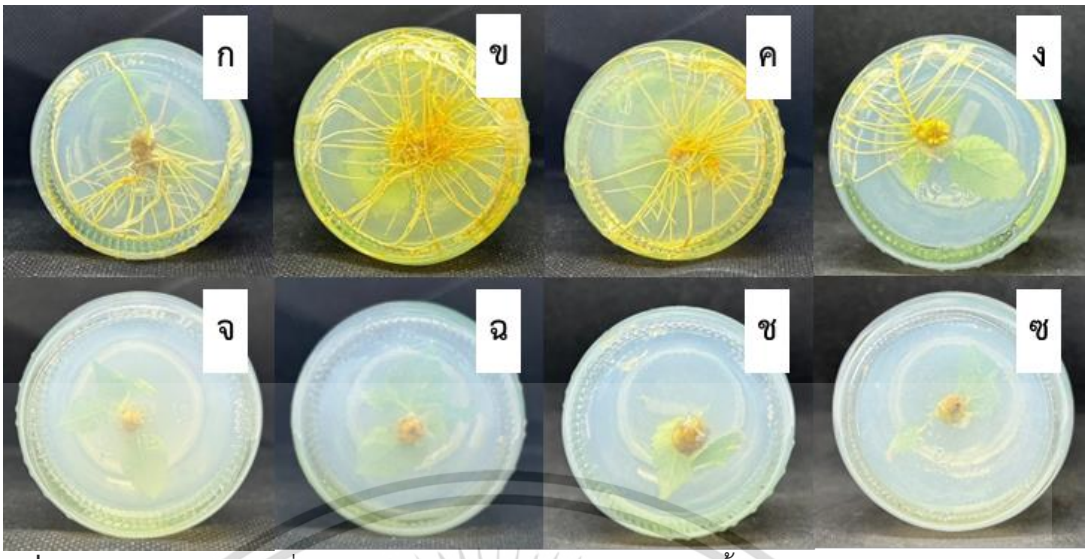
จากการเพาะเลี้ยงนี้ พบว่าสูตรอาหารที่พบร้อยละการเกิดรากสูงสุด คือ อาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีร้อยละการเกิดรากอยู่ที่ ร้อยละ 83.33 (ตารางที่ 4.2) ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 วัน นอกจากนี้ในอาหารสูตรนี้ยังพบว่า มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุดอยู่ที่ 9 รากต่อยอด และความยาวรากมากสุดอยู่ที่ 7.40 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sajeevan *et al.* (2011) ที่รายงานการชักนำให้เกิดรากจากยอดหม่อนด้วยอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

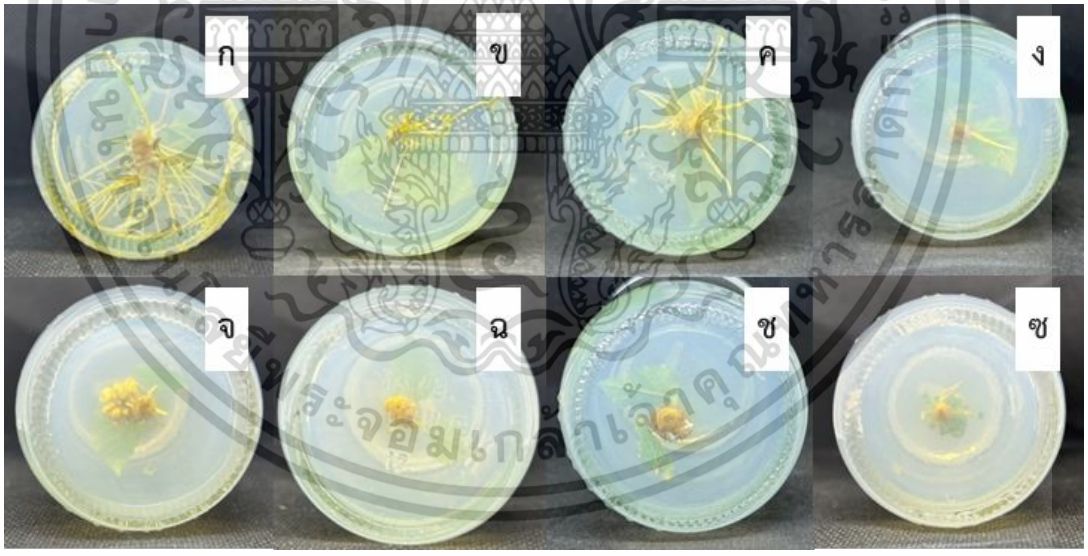
รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะของรากที่เกิดในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ลักษณะรากที่พบคือ รากมีสีขาว ขนาดเรียวเล็ก แตกแขนงเยอะ มีความแข็งแรงไม่เปราะขาดง่าย และเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะของรากที่เกิดในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (รูปที่ 4.3) พบว่า รากที่เกิดในสูตรอาหารที่เสริมด้วย NAA มีจำนวนรากที่น้อย ขนาดของรากสั้น เปราะขาดได้ง่าย และ ใช้เวลานานกว่าจะเกิดราก นอกจากนี้ร้อยละการเกิดรากน้อยเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Elmongy *et al.* (2018) ที่ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากยอดของต้น Azalea พบว่า รากที่เกิดจากสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ให้รากที่มีความยาวและแข็งแรง ในขณะที่รากที่เกิดจากสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA มีลักษณะสั้น จำนวนรากน้อยและเปราะขาดง่าย ทั้งนี้เป็นผลมาจากความเข้มข้นของ NAA ที่เพิ่มสูงขึ้น จึงส่งผลให้ยับยั้งการยืดยาวของราก จึงทำให้รากที่เกิดขึ้นมีลักษณะดังที่กล่าวไปข้างต้น

จากการศึกษานี้จึงเลือกอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากของต้นหม่อนสายพันธุ์นี้ เนื่องจากมีร้อยละการเกิดรากสูง รากมีการเจริญเติบโตที่ดี แตกแขนง ยืดยาว และแข็งแรงไม่เปราะขาดง่าย ส่งเสริมให้ต้นแข็งแรงสมบูรณ์เหมาะสมต่อการออกปลูกและการนำรากไปศึกษาในการทดลองต่อๆไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ลักษณะของรากที่เกิดจากยอดหม่อน ภายหลังการเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์
(ก) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม)
(ข-ซ) ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.25 0.5 1 2 3 4 และ
5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ



รูปที่ 4.3 ลักษณะของรากที่เกิดจากยอดหม่อน ภายหลังการเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์
(ก) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม)
(ข-ซ) ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.25 0.5 1 2 3 4 และ
5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการชักนำให้เกิดรากจากยอดหม่อนในอาหารแข็ง MS ภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการเกิดราก	ระยะเวลาที่เกิดราก (วัน)	จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น	ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร)	ร้อยละการเกิดแคลลัส
-	50	10	4.67 ± 2.89^{c}	2.83 ± 0.76^{c}	50
IBA 0.25	83.33	12	9.00 ± 0.96^{a}	7.40 ± 0.42^{a}	83.33
IBA 0.5	66.67	12	4.20 ± 1.91^{c}	5.80 ± 1.44^{b}	83.33
IBA 1	33.33	14	6.00 ± 1.41^{b}	1.75 ± 0.64^{cd}	100
IBA 2	ไม่พบการเกิดราก	-	-	-	100
IBA 3	ไม่พบการเกิดราก	-	-	-	100
IBA 4	ไม่พบการเกิดราก	-	-	-	100
IBA 5	ไม่พบการเกิดราก	-	-	-	100
NAA 0.25	50	12	3.80 ± 1.30^{cd}	1.95 ± 0.36^{cd}	100
NAA 0.5	33.33	13	4.25 ± 0.65^{c}	1.94 ± 0.70^{cd}	100
NAA 1	33.33	15	1.00 ± 0.00^{d}	0.25 ± 0.07^{d}	100
NAA 2	ไม่พบการเกิดราก	-	-	-	100
NAA 3	ไม่พบการเกิดราก	-	-	-	100
NAA 4	ไม่พบการเกิดราก	-	-	-	100
NAA 5	ไม่พบการเกิดราก	-	-	-	100

*หมายเหตุ $^{1/}$ค่าเฉลี่ย ± SD $^{2/}$ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 การศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบหม่อนในอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ 2,4-D

ภายหลังการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในหลอดทดลอง ใบหม่อนอายุ 4 สัปดาห์ จะถูกนำมาตัดให้ได้ขนาด 1×1 เซนติเมตร แล้วจึงถูกวางลงบนอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ จากการทดลองไม่พบการเกิดยอดในทุกสูตรอาหาร ไม่พบการเกิดแคลลัสในสูตรอาหาร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (รูปที่ 4.4ฌ) และ สูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย BA เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 4.4 ก-ค) ในสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย 2,4-D เพียงอย่างเดียว พบว่ามีแคลลัสเกิดขึ้นร่วมกับรากจำนวนมาก (รูปที่ 4.4 ง-ฉ) นอกจากนี้พบการเกิดแคลลัสในสูตรอาหารที่เสริมด้วย BA ร่วมกับ 2,4-D โดยมีการเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดของชิ้นใบ แคลลัสดังกล่าวมีลักษณะนิ่ม การรวมกลุ่มกันอย่างหลวมๆ และสีของแคลลัสเป็นสีเหลืองครีมอมเขียว แต่ไม่พบการเกิดรากในสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย BA และ 2,4-D จากการศึกษาพบว่าสูตรอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสร้อยละ 100 และน้ำหนักสดของแคลลัสหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ สูงที่สุด คือ 0.34 กรัม ต่อขวด ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.3 (รูปที่ 4.4 ฌ)

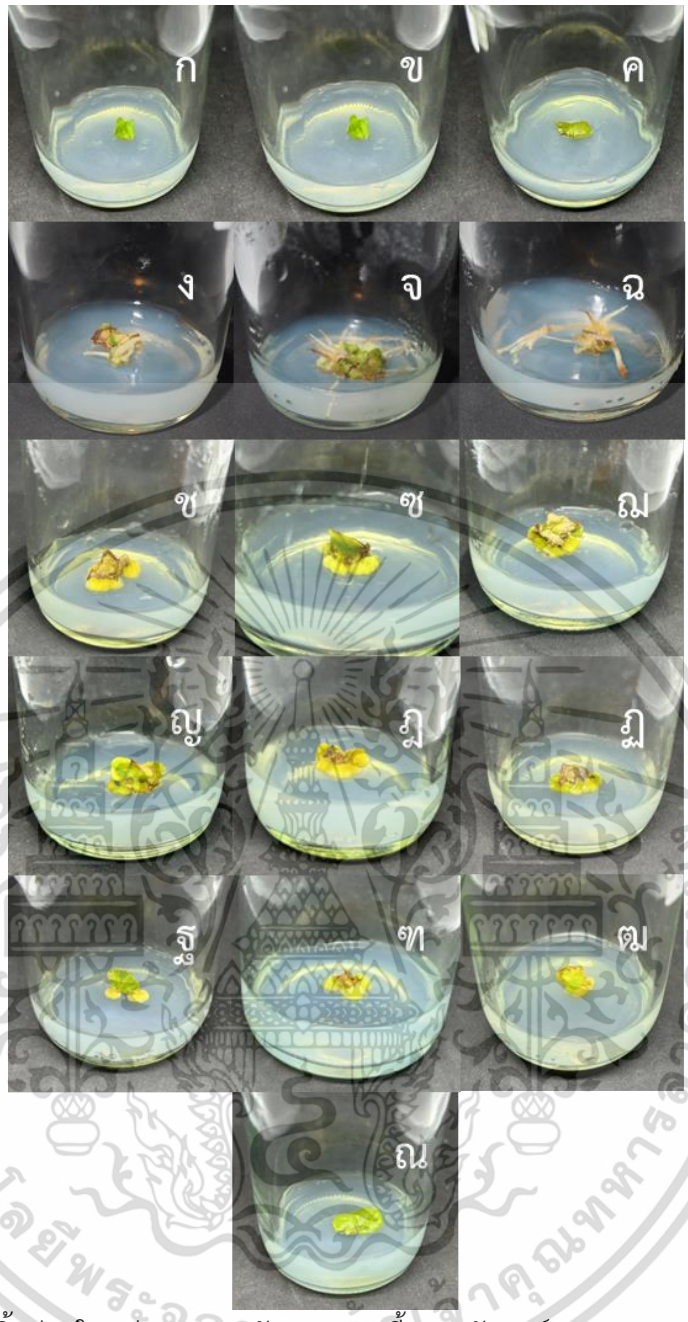
จากผลการทดลองที่พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพียงอย่างเดียวไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้แต่แคลลัสที่เกิดขึ้นนั้นจะเกิดร่วมกับการเกิดราก โดยรากที่เกิดขึ้นนั้นเป็นผลมาจาก 2,4-D ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน Sauer *et al.* (2013) กล่าวว่า ออกซินเป็นฮอร์โมนพืชที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญของเซลล์และการพัฒนาของราก Muthi'ah *et al.* (2023) กล่าวว่า BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนิน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโทไคนินนี้จะมีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัสเมื่อทำงานร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ซึ่งสอดคล้องกับ Castro *et al.* (2016) ที่กล่าวว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตออกซินและไซโทไคนินสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสโดยการกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ และการทำงานร่วมกันนี้เป็นการส่งเสริมประสิทธิภาพให้ดียิ่งขึ้น โดยผู้วิจัยพบว่าผลการทดลองที่ได้คือ สูตรอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการเกิดแคลลัสสูง และภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ ให้น้ำหนักสดสูงสุด ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dubey *et al.* (2020) ที่ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบหม่อน พบว่า ความเข้มข้นของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้นสูงเกินไปจะยับยั้งการเกิดแคลลัส ดังนั้นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสต้องมีความเข้มข้นของไซโทไคนินที่ต่ำและความเข้มข้นของออกซินที่สูง จึงจะส่งผลดีต่อการเกิดแคลลัส

จากการศึกษานี้จึงเลือกอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิต ร่วมกับ สารความคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส ร้อยละ 100 มีน้ำหนังสดหลังการเพาะเลี้ยงสูงสุด ให้ปริมาณมากเหมาะสำหรับการนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ลักษณะชิ้นส่วนใบหม่อน ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์
(ก-ค) อาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ
(ง-จ) อาหาร MS ที่เสริมด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ
(ช-ฌ) อาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ญ-ฏ) อาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ฐ-ฒ) อาหาร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ณ) อาหารแข็ง MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบหม่อนบนอาหารแข็ง MS ภายในระยะเวลา 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการเกิดแคลลัส	ระยะเวลาในการเกิดแคลลัส (วัน)	น้ำหนักสดของแคลลัสต่อขวดหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (กรัม)	ร้อยละการเกิดราก
0	ไม่พบการเกิดแคลลัส	-	0	ไม่พบการเกิดราก
BA 0.5	ไม่พบการเกิดแคลลัส	-	0	ไม่พบการเกิดราก
BA 1	ไม่พบการเกิดแคลลัส	-	0	ไม่พบการเกิดราก
BA 2	ไม่พบการเกิดแคลลัส	-	0	ไม่พบการเกิดราก
2,4-D 0.5	33.33	12	ไม่สามารถชั่งได้	100
2,4-D 1	66.67	11	ไม่สามารถชั่งได้	100
2,4-D 2	66.67	11	ไม่สามารถชั่งได้	100
BA 0.5 + 2,4-D 0.5	66.67	11	0.24 ± 0.18^{b}	ไม่พบการเกิดราก
BA 0.5 + 2,4-D 1	66.67	12	0.29 ± 0.13^{ab}	ไม่พบการเกิดราก
BA 0.5 + 2,4-D 2	100	11	0.34 ± 0.09^{a}	ไม่พบการเกิดราก
BA 1 + 2,4-D 0.5	66.67	11	0.23 ± 0.03^{b}	ไม่พบการเกิดราก
BA 1 + 2,4-D 1	83.33	11	0.22 ± 0.09^{b}	ไม่พบการเกิดราก
BA 1 +2,4-D 2	66.67	11	0.30 ± 0.19^{ab}	ไม่พบการเกิดราก
BA 2 + 2,4-D 0.5	50	15	0.13 ± 0.02^{c}	ไม่พบการเกิดราก
BA 2 + 2,4-D 1	50	15	0.24 ± 0.10^{b}	ไม่พบการเกิดราก
BA 2 +2,4-D 2	50	11	0.08 ± 0.02^{c}	ไม่พบการเกิดราก

*หมายเหตุ [1/]ค่าเฉลี่ย ± SD [2/]ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.4 การศึกษาปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากชิ้นส่วนยอด ราก และแคลลัส ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างหม่อนในหลอดทดลองได้แก่ ชิ้นส่วนยอด ชิ้นส่วนราก และแคลลัส (รูปที่ 4.5) ภายหลังการนำชิ้นส่วนต่างๆ มาอบแห้ง บดเป็นผง และสกัดตามวิธีการในข้อที่ 3.5.1 แล้ว สารสกัดที่ได้จะถูกนำมาตรวจสอบปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีการในข้อที่ 3.5.3 ตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าในส่วนรากหม่อนมีปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ สะสมสูงที่สุด คือ 9.05 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก

จากผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhou *et al.* (2013) ที่ทำการศึกษาปริมาณของสารในกลุ่มสติลบีน ได้แก่ เรสเวอราทรอล ออกซีเรสเวอราทรอล และ มัลเบอร์โรไซด์ เอ ในชิ้นส่วนต่างๆของหม่อน แต่ละสายพันธุ์ ในฤดูการต่างๆ พบว่ามัลเบอร์โรไซด์ เอ จะมีการสะสมมากที่สุดในส่วนราก และปริมาณของสารทุติยภูมิยังแต่ต่างกันไปตามสารพันธุ์ของหม่อนและฤดูการที่เก็บเกี่ยว

จากการตรวจสอบครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ในรากหม่อน มีการสะสมที่มากกว่าในส่วนยอดและแคลลัสของหม่อน ดังนั้นการศึกษานี้จึงเลือกศึกษาการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน เพื่อเป็นแหล่งการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ต่อไป โดยทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงรากหม่อนในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม และการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนเพื่อเก็บเกี่ยวรากในระบบไฮโดรโปนิกส์ โดยทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการเจริญเติบโตและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนต่อไป

ตารางที่ 4.4 ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นหม่อน

ชิ้นส่วนหม่อน	ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
ยอดหม่อน	1.49 ± 0.01^{c}
รากหม่อน	9.05 ± 0.05^{a}
แคลลัส	3.22 ± 0.10^{b}

*หมายเหตุ [1/]ค่าเฉลี่ย ± SD [2/]ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.5 ตัวอย่างหม่อนจากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่ใช้ในการสกัดเพื่อตรวจสอบปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ (ก) ชิ้นส่วนยอด (ข) ชิ้นส่วนราก (ค) แคลลัส

4.2 การเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

4.2.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

จากการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อการเจริญเติบโตของรากหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน ภายในระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 2 สัปดาห์ จากค่าดัชนีการเจริญเติบโตของน้ำหนักแห้งของรากหม่อนที่แสดงดังตารางที่ 4.5 และลักษณะรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยง แสดงดังรูปที่ 4.6 จากการศึกษาพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA มีผลต่อการเจริญเติบโตของรากหม่อน เนื่องจากที่ชุดควบคุม (อาหารเหลว MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA) ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่ต่ำที่สุด รากที่เพาะเลี้ยงอาหารสูตรนี้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และหลังจากนั้นพบว่ารากเกิดการฉีกขาด ไม่พบการแตกแขนงและยืดยาวเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นถึงการตายของราก ภายหลังการเพาะเลี้ยง 2 สัปดาห์ ทั้งนี้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตสูงสุดคือ 0.5 ในสูตรอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยผลที่ได้จากการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Roy and Bharadvaja (2019) ซึ่งรายงานการเพาะเลี้ยงรากของ *Plumbago zeylanica* L. ในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญ IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ Frick and Strader (2018) กล่าวว่า IBA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในกลุ่มออกซิน มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการเจริญของเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย ซึ่งมีผลต่อการสร้างและการยืดตัวของราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในส่วนของปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ผู้วิจัยพบว่าปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ภายในรากมีการสะสมที่สูงกว่าภายนอกรากเสมอในทุกตัวอย่าง โดยผลการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Komaikul *et al*. (2015) ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงรากหม่อนและเซลล์แคลลัสแขวนลอยในอาหารเหลว MS โดยพบว่าการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ภายในเซลล์จะสูงกว่าภายนอกเซลล์ ในทั้งสองการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ผู้วิจัยพบการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ สูงที่สุด คือ 43.80 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก และ 7.45 มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 4.5) ในสูตรอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างกับสูตรอาหารอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

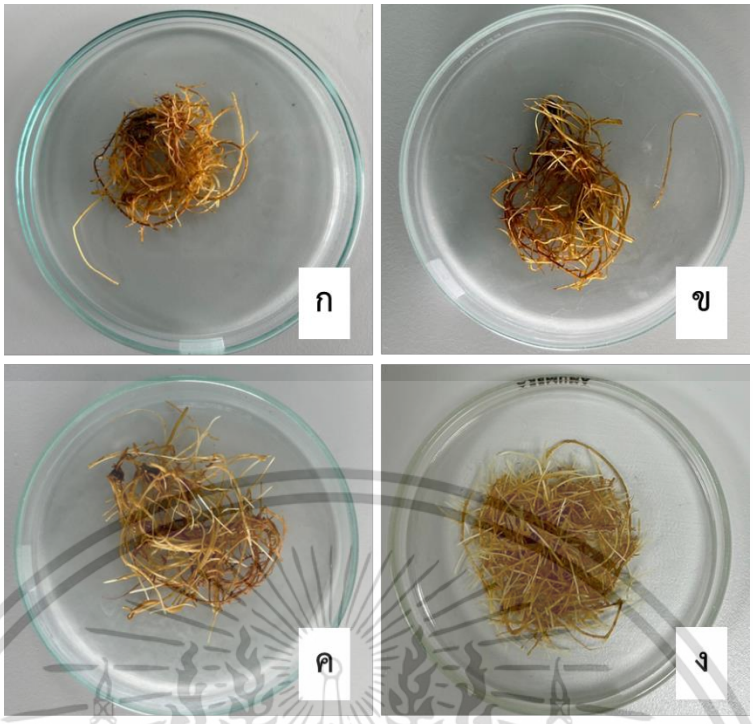
จากการศึกษานี้จึงเลือกอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ เนื่องจากให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตและปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ที่สูง เหมาะสำหรับนำไปพัฒนาต่อยอดการกระบวนการเพาะเลี้ยงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 4.5 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อการเจริญเติบโตของรากหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

ความเข้มข้นของ IBA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักแห้งของรากหม่อน	น้ำหนักรากแห้งเฉลี่ยต่อขวด (กรัม)	ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก)			ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง)
			ภายในราก	ภายนอกราก	ทั้งหมด	
0 (ชุดควบคุม)	0.19 ± 0.08^{c}	0.09 ± 0.01^{c}	13.99 ± 0.21^{d}	3.25 ± 0.39^{d}	17.24 ± 0.60^{d}	1.55 ± .027^{c}
0.25	0.32 ± 0.04^{b}	0.10 ± 0.03^{bc}	16.86 ± 0.45^{c}	4.73 ± 0.35^{c}	21.59 ± 0.80^{c}	2.16 ± 0.31^{bc}
0.5	0.37 ± 0.08^{b}	0.12 ± 0.05^{b}	18.87 ± 0.13^{b}	5.35 ± 0.07^{b}	24.22 ± 0.20^{b}	2.91 ± 0.47^{b}
1	0.50 ± 0.03^{a}	0.17 ± 0.01^{a}	35.59 ± 0.51^{a}	8.21 ± 0.21^{a}	43.80 ± 0.72^{a}	7.45 ± 0.22^{a}

*หมายเหตุ [1/]ค่าเฉลี่ย ± SD [2/]ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ลักษณะของรากหม่อนภายหลังการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ 2 สัปดาห์ (ก-ง) อาหารเหลว MS ที่เสริมด้วย IBA ที่ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

4.2.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเกลือต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

จากการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการเติมสารละลายเกลือ ที่ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0 1 10 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเก็บผลในวันที่ 1 2 และ 3 หลังจากการเติมสารละลายเกลือ ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.6 พบว่าดัชนีการเจริญเติบโตของน้ำหนักแห้งของรากหม่อนในทุกกลุ่มตัวอย่างลดลงเล็กน้อย หลังจากการเติมสารละลายเกลือ รวมถึงกลุ่มชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารละลายเกลือ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่ารากหม่อนเริ่มเข้าสู่ระยะเซลล์ตาย (Death phase) การตายของรากไม่ได้เป็นผลมาจากสารละลายเกลือ เนื่องจากผู้วิจัยพบการตายของเซลล์ในทุกกลุ่มตัวอย่าง รวมถึงชุดควบคุมที่ปราศจากการเติมสารละลายเกลือ แสดงให้เห็นว่าการตายของรากเกิดจากปริมาณสารอาหารในระบบเพาะเลี้ยงลดลง และเป็นผลมาจากปริมาณเซลล์รากหม่อน (Cell density) ในระบบมีปริมาณสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในส่วนของปริมาณมัลเบอร์โรไซ เอ ผู้วิจัยพบว่าปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ภายในรากมีการสะสมที่สูงกว่าภายนอกรากเสมอในทุกตัวอย่าง ซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองที่ 4.2.1 นอกจากนี้พบว่า ความเครียดจากเกลือส่งผลต่อการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน โดยพบว่าปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด จะอยู่ในช่วง 17 ถึง 44 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก แต่ที่ชุดการทดลองที่เติมสารละลายเกลือ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 3 วัน ให้ค่าปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด สูงสุด คือ 61.71 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก และ 8.63 มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองทั้งหมด Tippmann *et al.* (2006) กล่าวว่า ความเข้มข้นของเกลือส่งผลต่อไอออน เช่น Na+ อาจทำให้พืชดูดซึมน้ำและสารอาหารได้ลดลง นอกจากนี้ยังส่งเสริมให้พืชมีการขับน้ำออกจากไซโทพลาซึมส่งผลให้เกิดความเครียดออสโมติก (Osmotic stress) Ramakrishna and Ravishanker (2011) กล่าวเพิ่มเติมว่า ทั้งไอออนและ ความเครียดออสโมติส ซึ่งเป็นผลมาจากเกลือนี้ มีผลต่อปริมาณของสารทุติยภูมิที่สะสมในเซลล์พืชได้ Souid *et al.* (2019) รายงานถึงสรรพคุณของสารออกฤทธิ์ในกลุ่มสติลบีนว่า สารทุติยภูมิในกลุ่มนี้มีความสำคัญต่อกลไกการป้องกันตัวของพืช พบว่าเมื่อถูกกระตุ้นจะมีการสร้างเพิ่มขึ้น เพื่อปกป้องเซลล์พืชจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรค สารเคมี รวมถึงสภาวะแวดล้อมในธรรมชาติ การทดลองนี้แสดงให้เห็นศักยภาพของความเครียดจากเกลือในการเพิ่มการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน

จากการศึกษานี้พบว่า สภาวะในการเติมเกลือที่เหมาะสมในการส่งเสริมการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ คือ ความเข้มข้นของเกลือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 3 วัน ที่สภาวะนี้มีการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ที่สูง และปริมาณเซลล์รากหม่อนที่ได้ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเกลือต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

ความเข้มข้นของสารละลายเกลือ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาการกระตุ้นด้วยเกลือ (วัน)	ดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักแห้งของรากหม่อน	ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก)			ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง)
			ภายในราก	ภายนอกราก	ทั้งหมด	
0 (ชุดควบคุม)	-	0.50 ± 0.03^{a}	35.59 ± 0.51^{b}	8.21 ± 0.21^{ab}	43.80± 0.72^{b}	7.08 ± 0.24^{b}
	1	0.48 ± 0.07^{a}	35.70 ± 0.71^{b}	8.14 ± 0.39^{ab}	43.84 ± 1.10^{b}	7.01 ± 0.31^{b}
	2	0.42 ± 0.08^{ab}	34.55 ± 0.05^{b}	8.33 ± 0.67^{ab}	42.88 ± 0.72^{b}	6.00 ± 0.44^{c}
	3	0.38 ± 0.07^{ab}	31.43 ± 0.25^{b}	8.21 ± 0.89^{ab}	39.64 ± 0.91^{b}	5.15 ± 0.35^{cd}
1	1	0.51 ± 0.04^{a}	27.10 ± 0.18^{bc}	11.05 ± 0.20^{a}	38.15 ± 0.38^{b}	4.58 ± 0.48^{cd}
	2	0.47 ± 0.03^{ab}	26.62 ± 0.66^{bc}	5.62 ± 0.31^{bc}	32.24 ± 0.97^{c}	5.15 ± 0.27^{cd}
	3	0.33 ± 0.03^{b}	28.65 ± 0.27^{bc}	6.05 ± 0.62^{bc}	34.70 ± 0.89^{c}	5.55 ± 0.37^{c}
10	1	0.51 ± 0.04^{a}	26.56 ± 0.28^{bc}	7.80 ± 0.21^{ab}	34.36 ± 0.49^{c}	5.84 ± 0.15^{c}
	2	0.44 ± 0.07^{ab}	26.49 ± 0.52^{bc}	4.51 ± 0.75^{c}	30.99 ± 1.27^{c}	4.65 ± 0.73^{cd}
	3	0.43 ± 0.05^{ab}	28.15 ± 0.99^{bc}	4.93 ± 0.58^{c}	33.08 ± 1.57^{c}	4.63 ± 0.82^{cd}
50	1	0.54 ± 0.04^{a}	22.43 ± 0.13^{c}	6.64 ± 0.19^{bc}	29.07 ± 0.32^{cd}	5.23 ± 0.48^{cd}
	2	0.48 ± 0.07^{ab}	25.77 ± 0.05^{bc}	5.01 ± 0.1^{c}	30.70 ± 0.15^{c}	4.91 ± 0.51^{cd}
	3	0.41 ± 0.03^{ab}	51.98 ± 0.71^{a}	9.73 ± 0.38^{ab}	61.71 ± 1.09^{a}	8.63 ± 0.42^{a}
100	1	0.51 ± 0.09^{a}	25.62 ± 0.28^{bc}	0.77 ± 0.33^{d}	26.39 ± 0.61^{d}	2.90 ± 0.26^{e}
	2	0.42 ± 0.03^{ab}	18.47 ± 0.28^{d}	0.22 ± 0.01^{d}	18.69 ± 0.29^{e}	3.74 ± 0.43^{d}
	3	0.37 ± 0.02^{ab}	17.02 ± 0.22^{d}	0.23 ± 0.03^{d}	17.25 ± 0.25^{e}	3.62 ± 0.29^{d}

*หมายเหตุ $^{1/}$ค่าเฉลี่ย ± SD $^{2/}$ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดยีสต์ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

จากาการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการเติมสารละลายสารสกัดยีสต์ ที่ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเก็บผลในวันที่ 1 3 และ 7 หลังจากการเติมสารละลายสารสกัดยีสต์ ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.7 พบว่าในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารสกัดจากยีสต์ ดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักแห้งของรากมีการลดลงตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าเซลล์รากเข้าสู่ระยะเซลล์ตายแล้ว (Death phase) โดยการตายนี้สอดคล้องกับผลการทดลองในข้อที่ 4.2.2 ซึ่งเป็นผลมากจากปริมาณสารอาหารในระบบเพาะเลี้ยงลดลง และปริมาณเซลล์รากหม่อน (Cell density) ในระบบมีปริมาณสูงขึ้น จากการเติมสารสกัดยีสต์ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 1 3 และ 7 พบว่ามีดัชนีการเจริญเติบโตอยู่ที่ 0.47 0.45 และ 0.46 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่เพาะเลี้ยงมาแล้ว 14 วัน (0.5) El-Desuki and Nadia (2006) รายงานว่า สารสกัดยีสต์เป็นสารประกอบจากธรรมชาติ ที่ประกอบไปด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต น้ำตาล แร่ธาตุ รวมถึงวิตามินหลายชนิด ซึ่งมีส่วนช่วยในการพัฒนาและเพิ่มจำนวนของเซลล์ ดังนั้นผู้วิจัยพบว่า การเติมสารสกัดยีสต์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่ามีความเข้มข้นที่เหมาะสมรากจึงสามารถนำธาตุอาหารต่างๆจากสารสกัดยีสต์นี้ไปใช้ในการเจริญ จึงเป็นผลให้ดัชนีการเจริญเติบโตในชุดการทดลองนี้คงที่ใกล้เคียงกับชุดควบคุม นอกจากนี้ Ishikawa *et al.* (2007) รายงานว่า รากสามารถใช้สารสกัดยีสต์เป็นธาตุอาหารในการเจริญเติบโตได้ โดยพบว่าการเลี้ยงรากของต้น *Glehnia littoralis* ในอาหารที่เสริมด้วยสารสกัดยีสต์เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบการเจริญเติบโตที่สูงกว่าชุบควบคุมที่ไม่มีการเติมสารสกัดยีสต์

ในส่วนของปริมาณมัลเบอร์โรไซ เอ ผู้วิจัยพบว่าปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ภายในรากมีการสะสมที่สูงกว่าภายนอกรากเสมอในทุกตัวอย่าง ซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองที่ 4.2.1 และ 4.2.2 นอกจากนี้พบว่า สารสกัดยีสต์ยังไม่สามารถเพิ่มการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อได้ โดยพบว่า ภายหลังการเติมสารสกัดยีสต์ ที่ความเข้มข้น 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ สะสมภายในรากหม่อนเฉลี่ยอยู่ที่ 22 ถึง 24 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก ซึ่งลดลงจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ Ishikawa *et al.* (2007) รายงานว่า สารสกัดยีสต์มีผลต่อการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส (Phenylalanine ammonia lyase, PAL) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในการสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารทุติยภูมิในระบบป้องกันตนเองของพืช และความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์มีผลต่อการกระตุ้นการทำงานของ PAL ดังนั้นในการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์ยังไม่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ PAL ดังนั้นการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ที่พบในการทดลองนี้จึงต่ำกว่าชุดควบคุม

จากการศึกษานี้ พบว่าสารสกัดยีสต์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รากหม่อนสามารถนำธาตุอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโตต่อไปได้ แต่ในการศึกษานี้ยังไม่พบความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์ที่เหมาะสมต่อการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ดังนั้นควรมีการศึกษาในระยะเวลาที่ใช้ในการกระตุ้นและความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์ เพื่อปรับปรุงให้เหมาะสมต่อการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดยีสต์ต่อการเจริญเติบโตของราก และการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

ความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ระยะเวลาการกระตุ้นด้วยสารสกัดยีสต์ (วัน)	ดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักแห้งของรากหม่อน	ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก)			ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง)
			ภายในราก	ภายนอกราก	ทั้งหมด	
0 (ชุดควบคุม)	-	0.50 ± 0.03[a]	35.59 ± 0.51[a]	8.21 ± 0.21[a]	43.80± 0.72[a]	7.08 ± 0.24[a]
	1	0.48 ± 0.03[a]	35.45 ± 0.09[a]	8.62 ± 0.25[a]	44.06 ± 0.34[a]	7.01 ± 0.31[a]
	3	0.38 ± 0.07[b]	31.43 ± 0.25[a]	8.21 ± 0.89[a]	39.64 ± 1.13[ab]	5.15 ± 0.35[b]
	7	0.29 ± 0.09[c]	24.17 ± 0.39[b]	1.35 ± 0.03[c]	25.52 ± 0.42[c]	3.06 ± 0.24[d]
1	1	0.47 ± 0.04[a]	23.69 ± 0.33[b]	5.47 ± 0.12[b]	29.16 ± 0.45[bc]	4.37 ± 0.22[c]
	3	0.45 ± 0.08[a]	24.50 ± 0.10[b]	6.23 ± 0.39[ab]	30.73 ± 0.49[b]	4.30 ± 0.31[c]
	7	0.46 ± 0.02[a]	22.75 ± 0.46[b]	5.89 ± 0.44[b]	28.64 ± 0.90[c]	4.29 ± 0.14[c]
5	1	0.38 ± 0.05[b]	22.11 ± 0.33[b]	5.06 ± 0.76[b]	27.17 ± 1.09[c]	3.53 ± 0.21[c]
	3	0.30 ± 0.08[c]	24.64 ± 0.83[b]	4.87 ± 0.28[b]	34.50 ± 1.11[b]	4.14 ± 0.19[c]
	7	0.28 ± 0.09[c]	23.26 ± 0.12[b]	5.08 ± 0.72[b]	32.34 ± 0.84[b]	3.88 ± 0.17[c]

*หมายเหตุ [1/]ค่าเฉลี่ย ± SD [2/]ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 การศึกษา Culture filtrate จากเชื้อรา *Aspergillus niger* ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

จากาการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ รากหม่อนจะถูกย้ายไปยัง Culture filtrate จากการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus niger* จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงต่อ เก็บผลการทดลองในวันที่ 1 3 และ 7 หลังจากย้ายรากหม่อนลงใน Culture filtrate เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เพาะเลี้ยงมาแล้ว 2 สัปดาห์ ไม่มีการเปลี่ยนอาหาร และเพาะเลี้ยงต่อเพิ่มอีก 1 3 และ 7 วัน ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.8 พบว่าภายหลังการเพาะเลี้ยงรากหม่อนในอาหารเหลว MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโต น้ำหนักแห้งของรากหม่อนสูงสุด (0.5) และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อในวันที่ 1 3 และ 7 พบว่าดัชนีการเจริญเติบโตมีค่าลดลง ตามระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่เพิ่มขึ้น พบดัชนีการเจริญต่ำสุดในการเพาะเลี้ยงต่อวันที่ 7 (0.29) ผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับชุดการทดลองที่ย้ายรากหม่อนลงใน Culture filtrate ที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 ซึ่งพบว่าดัชนีการเจริญในแต่ละวันที่ถูกกระตุ้นมีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าการลดลงของดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักแห้งของรากหม่อนไม่ได้เป็นผลมาจาก Culture filtrate จากเชื้อรา *Aspergillus niger* แต่เป็นผลมาจากปริมาณสารอาหารในระบบเพาะเลี้ยงลดลง และปริมาณเซลล์รากหม่อน (Cell density) ในระบบมีปริมาณสูงขึ้น เซลล์จึงเข้าสู่ระยะตาย (Death phase) โดยสังเกตได้จากดัชนีการเจริญที่ลดลง ผลการทดลองนี้แสดงในทิศทางเดียวกันกับผลการทดลองในข้อที่ 4.2.2 และ ข้อที่ 4.2.3

ภายหลังการเพาะเลี้ยงผู้วิจัยพบว่า ลักษณะรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงใน Culture filtrate มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากชุดควบคุม (รูปที่ 4.7) โดยพบว่าชุดควบคุมในการเพาะเลี้ยงรากแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ รากหม่อนที่ได้จะรวมกลุ่มกันเป็นก้อน มีความคงตัว แต่รากหม่อนที่ได้จากการกระตุ้นใน Culture filtrate มีความเปื่อยยุ่ย นิ่มเละ ไม่คงตัว จากรายงานของ พิมพ์ชนา และคณะ (2559) แสดงให้เห็นว่า *Aspergillus niger* เป็นราที่พบได้ตามสิ่งแวดล้อม มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายเศษซากพืช จึงมีความสามารถในการผลิตและหลั่งเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสออกมาภายนอกเซลล์ โดยที่เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส (Cellulose) และ ไซแลน (Xylan) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักที่พบมากในผนังเซลล์ของพืช ด้วยเหตุนี้ลักษณะรากที่เพาะเลี้ยงใน Culture filtrate จึงเปลี่ยนแปลงไปจากชุดควบคุม โดยเป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ที่เชื้อราสร้างขึ้นและหลั่งออกมาสะสมอยู่ใน Culture filtrate นี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในส่วนของมัลเบอร์โรไซด์ เอ พบว่า รากหม่อนที่เลี้ยงใน Culture filtrate มีการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ภายในรากและภายนอกรากลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับชุดควบคุมซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า Culture filtrate จากเชื้อรา *Aspergillus niger* นี้ไม่ได้ส่งผลต่อดัชนีการเจริญเติบโตของรากหม่อนและเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากหม่อน และ Culture filtrate นี้ส่งผลโดยตรงกับการลดลงของปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ อาจเป็นผลมาจากความเครียดจากสภาวะการเพาะเลี้ยงที่สูงเกินไป อาจปรับปรุงการทดลองนี้ด้วยการลดความเข้มข้นของ Culture filtrate ลง อาจจะมีผลดีกับปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ มากขึ้น

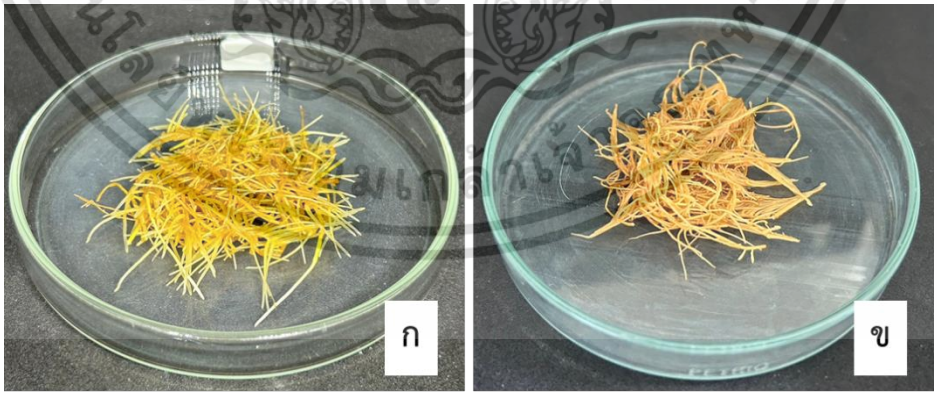
จากการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยหวังว่าจะสามารถเป็นแนวทางในการพัฒนาต่อยอดกระบวนผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากการเพาะเลี้ยงรากหม่อน ด้วยการกระตุ้นด้วย Culture filtrate จากเชื้อรา *Aspergillus niger* เนื่องจากเชื้อราสายพันธุ์นี้เป็นเชื้อราที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การผลิตกรดซิตริก มาอย่างช้านาน นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเอนไซม์หลายชนิด จึงมีความปลอดภัยและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แต่การทดลองนี้ยังไม่สามารถเพิ่มการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ด้วยการกระตุ้นจาก Culture filtrate ได้ ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อปรับปรุงการเพาะเลี้ยงต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 อิทธิพลของ Culture filtrate จากการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus niger* ต่อการเจริญเติบโตของรากและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

ความเข้มข้นของ Culture filtrate (ร้อยละ)	ระยะเวลาในการกระตุ้นด้วย Culture filtrate (วัน)	ดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักแห้งของรากหม่อน	ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก)			ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง)
			ภายในราก	ภายนอกราก	ทั้งหมด	
0 ชุดควบคุม ไม่มีการเปลี่ยนอาหาร	0	0.50 ± 0.03[a]	35.59 ± 0.51[a]	8.21 ± 0.21[a]	43.80± 0.72[a]	7.08 ± 0.24[a]
	1	0.48 ± 0.03[a]	35.45 ± 0.09[a]	8.62 ± 0.25[a]	44.06 ± 0.34[a]	7.01 ± 0.31[a]
	3	0.38 ± 0.07[b]	31.43 ± 0.25[a]	8.21 ± 0.89[a]	39.64 ± 1.13[ab]	5.15 ± 0.35[b]
	7	0.29 ± 0.09[c]	24.17 ± 0.39[b]	1.35 ± 0.03[b]	25.52 ± 0.42[b]	3.06 ± 0.24[c]
100	1	0.44 ± 0.04[ab]	8.32 ± 0.42[c]	0.81 ± 0.14[bc]	9.13 ± 0.57[c]	1.10 ± 0.05[d]
	3	0.35 ± 0.03[b]	6.42 ± 0.03[c]	0.79 ± 0.35[bc]	7.22 ± 0.38[c]	0.79 ± 0.01[d]
	7	0.25 ± 0.05[c]	5.49 ± 0.12[c]	0.44 ± 0.19[c]	5.94 ± 0.31[c]	0.59 ± 0.01[d]

*หมายเหตุ [1/]ค่าเฉลี่ย ± SD [2/]ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's



รูปที่ 4.7 เปรียบเทียบลักษณะรากหม่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง (ก) ชุดควบคุม (ข) Culture filtrate ความเข้มข้นร้อยละ 100 ภายหลังการกระตุ้น 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์

4.3.1 การศึกษาความเจือจางอาหารเหลว MS ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารเหลว MS ที่ปราศจากน้ำตาล ด้วยความเจือจางต่างๆ ได้แก่ 1/24 1/20 1/16 1/12 1/8 1/4เท่า และ อาหารเหลว MS เต็มสูตรที่ไม่มีการเจือจาง เป็นระยะเวลา 1 เดือน ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.9 พบว่าดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อนเพิ่มขึ้น ตามความเข้มข้นของอาหารเหลว MS ที่เพิ่มขึ้น ดัชนีการเจริญสูงสุดอยู่ที่ 5.41 ในสูตรอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า และที่สูตรอาหารเหลว MS เต็มสูตรที่ไม่มีการเจือจาง พบว่าดัชนีการเจริญเติบโตลดลงและให้ค่าต่ำที่สุด คือ 0.98 โดยลักษณะของต้นหม่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง แสดงดังรูปที่ 4.8 การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช แต่ที่อาหารเหลว MS เต็มสูตรที่ไม่มีการเจือจาง มีความเข้มข้นของธาตุอาหารสูงสุด แต่พบการเจริญที่ต่ำที่สุด ทั้งนี้เป็นผลมาจากความเข้มข้นของธาตุอาหารสูง จึงส่งผลให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมสามารถดูดซึมสารอาหารได้อย่างรวดเร็วจึงเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว สังเกตได้จากการเปลี่ยนสีของอาหาร จากใสเป็นเขียวในวันที่ 3 หลังการเพาะเลี้ยง ในทางตรงกันข้ามพืชมีระยะเวลาในการเจริญที่ช้ากว่าจุลินทรีย์ ส่งผลให้พืชได้รับสารอาหารน้อยลง ดัชนีการเจริญจึงน้อย นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อราที่ถ้วยปลูกบริเวณโคนต้นของต้นหม่อน ซึ่งไม่พบการปนเปื้อนเชื้อราที่ต้นหม่อนในอาหารเพาะเลี้ยงความเจือจางอื่นๆ ด้วยเหตุนี้ต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงที่อาหารเหลว MS เต็มสูตรที่ไม่มีการเจือจาง จึงมีร้อยละการรอดชีวิตเพียง ร้อยละ 50 ซึ่งต่ำกว่าต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงที่ความเจือจางอื่นๆ ที่มีร้อยละการรอดชีวิตสูงถึงร้อยละ 100 ดังนั้นความเจือจางอาหารนอกจากจะเป็นการลดต้นทุนค่าอาหารลงแล้วยังช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของต้นหม่อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในส่วนของปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ มีความสอดคล้องกับดัชนีการเจริญเติบโตของน้ำหนักสดของต้นหม่อน คือ เมื่อความเข้มข้นของอาหารเหลว MS เพิ่มขึ้น ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนก็สูงขึ้น ควบคู่กับดัชนีการเจริญเติบโต โดยพบว่าปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ สูงสุด คือ 23.12 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก ในอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า ซึ่งใกล้เคียงกับ 1/8 และ 1/12เท่า คือ 20.33 และ 21.53 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก แต่จากดัชนีการเจริญเติบโตที่สูงกว่า ทำให้ 1/4เท่า มีน้ำหนักรากแห้งต่อต้นสูงสุด คือ 0.34 กรัม และมีปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด 7.86 มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกความเจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของอาหารเหลว MS มีความสำคัญอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ การเจริญเติบโตนี้มีผลโดยตรงต่อปริมาณรากที่ได้และการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน ดังนั้นการเลือกใช้ความเข้มข้นของอาหารเหลวที่เหมาะสม ไม่เพียงแต่ช่วยลดต้นทุนในการผลิต แต่ยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมสารสำคัญในรากอย่างมีประสิทธิภาพ โดยผู้วิจัยพบว่าอาหารเหลว MS ที่ปราศจากน้ำตาล ที่ความเจือจาง 1/4เท่า นั้นมีประสิทธิภาพทั้งในเรื่องของการเจริญเติบโตและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปศึกษาและปรับปรุงการเพาะเลี้ยง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตรากหม่อนด้วยการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์ต่อไป

ตารางที่ 4.9 อิทธิพลของความเจือจางของอาหารเหลว MS ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ระยะเวลา 1 เดือน

ความเจือจางอาหารเหลว MS	ดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อน	น้ำหนักรากแห้งเฉลี่ยต่อต้น (กรัม)	ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก)	ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง)
1/24	1.69 ± 0.14^{c}	0.16 ± 0.04^{c}	16.50 ± 0.85^{b}	2.64 ± 0.24^{d}
1/20	2.31 ± 0.58^{b}	0.23 ± 0.03^{b}	17.62 ± 0.50^{b}	4.05 ± 0.15^{c}
1/16	2.38 ± 0.78^{b}	0.19 ± 0.09^{c}	18.66 ± 0.18^{b}	3.54 ± 0.21^{c}
1/12	2.05 ± 0.65^{bc}	0.24 ± 0.08^{b}	21.53 ± 0.09^{ab}	5.17 ± 0.11^{b}
1/8	3.89 ± 0.34^{b}	0.26 ± 0.09^{b}	20.31 ± 0.90^{ab}	5.28 ± 0.14^{b}
1/4	5.41 ± 0.70^{a}	0.34 ± 0.13^{a}	23.12 ± 0.37^{a}	7.86 ± 0.23^{a}
MS เต็มสูตร	0.98 ± 0.24^{d}	0.07 ± 0.08^{d}	6.14 ± 0.31^{c}	0.43 ± 0.05^{e}

*หมายเหตุ $^{1/}$ค่าเฉลี่ย ± SD $^{2/}$ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan’s

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.8 ลักษณะของต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารเหลว MS ที่ความเจือจางต่างๆ เป็นระยะเวลา 1 เดือน (ก-ช) อาหารเหลว MS ปราศจากน้ำตาลซูโครส ที่ความเจือจาง 1/24 1/20 1/16 1/12 1/8 1/4เท่า และอาหารเหลว MS เต็มสูตรที่ไม่มีการเจือจาง ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงต้นหม่อน เพื่อเก็บเกี่ยวรากหม่อน ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์

จากการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์ โดยทำการศึกษาอายุของต้นหม่อนที่เพิ่มขึ้นต่อการเจริญเติบโตของต้นและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ (รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 1) ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.10 พบว่า ในเดือนที่ 1 ของการเพาะเลี้ยงให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโต 5.47 จากนั้นในเดือนที่ 2 ดัชนีการเจริญเติบโตลดลงอยู่ที่ 2.20 และในเดือนที่ 3 เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 3.75 ทั้งนี้เป็นผลมาจากการเก็บเกี่ยวรากในเดือนที่ 1 ต้นหม่อนต้องใช้ระยะเวลาการปรับสภาพเพื่อสร้างใบและรากชุดใหม่เพื่อให้ต้นยังสามารถดำรงชีพต่อไปได้ จึงส่งผลให้มีการเจริญเติบโตค่อนข้างน้อย จากการเจริญเติบโตที่ไม่เหมาะสมนี้จึงส่งผลให้การสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ต่ำ ลง และเมื่อเข้าเดือนที่ 3 ต้นหม่อนมีการปรับตัวที่ดีขึ้น พบว่ามีการแตกใบและรากชุดใหม่ได้เร็วมากขึ้น จึงพบว่าดัชนีการเจริญเติบโตและปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ สูงกว่าในเดือนที่ 2 อยู่เล็กน้อย ไม่แตกต่างทางสถิติ

การศึกษาอายุของรากหม่อนที่เพิ่มขึ้นต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน โดยเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์ ทำการเปลี่ยนอาหารเดือนละ 1 ครั้ง เก็บเกี่ยวรากที่มีอายุ 1 เดือน (รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 2) 2 เดือน (รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 3) และ 3 เดือน (รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 4) ในการเพาะเลี้ยงนี้ (รูปที่ 4.9) พบว่า ดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อนเพิ่มสูงขึ้น ตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่นานขึ้น ในเดือนที่ 1 มีค่าดัชนีการเจริญอยู่ที่ 5.60 (ตารางที่ 4.10) แล้วจึงเพิ่มขึ้นเป็น 10.66 ในเดือนที่ 2 และเพิ่มสูงที่สุดในเดือนที่ 3 ให้ค่าดัชนีการเจริญอยู่ที่ 19.22 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งการทดลองนี้ให้ผลตรงข้ามกับรูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 1 เนื่องจากต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ถูกทำการเก็บเกี่ยวรากไป จึงมีรากที่สามารถดูดซึมธาตุอาหารไปให้ในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ ส่งผลให้ดัชนีการเจริญเพิ่มสูงขึ้นในทุกๆเดือน ถึงแม้ว่าดัชนีการเจริญจะสูงขึ้น แต่ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่นานขึ้นไม่ได้ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณรากหม่อน โดยพบว่าน้ำหนักแห้งของรากหม่อนเฉลี่ยต่อต้นให้ค่าใกล้เคียงกัน จึงส่งผลให้ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด ต่อการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 4.10) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อายุของรากหม่อนอาจจะส่งผลดีต่อดัชนีการเจริญเติบโตของต้นหม่อน แต่ให้ผลเสียต่อการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ โดยตารางที่ 4.10 รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 2 3 และ 4 พบการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ลดลง ตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เพิ่มขึ้น ผลที่ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ งานวิจัยของ Zhao *et al.* (2023) ได้มีการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงของระดับสารทุติยภูมิในพืชเมื่อพืชมีอายุเพิ่มขึ้น พบว่า พืชมีช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตสารทุติยภูมิ โดยเมื่อเลยระยะเวลาดังกล่าวไปแล้ว ปริมาณการสะสมของสารทุติยภูมิในพืชจะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้

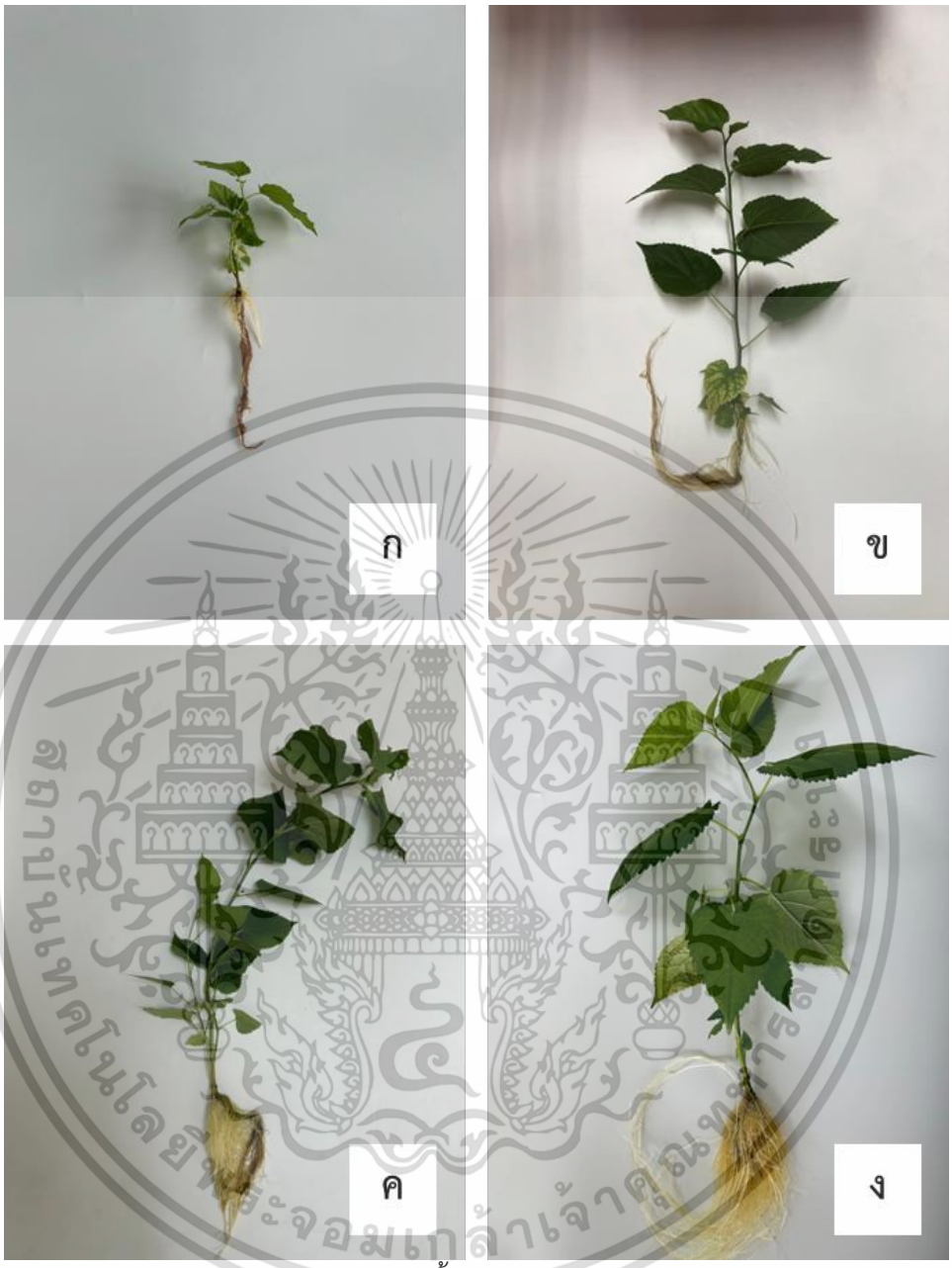
จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า อายุของต้นหม่อนและระยะเวลาการเก็บเกี่ยวรากมีผลต่อปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ โดยพบว่าต้นหม่อนที่มีอายุน้อยจะเหมาะสมต่อการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ โดยเฉพาะเมื่อเริ่มเพาะเลี้ยงในเดือนแรกจะให้ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ สูงสุด ดังนั้น รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 2 ซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์เป็นเวลา 1 เดือน ก่อนที่จะเก็บเกี่ยวรากและไม่มีการเพาะเลี้ยงต่อ เป็นวิธีที่เหมาะสมในการศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์เพื่อผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในอนาคต เนื่องจากใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงน้อยและมีความคุ้มค่ากับต้นทุนการผลิตมากกว่ารูปแบบการเพาะเลี้ยงอื่นๆ ที่ทำการศึกษานี้

ตารางที่ 4.10 รูปแบบการเพาะเลี้ยงต้นหม่อน เพื่อเก็บเกี่ยวรากหม่อน ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของสารมัลเบอร์รไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์

รูปแบบการเพาะเลี้ยง		ดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อน	น้ำหนักรากแห้งเฉลี่ยต่อต้น (กรัม)	ปริมาณสารมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก)	ปริมาณสารมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง)
รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 1 (ตัดรากทุกเดือน)	**เดือนที่ 1**	5.47 ± 0.24^{c}	0.31 ± 0.07^{ab}	23.37 ± 0.17^{a}	7.24 ± 0.12^{a}
	เดือนที่ 2	2.20 ± 0.86^{d}	0.04 ± 0.01^{d}	6.09 ± 0.05^{c}	0.24 ± 0.02^{c}
	เดือนที่ 3	3.75 ± 0.59^{cd}	0.12 ± 0.07^{c}	8.19 ± 0.18^{c}	0.98 ± 0.02^{c}
รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 2 (ตัดรากเมื่ออายุ 1 เดือน)		5.60 ± 0.31^{c}	0.30 ± 0.03^{b}	23.13 ± 0.15^{a}	6.93 ± 0.11^{a}
รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 3 (ตัดรากเมื่ออายุ 2 เดือน)		10.66 ± 0.73^{b}	0.37 ± 0.04^{a}	16.94 ± 0.11^{b}	6.26 ± 0.12^{b}
รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 4 (ตัดรากเมื่ออายุ 3 เดือน)		19.22 ± 0.37^{a}	0.43 ± 0.06^{a}	15.40 ± 0.08^{b}	6.62 ± 0.11^{ab}

*หมายเหตุ $^{1/}$ค่าเฉลี่ย ± SD $^{2/}$ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ลักษณะต้นหม่อนภายหลังการเพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารเหลว MS ความเจือจาง 1/4เท่า ที่รูปแบบการเพาะเลี้ยงต่างๆ (ก) ลักษณะต้นหม่อนก่อนการเพาะเลี้ยง

(ข) รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 2 (ระยะเวลา 1 เดือน)

(ค) รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 3 (ระยะเวลา 2 เดือน)

(ง) รูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 4 (ระยะเวลา 3 เดือน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารเหลว MS ปราศจากน้ำตาล ที่ความเจือจาง 1/4เท่า และเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA หรือ NAA ที่ความเข้มข้น 0 0.25 1 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 เดือน ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.11 ต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า เสริมด้วย IBA แสดงดังรูปที่ 4.10 พบว่า ที่ IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าความเข้มข้นอื่น สังเกตได้จากตารางที่ 4.11 มีค่าดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อนที่สูงสุด (7.36) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรนี้มีน้ำหนักรากแห้งเฉลี่ยต่อต้นสูงสุด คือ 0.61 กรัม ซึ่งเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมถึง 2 เท่า ทั้งนี้เป็นผลมาจาก IBA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน Frick and Strader (2018) กล่าวว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในกลุ่มออกซิน มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการเจริญของเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย ซึ่งมีผลต่อการสร้างและการยืดตัวของราก อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของออกซินที่สูงเกินไปสามารถยับยั้งการเจริญของรากพืชได้ โดยสังเกตได้จากดัชนีการเจริญและน้ำหนักแห้งของรากที่ลดลง เมื่อความเข้มข้นของ IBA เพิ่มขึ้น

ต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่า และเสริมด้วย NAA ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ที่ความเข้มข้นต่ำสุด คือ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบการเจริญของราก ความสูงต้นไม่เปลี่ยนแปลง ใบมีสีเขียวออกเหลือง (รูปที่ 4.11ข) ให้ค่าดัชนีการเจริญลดลงจากชุดควบคุม แต่ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.11ค) และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.11 ง) ไม่สามารถวัดค่าดัชนีการเจริญได้ เนื่องจากพบการตายของต้นหม่อน จากการที่ไม่พบการเจริญของราก ยอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ภายใน 15 วันหลังการเพาะเลี้ยง โดยผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับการทดลองที่ 4.1.2 ซึ่งเป็นการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของหม่อน พบว่าในสูตรอาหารที่เสริมด้วย NAA มีการเกิดรากที่น้อยและไม่พบการเกิดรากในสูตรที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าต้นหม่อนสายพันธุ์นี้มีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ได้อย่างดี เนื่องจากพบการเกิดรากมากขึ้น และลักษณะรากที่เกิดขึ้นมีความแข็งแรง มีการแตกแขนง ยืดยาว และไม่เปราะขาดง่าย ในทางตรงข้ามสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ไม่สามารถส่งเสริมการเกิดรากใหม่และยังยับยั้งการเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รากเก่า ส่งผลให้ต้นหม่อนไม่สามารถดูดซึมอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้เท่าที่ควร ผลที่ได้คือต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบนี้ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่เสริมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์นี้ ไม่สามารถเพิ่มการผลิตและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ได้ จากการทดลองพบว่าปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ที่พบสูงสุด คือ 23.66 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก ในสูตรที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดควบคุม อย่างไรก็ตามสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA นี้มีผลโดยตรงกับการเจริญเติบโตของต้นหม่อน เนื่องจากที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มดัชนีการเจริญเติบโต และน้ำหนักรากแห้งเฉลี่ยต่อต้นเพิ่มขึ้นถึง 2 เท่า (0.61 กรัม) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต จึงส่งเสริมให้ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด สูงถึง 14.43 มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกชุดการทดลอง

จากการศึกษานี้เป็นการเน้นย้ำให้เห็นศักยภาพของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อต้นหม่อนสายพันธุ์นี้ ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มการเกิดรากได้ โดยอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4 เท่า ปราศจากน้ำตาลซูโครส และเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึงแม้ว่าการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ไม่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม แต่อาหารสูตรนี้สามารถส่งเสริมการเจริญของต้นหม่อนได้อย่างดีและให้ปริมาณรากสูงขึ้น การทดลองนี้อาจเป็นแนวทางสำคัญในการเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพรด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์เพื่อเป็นแหล่งของสารทุติยภูมิที่ยั่งยืนในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ระยะเวลา 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ดัชนีการเจริญเติบโตน้ำหนักสดของต้นหม่อน	น้ำหนักรากแห้งเฉลี่ยต่อต้น (กรัม)	ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของราก)	ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อการเพาะเลี้ยง)
ชุดควบคุม	5.74 ± 0.59[b]	0.30 ± 0.06[b]	23.37 ± 0.17[a]	7.01 ± 0.02[b]
IBA 0.25	7.36 ± 0.75[a]	0.61 ± 0.04[a]	23.66 ± 0.27[a]	14.43 ± 0.04[a]
IBA 1	4.43 ± 0.34[b]	0.28 ± 0.05[b]	16.89 ± 0.17[b]	4.73 ± 0.12[c]
IBA 4	2.24 ± 0.22[c]	0.24 ± 0.07[c]	16.14 ± 0.22[b]	3.87 ± 0.09[d]
NAA 0.25	0.10 ± 0.02[d]	0.10 ± 0.05[d]	7.91 ± 0.18[c]	0.79 ± 0.01[e]
NAA 1	-	0.10 ± 0.03 [d]	5.44 ± 0.04[cd]	0.54 ± 0.08[e]
NAA 4	-	0.08 ± 0.04[d]	4.97 ± 0.12[d]	0.40 ± 0.02[e]

*หมายเหตุ [1/]ค่าเฉลี่ย ± SD [2/]ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.10 ลักษณะของต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4 เท่า และเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ก) ปราศจากสารความคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) (ข) 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.11 ลักษณะของต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4 เท่า และเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ก) ปราศจากสารความคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) (ข) 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนหม่อน โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ในการทดลองนี้เป็นการค้นหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนต้นหม่อนภายในหลอดทดลอง โดยทำการศึกษา การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน การชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของหม่อน และการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบหม่อน นอกจากนี้ยังมีการตรวจสอบการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในชิ้นส่วนต่างๆของหม่อนที่เกิดภายในหลอดทดลอง โดยผลการทดลองที่ได้เป็นดังนี้

การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาข้างของหม่อน พบว่า อาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของต้นหม่อนสายพันธุ์นี้ เนื่องจากมีจำนวนยอดสูงสุดและลักษณะยอดที่ได้มีความสมบูรณ์แข็งแรง ซึ่งเป็นลักษณะที่เหมาะสมต่อการนำยอดนี้ไปชักนำให้เกิดรากต่อไป

การชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของหม่อน พบว่า อาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากของต้นหม่อนสายพันธุ์นี้ เนื่องจากมีร้อยละการเกิดรากสูง รากมีการเจริญเติบโตที่ดี แตกแขนง ยืดยาว และแข็งแรงไม่เปราะขาดง่าย ส่งเสริมให้ต้นแข็งแรงสมบูรณ์ เหมาะสมต่อการออกปลูกและการนำรากไปศึกษาในการทดลองต่อๆไป

การชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของหม่อน พบว่า อาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการเกิดแคลลัสมากถึงร้อยละ 100 มีน้ำหนักสดของแคลลัสหลังการเพาะเลี้ยงสูงสุด ให้ปริมาณมากเหมาะสำหรับการนำไปใช้ในการตรวจสอบปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจสอบปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในชิ้นส่วนต่างๆ ของหม่อนที่เกิดภายในหลอดทดลอง พบว่าปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน มีการสะสมที่มากกว่าในส่วนยอดและแคลลัสของหม่อน ดังนั้นการศึกษานี้จึงเลือกศึกษาการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน เพื่อเป็นแหล่งการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ต่อไป โดยทำการศึกษา การเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงรากหม่อนในอาหารเหลว MS และการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนเพื่อเก็บเกี่ยวรากในระบบไฮโดรโปนิกส์ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อนต่อไป

5.1.2 การเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

ในการทดลองเป็นการศึกษาการเพาะเลี้ยงรากหม่อนในหลอดทดลองด้วยอาหารเหลว MS บนเครื่องเขย่า เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของรากหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน ได้แก่ ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และการเติมสารกระตุ้น ซึ่งประกอบไปด้วย การเติมสารละลายเกลือ การเติมสารละลายสารสกัดจากยีสต์ และการเพาะเลี้ยงใน Culture filtrate จากการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus niger* เพื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ

การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA พบว่า อาหารเหลว MS ที่เสริมด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ เนื่องจากให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตและปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ที่สูง เหมาะสำหรับนำไปพัฒนาต่อยอดกระบวนการเพาะเลี้ยงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นในการทดลองต่อไป

การศึกษาผลของการเติมสารละลายเกลือ พบว่า สภาวะในการเติมเกลือที่เหมาะสมต่อการส่งเสริมการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากการเพาะเลี้ยงรากหม่อนแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ คือ ความเข้มข้นของเกลือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 3 วัน ที่สภาวะนี้มีการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ที่สูง และปริมาณรากหม่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงไม่ลดลง ใกล้เคียงกับชุดควบคุม ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาผลของการเติมสารละลายสารสกัดยีสต์ พบว่า สารสกัดยีสต์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รากหม่อนสามารถนำธาตุอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโตต่อไปได้ แต่ในการศึกษานี้ยังไม่พบความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์ที่เหมาะสมต่อการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ดังนั้นควรมีการศึกษาในระยะเวลาที่ใช้ในการกระตุ้นและความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์ที่ความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อื่นเพิ่มเติมเพื่อปรับปรุงให้เหมาะสมต่อการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากรากหม่อนที่เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อนี้

การศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงรากใน Culture filtrate จากการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus niger* พบว่า การเพาะเลี้ยงในระบบนี้ไม่ได้ส่งผลต่อดัชนีการเจริญเติบโต แต่มีผลต่อการลดลงของปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ ทั้งภายในรากและภายนอกราก ดังนั้น ความเข้มข้นของ Culture filtrate ที่ ร้อยละ 100 ยังไม่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงรากหม่อนเพื่อผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ

5.1.3 การเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์

ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์ โดยทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน ได้แก่ ความเจือจางของอาหารเหลว MS ที่ปราศจากน้ำตาลซูโครส รูปแบบการเพาะเลี้ยงเพื่อเก็บเกี่ยวราก ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เพื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์ เพื่อผลิตรากสำหรับใช้เป็นแหล่งของมัลเบอร์โรไซด์ เอ

การศึกษาผลของความเจือจางของอาหารเหลว MS ที่ปราศจากน้ำตาลซูโครส พบว่า ความเข้มข้นของอาหารเหลว MS มีความสำคัญอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของต้นหม่อนที่เพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ การเจริญเติบโตนี้มีผลโดยตรงต่อปริมาณรากที่ได้และการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน ดังนั้นการเลือกใช้ความเข้มข้นของอาหารเหลวที่เหมาะสม ไม่เพียงแต่ช่วยลดต้นทุนในการผลิต แต่ยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นหม่อนและการสะสมสารสำคัญในรากอย่างมีประสิทธิภาพ โดยผู้วิจัยพบว่าอาหารเหลว MS ที่ปราศจากน้ำตาล ที่ความเจือจาง 1/4 เท่า นั้นมีประสิทธิภาพทั้งในเรื่องของการเจริญเติบโตและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปศึกษาและปรับปรุงการเพาะเลี้ยง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตรากหม่อนด้วยการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์ต่อไป

การศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงเพื่อเก็บเกี่ยวราก พบว่า อายุของต้นหม่อนและระยะเวลาการเก็บเกี่ยวรากมีผลต่อปริมาณของมัลเบอร์โรไซด์ เอ โดยพบว่าต้นหม่อนที่มีอายุน้อยจะเหมาะสมต่อการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ โดยเฉพาะเมื่อเริ่มเพาะเลี้ยงในเดือนแรกจะให้ปริมาณมัลเบอร์โรไซด์ เอ สูงสุด ดังนั้นรูปแบบการเพาะเลี้ยงที่ 2 ซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์เป็นเวลา 1 เดือน ก่อนที่จะเก็บเกี่ยวรากและไม่มีการเพาะเลี้ยงต่อ เป็นรูปแบบที่เหมาะสมในการศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นหม่อนในระบบไฮโดรโปนิกส์เพื่อผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงน้อยและมีความคุ้มค่ากับต้นทุนการผลิตมากกว่ารูปแบบอื่นๆ ในการศึกษานี้

การศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช พบว่าจากการศึกษานี้เป็นการเน้นย้ำให้เห็นศักยภาพของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อหม่อนสายพันธุ์นี้ ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มการเกิดรากได้ โดยอาหารเหลว MS ที่ความเจือจาง 1/4เท่าปราศจากน้ำตาลซูโครส และเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึงแม้ว่าการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ไม่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม แต่อาหารสูตรนี้สามารถส่งเสริมการเจริญของต้นหม่อนได้อย่างดีและให้ปริมาณรากสูงขึ้น การทดลองนี้อาจเป็นแนวทางสำคัญในการเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพรด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์เพื่อเป็นแหล่งของสารทุติยภูมิที่ยั่งยืนในอนาคต

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ในการศึกษาผลของสารละลายสารสกัดยีสต์ต่อการเจริญเติบโตของรากหม่อนและการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ในรากหม่อน แบบเขย่าในระบบปลอดเชื้อ พบว่า ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รากหม่อนสามารถนำธาตุอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโตต่อไปได้ แต่ในการศึกษานี้ยังไม่พบความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์ที่เหมาะสมต่อการสะสมของมัลเบอร์โรไซด์ เอ ดังนั้นควรมีการศึกษาในระยะเวลาที่ใช้ในการกระตุ้นและความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์ ที่เวลาระยะเวลาในการกระตุ้นและความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์อื่นเพิ่มเติม เพื่อปรับปรุงให้เหมาะสมต่อการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ

5.2.2 ควรมีการศึกษาองค์ประกอบภายใน Culture filtrate เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ผลการทดลองที่มากขึ้น และเพื่อหาแนวทางในการปรับปรุงผลลัพธ์ของการทดลองนี้ให้ดียิ่งขึ้น

5.2.3 ในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์ ควรมีการศึกษาผลจากการเติมตัวกระตุ้นอื่นๆ เพื่อส่งเสริมการผลิตมัลเบอร์โรไซด์ เอ จากรากหม่อน และเพื่อยับยั้งการปนเปื้อนในระบบอันเป็นการส่งเสริมการใช้สารอาหารของพืชให้มีประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ และ จตุรงค์ จันทร์สี่ทิศ. (2554). จากแฟ้มงานวิจัย มก. ปลูกผักไร้ดิน.

พัฒนา เหล่าไพบูลย์. (2554). HPLC โครมาโตกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง หลักการและการประยุกต์ใช้ High Performance Liquid Chromatography Principles and Applications (พิมพ์ครั้งที่ 3). ขอนแก่น: หจก.ขอนแก่นการพิมพ์.

พิมพ์ชนา วงศ์พิศาล, พรศิลป์ สีเผือก, ชัยสิทธิ์ ปรีชา และ วุฒิชัย สีเผือก. (2559). การคัดเลือกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนนสจากซากปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.). แก่นเกษตร, 44, 948-952.

พีรเดช ทองอำไพ. (2529). ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ยลดา ศรีเศรษฐ์, กนกวรรณ จารุกำจร และ วรัญญา จตุพรประเสริฐ. (2559). ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหม่อน. วรสารเภสัชศาสตร์อีสาน, 12, 14-27.

วีระพล จันทร์ดียิ่ง. (2016). การประยุกต์การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. Health Science, Science and Technology Reviews. 9, 1–4.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). สารานุกรมสมุนไพร. โอเดียนสโตร์:กรุงเทพมหานคร.

ศุภวรรณ บุญระเทพ. (2549). การผลิตพืชสมุนไพรโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและเทคโนโลยีชีวภาพ. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์. 20.

สกุลณา สมสิทธิกุล, สุปาจรีย์ วิสุทธิวรรณ, หนึ่งฤทัย บัวดิศ และ พนา โลหะทรัพย์ทวี. (2556). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหม่อน. (ปริญญานิพนธ์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง), หน้า 25-26.

สมัคร สุจริต. (2560). ยาสมุนไพร...เรื่องใกล้ตัว. วารสารวิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์และเทคโนโลยี, 1, 9-13.

สิริภัทร์ พราหมณีย์. (2560). เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อพืช เพื่อการขยายและปรับปรุงพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรดี สหวัชรินทร์. (2542). เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. (พิมพ์ครั้งที่ 3). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะเกษตร ภาควิชาพืชสวน โครงการวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพมหานคร : หจก. ไดนามิคการพิมพ. 196 น.

Akram, M., and Aftab, F. (2012). Efficient micropropagation and rooting of king white mulberry (*Morus macroura* Miq.) var. laevigata from nodal explants of mature tree. *Pakistan Journal of Botany*, 44, 285–289.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ali, A., Ahmad, T., Abbasi, N. A., and Hafiz, I. A. (2009). Effect of different concentrations of auxins on *in vitro* rooting of olive cultivar 'Moraiolo'. *Pakistan Journal of Botany*, 41, 1223-1231.

Anis, M., Faisal, M., and Singh, S. K. (2003). Micropropagation of mulberry (*Morus alba* L.) through *in vitro* culture of shoot tip and nodal explants. *Plant Tissue Culture*, 13, 47-51.

Aroonpong, P. and Chang, J., (2015). Micropropagation of a difficult-to-root weeping mulberry (*Morus alba* ver. Shidareguwa): A popular variety for ornamental purposes. *Scientia Horticulturae*, 194, 320-326.

Bhau, B. S., and Wakhlu, A. K. (2001). Effect of genotype, explant type and growth regulators on organogenesis in *Morus alba*. Plant cell, *Tissue, and Organ Culture*, 66, 25-29.

Castro, A. H. F., Braga, K. D. Q., Sousa, F. M. D., Coimbra, M. C., & Chagas, R. C. R. (2016). Callus induction and bioactive phenolic compounds production from *Byrsonima verbascifolia* (L.) DC.(Malpighiaceae). *Revista Ciência Agronômica*, 47, 143-151.

Damrongmongcolkul, N., Phunpruch, S., and Lohasupthawee, P. (2022). Mulberroside A accumulation in mulberry plantlets from *in vitro* culture and hydroponic system. *Current Applied Science and Technology*. 23, DOI: 10.55003/cast.2022.04.23.004

Damrongmongcolkul, N., Phunpruch, S., and Lohasupthawee, P. (2023). The Effect of Indole-3-Butyric Acid and Salinity Stress on Growth of Mulberry Root and Mulberroside A Accumulation. The 35th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference "Sustainable Development through Bio-Circular Green (BCG) Economy Model" (446-459). Nakhon Ratchasima, Thailand: Suranaree University of Technology.

Devi, B., Sharma, N., Kumar, D., and Jeet, K. (2013). *Morus alba* Linn. : a Phytophamacological review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 5, 14-18.

Dubey, V., Khan, S., Shah, K. W., and Raghuwanshi, R. K. (2020). Effect of Growth Regulators on Callus Culture and Regeneration of *Morus alba* L. *Pharmaceutical and Biosciences Journal*, 41-45.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

El-Desuki, M., and El-Gereadly, N. H. (2006). Response of pea plants to foliar application of yeast extract. *Journal of Plant Production*, 31, 6667-6674.

Elmongy, M. S., Cao, Y., Zhou, H., and Xia, Y. (2018). Root development enhanced by using indole-3-butyric acid and naphthalene acetic acid and associated biochemical changes of *in vitro* Azalea microshoots. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37, 813-825.

Fang, L., Sharma, A. R., Aniemena, C., Roedel, K., Henry, F., Moussou, P., and Medina-Bolivar, F. (2022). Elicitation of stilbenes and benzofuran derivatives in hairy root cultures of white mulberry (*Morus alba*). *Plants*, 12, 175.

Flores, H. E., Hoy, M. W., and Pickard, J. J. (1987). Secondary metabolites from root cultures. *Trends in Biotechnology*, 5, 64-69.

Frick, E. M., and Strader, L. C. (2018). Roles for IBA-derived auxin in plant development. *Journal of Experimental Botany*. 69, 169-177.

Gontier, E., Clément, A., Tran, T. L. M., Gravot, A., Lievre, K., Guckert, A., and Bourgaud, F. (2002). Hydroponic combined with natural or forced root permeabilization: a promising technique for plant secondary metabolite production. *Plant Science*, 163, 723-732.

Ishikawa, A., Kitamura, Y., Ozeki, Y., and Watanabe, M. (2007). Different responses of shoot and root cultures of *Glehnia littoralis* to yeast extract. *Journal of natural medicines*, 61, 30-37.

Komaikul, J., and Kitisripanya, T., (2013). Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Specific Detection of Mulberroside A in Mulberry (*Morus alba* L.) Using Anti-mulberroside A Polyclonal Antibody. *Food Anal Methods*. DOI 10.1007/s12161-013-9598-4.

Komaikul, J., Kitisripanya, T., Tanaka, H., Sritularak, B., and Putalun, W. (2015). Enhanced mulberroside A production from cell suspension and root cultures of Morus alba using elicitation. *Natural product communications*, 10, 1934578X1501000730.

Mei, M., Ruan, J., Wu, W., Zhou, R., Lei, J., Zhao, H., Yan, R., and Wang, Y., (2011). *In Vitro* Pharmacokinetic Characterization of Mulberroside A, the Main Polyhydroxylated Stilbene in Mulberry (*Morus alba* L.), and Its Bacterial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Metabolite Oxyresveratrol in Traditional Oral Use. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 2299-2308.

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

Muthi'ah, A., Sakya, A. T., Setyawati, A., and Rahayu, M. (2023). Callus induction of *Calotropis gigantea* using BA and 2, 4-D *in vitro*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1177, 012021.

Nandagopal, S., and Kumari, D.R. (2007). Effectiveness of Auxin Induced *In Vitro* Root Culture in Chicory. *Journal Central European Agriculture*, 8, 73-80.

Piao, S. J., Chen, L. X., Kang, N., and Qiu, F. (2011). Simultaneous determination of five characteristic stilbene glycosides in root bark of *Morus albus* L.(Cortex Mori) using high-performance liquid chromatography. *Phytochemical Analysis*, 22, 230-235.

Ramakrishna, A., and Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior,* 6, 1720–1731.

Roy, A., and Bharadvaja, N. (2019). Establishment of root suspension culture of *Plumbago zeylanica* and enhanced production of plumbagin. *Industrial Crops and Products*, 137, 419-427.

Sajeevan, R. S., Singh, S. J., Nataraja, K. N., and Shivanna, M. B. (2011). An efficient *in vitro* protocol for multiple shoot induction in mulberry, *Morus alba* L variety V1. *International Research Journal of Plant Science*, 2, 254-261.

Sakurai, M., Sato, S., Fukushima, T., and Konishi, T. (2022). Characteristics of *Morus alba* L. Cultured by In-Room Hydroponics. *American Journal of Plant Sciences*, 13, 91-108.

Sauer, M., Robert, S., and Kleine-Vehn, J. (2013). Auxin: simply complicated. *Journal of Experimental Botany*, 64, 2565-2577.

Souid, I., Toumi, I., Hermosin-Gutierrez, I., Nasri, S., Mliki, A., and Ghorbel, A. (2019). The effect of salt stress on resveratrol and piceid accumulation in two *Vitis vinifera* L. cultivars. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25, 625-635.

Sugiyama, M. (1999). Organogenesis *in vitro*. *Scientia Horticulturae*, 116, 61-64.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tippmann, H. F., Schluter, U., and Collinge, D., B. (2006). Common themes in biotic and abiotic stress signalling in plants. *Floriculture Ornamental and Plant Biotechnology*, 3, 52–67.

Wuttidhammaved, W. (2007). The Rattanakosin Pharmacy Ancient Book. Bangkok: Odian store.

Yildiz, M., and Er, C. (2002). The effect of sodium hypochlorite solutions on *in vitro* seedling growth and shoot regeneration of flax (*Linum usitatissimum*). *Naturwissenschaften*, 89, 259-261.

Yildiz, M., Fatih Ozcan, S., T Kahramanogullari, C., and Tuna, E. (2012). The effect of sodium hypochlorite solutions on the viability and *in vitro* regeneration capacity of the tissue. *The Natural Products Journal*, 2, 328-331.

Zapata, E. V., Morales, G. S., Lauzardo, A. N. H., Bonfil, B. M., Tapia, G. T., Sánchez, A. D. J., Valle, M.V.D. and Aparicio, A.J., (2003). *In vitro* regeneration and acclimatization of plants of turmeric (*Curcuma longa* L.) in a hydroponic system. *Biotecnología Aplicada*. 20, 25-31.

Zhao, Q., Li, M., Li, M., Jin, L., and Wei, J. (2023). Changes in Growth Characteristics and Secondary Metabolites in *Sinopodophyllum hexandrum* with Increasing Age. *Industrial Crops and Products*, 169, 116509.

Zhou, J., Li, S., Wang, W., Guo, X., Lu, X., Yan, X., Huang, D., Wei, B., and Cao, L., (2013). Variations in the Levels of Mulberroside A, Oxyresveratrol, and Resveratrol in Mulberries in Different Seasons and during Growth. *The Scientific World Journal*. 2013, ArticleID380692.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

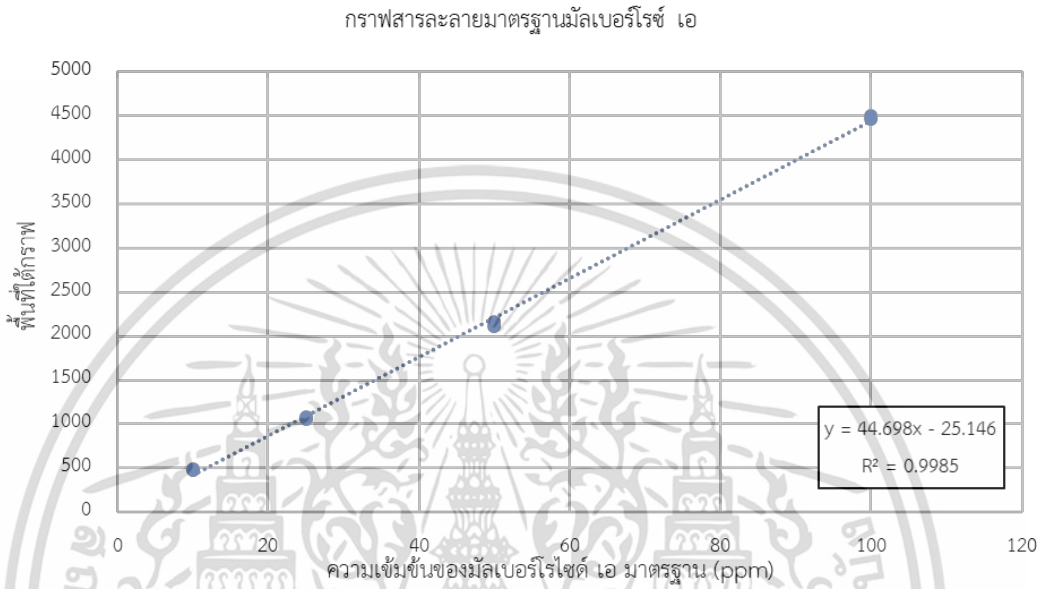
ภาคผนวกที่ 1ก สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS : Murashige and Skoog (1962) ; Phytotech

องค์ประกอบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
H_3BO_3	6.2
KH_2PO_4	170
KI	0.83
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025
Na_2EDTA	37.3
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.8
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Myo-inositol	100
Sucrose	30,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ภาคผนวกที่ 1ข กราฟสารละลานมาตรฐานของมัลเบอร์โรไซด์ เอ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวณัฐวรา ดำรงค์มงคลกุล
วัน เดือน ปีเกิด	วันพฤหัสบดีที่ 14 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2541
ที่อยู่ปัจจุบัน	12 ถ.ศุภกิจ ต.หน้าเมือง อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา 24000
ประวัติการศึกษา	(2563) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ เกรดเฉลี่ย 3.50 เกียรตินิยมอันดับ 1 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (2567) วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ทุนการศึกษา	ทุนยกเว้นค่าทำเนียมการศึกษาสำหรับหลักสูตรปริญญาโท เป็นระยะเวลาไม่เกิน 2 ปี

ผลงานทางวิชาการ

Damrongmongcolkul, N., Phunpruch, S., and Lohasupthawee, P. (2022). Mulberroside A accumulation in mulberry plantlets from *in vitro* culture and hydroponic system. *Current Applied Science and Technology*. 23, DOI: 10.55003/cast.2022.04.23.004

Damrongmongcolkul, N., Phunpruch, S., and Lohasupthawee, P. (2023). The Effect of Indole-3-Butyric Acid and Salinity Stress on Growth of Mulberry Root and Mulberroside A Accumulation. The 35th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference "Sustainable Development through Bio-Circular Green (BCG) Economy Model" (446-459). Nakhon Ratchasima, Thailand: Suranaree University of Technology.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้