การขยายพันธุ์ชิงชัน (*Dalbergia oliveri)* ในหลอดทดลอง

In vitro Propagation of *Dalbergia oliveri*

เตชพัฒน์ ศรีจุลฮาด

อารียา นามคุณ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

In vitro Propagation of *Dalbergia oliveri*

TECHAPAT SRIJUNHARD

AREEYA NAMKHUN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ACADEMIC YEAR 2022

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การขยายพันธุ์ชิงชัน (*Dalbergia oliveri)* ในหลอดทดลอง *In vitro* propagation of *Dalbergia oliveri*
ชื่อนักศึกษา	นายเตชพัฒน์ ศรีจุลฮาด รหัสนักศึกษา 62050490 นางสาวอารียา นามคุณ รหัสนักศึกษา 62050563
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ดร.วิมลมาศ บุญมี กรรมการ	
รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม กรรมการ และอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การขยายพันธุ์ชิงชัน (*Dalbergia oliveri*) ในหลอดทดลอง

ชื่อนักศึกษา นายเตชพัฒน์ ศรีจุลฮาด รหัสนักศึกษา 62050490

นางสาวอารียา นามคุณ รหัสนักศึกษา 62050563

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนข้อ ลำต้น และเมล็ดของต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri)* มาชักนำให้เกิดยอดและราก โดยเริ่มแรกจะใช้อาหารแข็งสูตร MS และ 1/2MS ระหว่างการศึกษาเพื่อหาสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช จากนั้นพบว่า อาหารแข็งสูตร MS เจริญเติบโตได้สูงสุดและใช้ระยะเวลาสั้นในการทดลอง คิดเป็นร้อยละ 70 ส่วนอาหารแข็งสูตร 1/2MS สามารถเจริญเติบโตได้สูงสุด คิดเป็นร้อยละ 52 ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดยอดจากใบเลี้ยงของต้นชิงชัน ในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง KN และ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ส่วนของข้อเกิดยอดได้จำนวนสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 86 ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำส่วนของข้อบริเวณใบเลี้ยงได้จำนวนสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 70 และการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดรากจากยอดที่แข็งแรงของต้นชิงชัน ในอาหารแข็งสูตร 1/2MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนของยอดให้เกิดรากได้จำนวนมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 65 ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

คำสำคัญ ต้นชิงชัน สารควบคุมการเจริญเติบโต การชักนำให้เกิดยอด การชักนำให้เกิดราก

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	*In vitro* propagation of *Dalbergia oliveri*
Students	Mr. Techapat Srijunhard Student ID 62050490
	Miss Areeya Namkhun Student ID 62050563
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkul's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2565
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Anurug Poeaim

Abstract

Studied tissue culture from nodes, stems and seeds of *Dalberdia oliveri* to induce shoots and roots. Initially, MS and 1/2MS solid media were used during the study to determine the plant growth regulators. It was then found that the MS solid medium had the maximum number of growths and short duration. Short on trial was 70%, while 1/2MS solid medium achieved the highest growth, representing 52%, at 8 weeks.

The effect of growth regulators on shoot formation of *Dalberdia oliveri* was studied in MS supplemented with KN and BA at 0.5, 1, 1.5 and 2 mg/L. At 0.5 mg/L of BA, the highest percentage of shoot induction from the nodes was 86%, and at 1 mg/L of KN, the highest percentage of shoot induction from the cotyledons was 70%. The effects of growth regulators on root formation from vigorous shoots of *Dalberdia oliveri*. They were studied on 1/2MS supplemented with NAA and IBA at 1, 1.5, 2 and 2.5 mg/L. The results found that at 1 mg/L of IBA, the highest percentage of shoots induced to form roots was 65% during 4 weeks of culture.

Keywords: *Dalberdia oliveri*, growth regulator, shoot induction, root induction

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้จัดขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษา แนวคิด ความรู้ ตลอดจนถึงการปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่อง ข้อผิดพลาดต่างๆ จนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้เสร็จเรียบร้อยอย่างสมบูรณ์ ผู้จัดทำโครงงานพิเศษกราบขอพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และ ดร.วิมลมาศ บุญมี ที่ให้เกียรติเป็นประธานกรรมการและกรรมการโครงงานพิเศษ รวมไปถึงให้คำแนะนำ ข้อแก้ไขในการปรับปรุงโครงงานพิเศษ

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่งสำหรับพ่อแม่ บุคคลอันเป็นที่รักและเคารพทุกท่านที่คอยเป็นกำลังใจตลอดมา ขอบคุณพี่ๆนักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาชีววิทยา ที่เป็นทั้งผู้ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางที่เหมาะสม และช่วยเป็นกำลังใจเสมอมา รวมถึงเพื่อนร่วงงานทุกคนที่อำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือ ในการจัดทำโครงงานพิเศษ คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง รวมไปถึงผู้ที่สนใจศึกษาต่อไป หากมีข้อผิดพลาดประการใด ทางคณะผู้จัดทำขออภัยมา ณ ที่นี้

เตชพัฒน์ ศรีจุลฮาด

อารียา นามคุณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ข
กิตติกรรมประกาศ.....ค
สารบัญ.....ง
สารบัญตาราง.....ฉ
สารบัญรูป.....ช
คำย่อ/สัญลักษณ์.....ณ
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3
2.1 ต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri* Prain).....3
2.1.1 อนุกรมวิธาน.....3
2.1.2 ลักษณะทางพฤษศาสตร์ต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri* Prain).....3
2.1.3 ประโยชน์ของต้นชิงชัน.....5
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....5
2.2.1 ความหมายและความเป็นมา.....5
2.2.2 อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....6
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....7
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....11
3.1 วัสดุและอุปกรณ์.....11
3.1.1 พืชที่ใช้ในการศึกษา.....11
3.1.2 สารเคมี.....11
3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง....12
3.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดของพืช....12
3.2.2 การศึกษาผลของอาหารสังเคราะห์ Murashige and Skoog (MS) ระหว่างการหาสารควบคุมการเจริญเติบโตของเมล็ดชิงชัน....12
3.2.3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดจากส่วนของต้นที่เจริญเติบโตจากเมล็ดต้นชิงชัน....13
3.2.4 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำรากจากส่วนของต้นที่เจริญเติบโตจากเมล็ดต้นชิงชัน....13
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล....15
4.1 ผลการศึกษาการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดชิงชันในอาหารสังเคราะห์ MS และ 1/2 MS ของต้นชิงชัน....15
. 4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ต่อการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อของต้นชิงชัน....20
4.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการชักนำรากจากชิ้นส่วนยอดของต้นชิงชัน....29
4.4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ในการชักนำยอดและ IBA และ NAA ในการชักนำราก ที่ส่งผลต่อการเกิดแคลลัส....33
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ....34
5.1 สรุปผลการวิจัย....34
5.2 ข้อเสนอแนะ....35
เอกสารอ้างอิง....36
ภาคผนวก....37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1.1 ผลการศึกษาวิธีฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดต้นชิงชันด้วยวิธีที่ 1 และ 2.....17

4.1.2 ผลการศึกษาการงอกของเมล็ดต้นชิงชัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....17

4.1.3 ผลการศึกษาการงอกของเมล็ดต้นชิงชัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์.....19

4.2.1 ผลการศึกษาการชักนำยอดจากส่วนข้อของต้นชิงชันในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN เป็นระยะเวลา4 สัปดาห์.....22

4.2.2 ผลการศึกษาการชักนำยอดจากส่วนข้อของต้นชิงชันในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์.....26

4.3 ผลการศึกษาการชักนำรากจากส่วนยอดของต้นชิงชันในในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะลำต้นและฝักของต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri*).....4

2.2 ลักษณะของเมล็ดต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri*).....4

4.1.1 การเพาะเมล็ดชิงชันในขวดทดลอง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....16

4.1.2 การเพาะเลี้ยงชิงชันในขวดทดลอง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์.....18

4.2.1. ลักษณะของยอดชิงชันที่เลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต รูป ก ที่ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ Control รูป ข-จ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และรูป ฉ-ฌ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....21

4.2.2 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการเกิดยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....23

4.2.3 แสดงการเปรียบเทียบจำนวนยอดเฉลี่ยต่อข้อในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....23

4.2.3 แสดงการเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....24

4.2.4 ลักษณะของยอดชิงชันที่เลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต รูป ก ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และรูป ข-จ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ รูป ฉ-ฌ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์.....25

4.2.5 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการเกิดยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์.....27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.2.6 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละจำนวนของยอดเฉลี่ยต่อข้อในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์.....27

4.2.7 แสดงการเปรียบเทียบความยาวของยอดเฉลี่ยในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์.....27

4.3.1 ลักษณะของรากชิงชันที่เลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต รูป ก ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต และรูป ข-จ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และรูป ฉ-ฌ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์.....30

4.3.2 แสดงการเปรียบเทียบความยาวของรากเฉลี่ยในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....32

4.3.3 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการเกิดรากในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ	คำอธิบาย
MS	Murashige and Skoog (1962) Basal Medium
PPM	Plant Preservative Mixture Solution
BA	N6-Benzyladenine
KN	N6-Furfurylaminopurine
IBA	Indole-3-Butyric Acid
NAA	Naphthalene Acetic Acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ชิงชัน (*Dalbergia oliveri*) จัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ และเป็นพืชสมุนไพร ส่วนประโยชน์ของต้นชิงชันจะเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่ถูกถ่ายทอดภูมิปัญญา จึงนำไปใช้ประโยชน์ต่อทางการแพทย์ เพื่อการรักษาโรค จะใช้แก่นไม้และเปลือก ซึ่งรายละเอียด มีดังนี้ 1. แก่นของชิงชัน จะมีรสฝาด สามารถนำมาใช้บำรุงเลือด ซึ่งเหมาะกับสตรีหลังคลอด 2. เปลือกของชิงชันสามารถนำมาใช้ในการสมานแผล รักษาแผลเรื้อรังได้ ส่วนประโยชน์อื่นๆของชิงชัน นั้นนิยมนำไม้มาใช้ประโยชน์ เช่น สร้างบ้าน ทำเฟอร์นิเจอร์ เป็นต้น และชิงชัน จัดว่าเป็นพืชที่หายาก พบมากในป่า มีอายุหลายปี สูง 10-25 เมตร เรือนยอดเป็นพุ่มกว้าง โปร่ง เปลือกต้นสีเทาเป็นเกล็ดบางๆ ส่วนเปลือกด้านในสีเหลือง ใบประกอบแบบขนนก ใบย่อย 5-7 คู่ เรียงสลับ กว้าง 1.5-3 เซนติเมตร ยาว 5-8 เซนติเมตร ปลายมน โคนกลมมน ผิวใบเลี้ยงเป็นมัน ส่วนของดอกเป็นช่อแบบช่อเชิงประกอบ ออกตามปลายกิ่ง ดอกสีขาวอมม่วง เกสรเพศผู้แบ่งเป็น 2 กลุ่ม และส่วนของผลเป็นฝัก มีลักษณะแบน แผ่เป็นปีกยาวรูปรี หรือรูปขอบขนานผิวเรียบ ส่วนที่หุ้มเมล็ดหนาแข็ง โดยทั่วไปพบในป่าเบญจพรรณ และป่าดิบแล้ง ที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล 100-700 เมตร สถานภาพเป็นไม้หวงห้ามธรรมดาประเภท ก. (ไม่ว่าจะขึ้นอยู่ที่ใดในประเทศไทย แม้จะปลูกไว้ในที่ดินของตนเอง หรือกระทำการใดๆ ต่อไม้ ต้องยื่นคำขออนุญาตทำไม้เพื่อการใช้สอยส่วนตัวต่ออำเภอ หรือสำนักงานทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมจังหวัดในท้องที่เสียก่อน ตามขั้นตอนการขออนุญาตทำไม้สักและไม้ยางในที่ดินกรรมสิทธิ์หรือสิทธิครอบครอง ตามข้อกำหนดฉบับที่ 17 (พ.ศ.2530)) ด้วยเหตุนี้จึงมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Tissue Culture Technigue) มาประยุกต์ใช้เพื่อขยายพันธุ์พืชที่หายากและเป็นไม้ที่ควรอนุรักษ์พันธุ์ไว้ โดยการนำเอาชิ้นส่วนของพืช ซึ่งอาจเป็นโปรโตพลาสต์ เซลล์ เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะของพืชมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม อันได้แก่ แสง อุณหภูมิ และความชื้น เพื่อการขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว และเพื่อให้ชิ้นส่วนเหล่านั้นของต้นพืชเจริญพัฒนาเป็นต้นใหม่ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมกับการเจริญ และชักนำให้เกิดอวัยวะจากชิ้นส่วนของต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri)*

2. เพื่อศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อของต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri*)

3. เพื่อเพิ่มจำนวนพันธุ์ไม้ชิงชัน ไม่ให้เกิดการสูญพันธุ์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการเจริญเติบโตของต้นชิงชันจากการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ด โดยใช้สูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS, 1962) ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-Benzyladenine (BA) N6-Furfurylaminopurine (KN) Indole-3-Butyric Acid (IBA) และ Naphthalene Acetic Acid (NAA) และศึกษาการนำชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นอ่อน มาชักนำให้เกิดอวัยวะต่างๆ เช่น ยอด และราก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสูตรการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดที่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงต้นชิงชันในหลอดทดลอง

2. ทราบสูตรอาหารและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อในส่วนข้อชิงชัน (*Dalbergia oliveri*)

3. ทราบผลการชักนำยอดจากส่วนข้อ และการเกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri*)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri*)

2.1.1 อนุกรมวิธาน

Kingdom Plantae

Division Magnoliophyta

Class Magnoliopsida

Order Fabales

Family Fabaceae-Papilionoideae

Genus *Dalbergia*

Specific epithet *oliveri*

(ที่มา :http://biodiversity.forest.go.th/index.php?option=com_dofplant&id=811&view=showone&Itemid=59)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri*)

ชิงชัน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dalbergia oliveri* ชื่อสามัญว่า Blackwood และ Rosewood ลักษณะต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูง 10 – 25 เมตร ใบประกอบแบบขนนกปลายคี่ ใบและใบย่อย เรียงสลับ ปลายใบแหลม กว้าง 1.5 – 2.5 เซนติเมตร ยาว 3 – 4 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อแยกแขนง เกิดตามกิ่งปลายกิ่ง กลีบเลี้ยง 5 กลีบ และโคนติดกันปลายแยกเป็นแฉก กลีบดอก 5 กลีบ รูปดอกถั่ว สีม่วงอ่อน ม่วงแดง ชมพู เกสรเพศผู้ 10 อัน เชื่อมติดสองกลุ่ม กลุ่มละ 5 อัน ส่วนผลเป็นฝักแบบถั่ว รูปยาวรี มีสีน้ำตาลเข้ม กว้าง 3 – 3.5 เซนติเมตร ยาว 8 – 17 เซนติเมตร เปลือกฝักตรงส่วนที่มีเมล็ดจะพองนูนเป็นเต้าออกมาเด่นชัด ดังรูปที่ 2.1 ปลายฝักแหลม แต่ละฝักมี 1 – 3 เมล็ด เป็นเมล็ดรูปไต ดังรูปที่ 2.2 และสีของเปลือกในจะเป็นสีเหลือง การปลูกเลี้ยงจะใช้ดินทั่วไป เนื่องจากต้นชิงชันทนต่อหลายสภาพแวดล้อม การขยายพันธุ์จะใช้วิธีการเพาะเมล็ด โดยทั่วไปต้นกล้าของชิงชันจะใช้เวลาเจริญเติบโตภายในระยะเวลา 6 เดือน จะมีความสูงประมาณ 35 – 45 เซนติเมตร ต้นชิงชันชอบแสงแดดจัด จึงปลูกไว้ที่กลางแจ้ง ในพื้นที่โดนแสงแดดตลอดทั้งวัน และต้องการน้ำในปริมาณปานกลาง เนื่องจากเป็นต้นไม้ที่ชอบแสงแดด การใส่ปุ๋ย จะใส่ สูตร 15-15-15 หรือปุ๋ย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คอก ปุ๋ยหมัก ผสมปุ๋ยเคมี ได้ทั้งหมด หากต้องการเร่งส่วนใดส่วนหนึ่งสามารถใส่ปุ๋ยสูตรอื่นได้ (กาญจนา, 2563)

รูปที่ 2.1 ลักษณะลำต้นและฝักของต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri*)

(ที่มา : https://khaolan.redcross.or.th/%E0%B8%8A%E0%B8%B4%E0%B8%87%E0%B8%8A%E0%B8%B1%E0%B8%99/)

รูปที่ 2.2 ลักษณะของเมล็ดต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri*)

(ที่มา : ภาพจากผู้จัดทำ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ประโยชน์ของต้นชิงชัน

ประโยชน์และสรรพคุณของชิงชันมีดังนี้

1. ส่วนของแก่น ช่วยในการบำรุงโลหิตในผู้หญิงได้ดี ให้รสฝาดร้อน

2. ส่วนของเปลือก สามารถนำไปต้ม แล้วนำมาชะล้างหรือสมานบาดแผลได้ รวมทั้งรักษาแผลเรื้องรัง

นอกจากนี้ ต้นชิงชันสามารถนำมาทำเครื่องดนตรี เครื่องเรือน หรือเครื่องใช้สอย เช่น กลองตะโพน คันไถ ด้ามปืน ด้ามมีด ตู้ เตียง หรือโต๊ะ ฯลฯ เพราะลักษณะเนื้อไม้ของชิงชันจะค่อนข้างแข็งและเหนียว ยังมีความสวยงามมาก จึงทำให้ต้นชิงชันเป็นไม้ที่หายากมีราคาแพง เนื่องจากมีทั้งประโยชน์ทางสมุนไพรและทางอุตสาหกรรมพื้นบ้าน (กาญจนา จันทร์สิงห์, 2563)

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (พัชรา, 2550)

2.2.1 ความหมายและความเป็นมา

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture) หมายถึง การนำส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งอาจจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ ตลอดจน โพรโทพลาสต์ (Protoplast) ซึ่งได้แก่ส่วนของเซลล์พืชที่ได้แยกเอาผนังเซลล์ออกไป แล้วนำมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ (Aseptic Condition) โดยอาหารสังเคราะห์ และสภาพแวดล้อม ที่ควบคุม เช่น แสง อุณหภูมิ และความชื้น

2.2.2 อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่สำคัญยิ่งประการหนึ่ง ได้แก่ อาหารสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นเพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งต้องมีความเหมาะสม สามารถส่งเสริมการเจริญของเซลล์และเนื้อเยื่อพืชได้

องค์ประกอบหลักของ อาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ โดยทั่วไป มีดังต่อไปนี้

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

2. คาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาล ซึ่งจะให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตในหลอดทดลอง นิยมใช้สูตร (Sucrose) เป็นส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 2 – 5 โดยน้ำหนัก

3. วิตามิน ช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เป็นไปได้อย่างดี ปกติพืชสามารถสังเคราะห์วิตามินได้เอง แต่ในหลอดทดลองอาจสร้างได้ไม่เพียงพอ จึงมักต้องเติมให้สม่ำเสมอ คือ ไทอามีน (Thiamine) 0.1 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ การให้วิตามินเสริมจำพวกนิโคทินิกแอซิด (Nicotinic Acid)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไพริดอกซินไฮโดรคลอไรด์ (Pyridoxine Hydrochloride) ไมโออินอซิทอส (Myoinositol) ไฟลิกแอซิด (Folic Acid) และแคลเซียมดีเพนโท – ทิเน็ต (Ca D-Pentothenate) ยังช่วยกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อพืชบางชนิดอีกด้วย

4. กรดแอมิโน เป็นแหล่งให้ไนโตรเจน เช่น การเติมเคซีน-ไฮโดรไลเซต (Casein Hydrolysate) ร้อยละ 0.02 – 1.00 ช่วยให้มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นอวัยวะได้ดีขึ้น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พบว่ามีผลช่วยชักนำให้เกิดยอด ราก และเอ็มบริโอจากเซลล์ที่ไม่เกี่ยวกับเพศ

5. กรดอินทรีย์ เช่น ซิเทรต (Citrate) มาเลต (Malate) ซักซิเนต (Succinate) หรือฟูมาเรต (Fumarate) ช่วยให้เซลล์โพรโทพลาสต์ของพืชเจริญได้ และยังลดผลเสียจากการใช้แอมโมเนียม

6. สารประกอบจากธรรมชาติที่นิยมใช้ เช่น น้ำมะพร้าว กล้วยบด มันฝรั่ง สารสกัดจากมอลต์ สารสกัดจากยีนส์ ถ่านกัมมันต์ (Activated Charcoal) ช่วยรักษาสมดุลของความเป็นกรดด่าง และบางชนิดช่วยดูดซับสารที่เป็นพิษเนื่องจากมีมากเกินไป

7. สารควบคุมการเจริญของพืช ซึ่งหมายรวมถึงฮอร์โมนพืชด้วย ที่นิยมใช้ ได้แก่ ออกซินมีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ และไซโทไคนิน มีผลต่อการขยายตัวของเซลล์และขนาดของแวคิลโอลในเซลล์จะมีขนาดใหญ่ขึ้น

8. สารที่ทำให้อาหารแข็งตัว โดยทั่วไปมักใช้วุ้น (Agar) และเจลาตินผสมลงในอาหารเพื่อทำให้อาหารแข็งตัว และวัสดุพยุงเนื้อเยื่อ ในการเลี้ยงในอาหารเหลว อาจใช้กระดาษกรองพับเพื่อวางเนื้อเยื่อพืชไม่ให้จมลงไปใต้อาหารเหลว นอกจากนี้ยังมี สำลี และใยสังเคราะห์ก็สามารถช่วยพยุงเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Pradhan (1998) ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อของเมล็ดต้นพะยูงอินเดีย (*Dalbergia latifolia* Roxbury.) โดยจะใช้ Erlenmeyer flask แบบฝาเกลียว ขนาด 30 มิลลิลิตร และ 100 มิลลิลิตร ในการฟอกฆ่าเชื้อ ที่เติมเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ร่วมด้วย Tween-20 จำนวน 5 – 6 หยด เขย่าเป็นระยะเวลา 10 นาที พบว่าเมล็ดเจริญเติบโตได้ในอาหารแข็งสูตร MS

Warrier (1999) ศึกษาการขยายพันธุ์แบบโคลนนิ่งของต้นพะยูงอินเดีย (*Dalbergia latifolia* Roxb.) ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้ส่วนของกิ่งขนาด 30-40 เซนติเมตร ซึ่งจะมียอดอยู่ 12-15 ยอด จะใช้ขนาดของยอดที่ 1.5 เซนติเมตร นำไปฟอกฆ่าเชื้อในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ร่วมกับ ไฮเตอร์ เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 70 ยากันรา (Bavistin) ความเข้มข้นร้อยละ 3 Indofil M-45 คาร์เบนดาซิม กรดแอสคอร์บิก 150 มิลลิกรัมต่อลิตร เมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และเขย่าด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อร่วมกับคลอรีน ทำ 3 ซ้ำ พบว่าเมล็ดเจริญเติบโตได้ดีขึ้น

Sharma (2006) ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อส่วนของปลายยอดและข้อของต้นพะยูงอินเดีย (*Dalbergia latifolia* Roxbury.) โดยจะใช้ต้นที่มีอายุประมาณ 1 – 2 ปี ส่วนของปลายยอดกับข้อในการทดลองจะฟอกฆ่าเชื้อให้มี ขนาด 0.5 – 1 เซนติเมตร ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ร่วมกับ Tween-20 จำนวน 4 – 5 หยด และยากันรา (Carbendazim) ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เขย่าเป็นระยะเวลา 25 – 30 นาที จากนั้นเขย่าด้วยน้ำกลั่นที่ผ่าการฆ่าเชื้อร่วมกับน้ำยาล้างจาน ประมาณ 3 – 4 ครั้ง จากนั้นทำการล้างสารฟอกฆ่าเชื้อออกโดยย้ายชิ้นส่วนพืชลงในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทำการเขย่าซ้ำ 1 ครั้ง

Abhijit (2020) การกระตุ้นด้วยเมทิลจัสโมเนตและกรดซาลิไซลิก ต่อการผลิตอินโดลอัลคาลอยด์จากการเพาะขยายพันธุ์ขนาดเล็กของพืชสมุนไพรอายุที่ใกล้สูญพันธุ์ *Rauvolfia serpentina* Benth. ในหลอดทดลอง พบว่าการเพิ่มจำนวนยอดสูงสุดในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ KN ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และสูตรอาหาร 1/2MS ที่เสริมด้วย IBA ทั้งหมด 2 ความเข้มข้น คือ 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า IBA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีรากเจริญได้สูงสุด

Rajesh (2016) ศึกษาการเพาะเลี้ยง *Butea monosperma* (Lam.) ในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นต้นพืชตระกูลถั่วที่มีศักยภาพทางยา สารสกัดจากเปลือกต้นใช้รักษาโรคดีซ่าน โรคผิวหนัง และแก้ท้องเสีย จึงนำมาขยายพันธุ์ โดยใช้อาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย BAP ทั้งหมด 4 ความเข้มข้น คือ 2.20 3.11 4.44 และ 6.66 ไมโครโมลาร์ พบว่า BAP ที่ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้จำนวนยอดสูงสุด และ KN ทั้งหมด 4 ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น คือ 2.32 3.25 4.65 และ 6.97 ไมโครโมลาร์ พบว่า Kn ที่ความเข้มข้น 4.65 ไมโครโมลาร์ มียอดที่ยาวเพิ่มขึ้น หลังทดสอบเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์

Kicia (2017) ศึกษาการเกิดระยะ Callogenesis ของสายพันธุ์ *Poincianella pyramidalis* (Catingueira) ในหลอดทดลองในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย 2,4-Dichlorophenoxyacetic ความเข้มข้น 0 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีแคลลัสเกิดขึ้นที่บริเวณส่วนของยอดสูงสุดที่ความเข้มข้น 5.13 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบว่าเกิดแคลลัสที่บริเวณส่วนของใบเลี้ยงสูงสุดที่ความเข้มข้น 3.98 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 พืชที่ใช้ในการศึกษา

ชิ้นส่วนของเมล็ด

3.1.2 สารเคมี

- อาหารสังเคราะห์สำเร็จสูตรอาหาร Murashige and Skoog, 1962 (MS)
- N6-Benzylaminopurine (BA)
- Indole-3-Butyric Acid (IBA)
- Plant Preservative Mixture Solution (PPM, PCT Inc.)
- Antibiotic Antimycotic Solution (SIGMA Inc.)
- เมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$)
- สารลดแรงตึงผิว (Tween-20)
- น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (Sterilized Distilled Water)
- ผงวุ้นไฟทาเจล (Phyto Technology Laboratory Inc.)
- น้ำตาลทราย (Sucrose)
- น้ำยาล้างจาน
- คาร์เบนดาซิม (Carbendazim)
- สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล (Hydrochloric Acid, 1 N HCl)
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.05 นอร์มอล และ 1 นอร์มอล (Sodium Hydroxide, 0.05 N and 1 N NaoH)
- สารละลายเอทิลแอลกฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 และ 95
- สารละลาย Cefotaxime : Nina Pharma Lncorporation Co.,Ltd.
- สารละลายโซเดียมไฮโปคอลไรท์ (Sodium Hypochlorite)
- 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และฝาพลาสติกทนความร้อน (Tissue Culture Bottle)
- จานแก้ว (Petri Dish)
- กระบอกตวง (Cylinder)
- ช้อนตักสาร (Spatula)
- ถ้วยชั่งสาร (Weighing Boat)
- ทิป (Tip)
- ไมโครปิเปตต์ (Micropipettes)
- ด้ามมีดและใบมีดผ่าตัด (Scalpel Handle and Scalpel Blade)
- กรรไกรผ่าตัด (Scissors)
- ปากคีบ (Forceps)
- ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test Tube Rack)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Lamp)
- ไฟแช็ค (Lighter)
- กระดาษทิชชู (Tissue Paper)
- ถุงมือยาง (Rubber Gloves)
- พาราฟิล์ม (Parafilm)
- กระดาษฟอยส์ (Aluminium Foil)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (Analytical Balance)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter)
- หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
- เตาไมโครเวฟ (Microwave Oven)
- เครื่องเขย่าไฟฟ้า (Rotary Shaker)
- ตู้เย็น (Refrigerator)
- ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow Cabinet)
- กล้องถ่ายภาพ (Camera)
- เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (Vernier Calipers)
- ถุงร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ดิน (Soil)
- กระถางต้นไม้ (Flowerpot)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดของพืช

นำส่วนของเมล็ดพืชต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri*) มาล้างผ่านน้ำเพื่อชะล้างคราบดินและฝุ่นละอองออก เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปเขย่ายากันรา (Carbendazim) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 เป็นระยะเวลา 20 นาที และนำไปเขย่าในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วร่วมกับเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ร่วมกับ PPM , Antibiotics Antimycotic Solution และ Cefotaxime ความเข้มข้นอย่างละ 80 ไมโครลิตร และเติม Tween-20 จำนวน 3-4 หยด ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 80 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลาทำการล้างสารฟอกฆ่าเชื้อออกโดยย้ายชิ้นส่วนเมล็ดลงในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทำการเขย่าเป็นเวลา 5 นาที โดยล้างซ้ำ 2 ครั้ง เพื่อให้ชิ้นส่วนเมล็ดไม่มีสารฟอกฆ่าเชื้อตกค้างอยู่

3.2.2 การศึกษาผลของอาหารสังเคราะห์ Murashige and Skoog (MS) ระหว่างการหาสารควบคุมการเจริญเติบโตของต้นชิงชัน

นำชิ้นส่วนเมล็ดของต้นชิงชันที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาพักในจานแก้วที่มีกระดาษทิชชู เพื่อให้ชิ้นส่วนเมล็ดแห้ง จากนั้นนำมาวางลงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 8 กรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับสูตรอาหาร 1/2MS ตามลำดับ ทำการเพาะเลี้ยง 1 เมล็ดต่อขวด เพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พร้อมบักทึกและวิเคราะห์ผลการเกิดของต้นชิงชันที่ระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยทำการสังเกตลักษณะ การเจริญเติบโตที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ขนาด และความสูงของต้นจากบริเวณรากถึงใบเลี้ยง รวมถึงความสูงจากบริเวณใบเลี้ยงถึงยอด วัดความสูงตามลำดับ และนับจำนวนต้นชิงชันที่เกิดการเจริญเติบโตทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองมาคำนวณร้อยละได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละจำนวนการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนต้นชิงชันที่เกิดรอดชีวิต}}{\text{จำนวนต้นชิงชันทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง}} \times 100$$

คำนวณขนาดต้นชิงชันได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละค่าเฉลี่ยความยาวยอด (มิลลิเมตร)} = \frac{\text{ความยาวยอดที่เกิด}}{\text{จำนวนต้นที่เกิดยอด}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดจากส่วนข้อของต้นชิงชัน

นำชิ้นส่วนตาบริเวณใบเลี้ยงมาตัดแต่งให้มีความยาวระหว่างรากกับใบเลี้ยง ประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร และความยาวระหว่างใบเลี้ยงกับยอด ตามลำดับ จากนั้นนำมาวางลงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง KN และ BA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 8 กรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยง 1 ชิ้นต่อขวด เพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พร้อมบันทึกและวิเคราะห์ผลการเกิดยอดที่ 4 และ 8 สัปดาห์ โดยทำการสังเกตลักษณะภายนอก การเจริญเติบโตที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารแต่ละความเข้มข้น จำนวนยอดที่แตกออกจากตา ความสูงของยอดที่เกิดจากใบเลี้ยงและความสูงของยอดที่เกิดจากข้อ รวมถึงจำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองมาคำนวณร้อยละการเกิดยอดได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละชิ้นส่วนที่เกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอด}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง}} \times 100$$

คำนวณขนาดต้นชิงชันได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละค่าเฉลี่ยความยาวยอด (มิลลิเมตร)} = \frac{\text{ความยาวยอดที่เกิด}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอด}} \times 100$$

3.2.4 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำรากจากส่วนยอดของต้นต้นชิงชัน

นำชิ้นส่วนยอดที่มีลักษณะแข็งแรง ที่ได้จากใบเลี้ยงมาตัดแต่งให้มีความยาว ประมาณ 1-2 เซนติเมตร จากนั้นนำมาวางลงบนอาหารแข็งสูตร 1/2MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง NAA และ IBA ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 8 กรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยง 1 ชิ้นต่อขวด เพาะเลี้ยงโดยแสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พร้อมบันทึกและวิเคราะห์ผลการเกิดของรากที่ระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยทำการสังเกตลักษณะภายนอก การเจริญเติบโตที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร IBA แต่ละความเข้มข้น รวมถึงยาวของรากจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดราก และจำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองมาคำนวณร้อยละการเกิดรากได้จากสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ร้อยละการเกิดราก} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนข้อที่เกิดราก}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดชิงชันในอาหารสังเคราะห์ MS และ 1/2MS ของต้นชิงชัน

จากผลการทดลองการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดชิงชันและนำมาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ 1/2MS ที่ทำการเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยให้แสงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อชักนำให้เกิดยอด เมล็ดชิงชันในอาหารสังเคราะห์ MS มีค่าเฉลี่ยสูงสุดขอดยอดเท่ากับ 57.80 มิลลิเมตร สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 35 ยอด คิดเป็นร้อยละเท่ากับ 75 และในอาหารสังเคราะห์ 1/2MS มีค่าเฉลี่ยสูงสุดขอดยอดเท่ากับ 49.40 มิลลิเมตร สามารถชักนำให้เกิดยอด 24 คิดเป็นร้อยละ 48 และพบว่าลำต้นมีสีเขียวอ่อน ยอดมีความสูงปานกลาง มีการแตกกิ่งออกจากตาข้างใบมีจำนวนเล็กน้อยดังแสดงในตารางที่ 4.1.2 และรูปที่ 4.1.1 เมล็ดชิงชันในอาหารสังเคราะห์ MS มีค่าเฉลี่ยสูงสุดของยอดเท่ากับ 120.40 มิลลิเมตร สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 35 ยอด คิดเป็นร้อยละเท่ากับ 75 และในอาหารสังเคราะห์ 1/2MS มีค่าเฉลี่ยสูงสุดของยอดเท่ากับ 96.56 มิลลิเมตร สามารถชักนำให้เกิดยอด 24 ยอด คิดเป็นร้อยละ 48 ลำต้นจะมีสีเขียวเข้มขึ้น ยอดจะสูงขึ้นจาก 4 สัปดาห์อย่างเห็นได้ชัด มีจำนวนใบมากขึ้นจากกาเพาะเลี้ยงชิงชันเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.1.3 และรูปที่ 4.1.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก) **(ข)**

รูปที่ 4.1.1 การเพาะเมล็ดชิงชันในขวดทดลอง
(ก) เมล็ดที่เพาะบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์
(ข) เมล็ดที่เพาะบนอาหารแข็งสูตร 1/2MS เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1.1 ผลการศึกษาวิธีฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดต้นชิงชันด้วยวิธีที่ 1 และ 2

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ	จำนวนเมล็ดที่ลง	การรอดชีวิต (%)
1	30	80%
2	30	20%

ตารางที่ 4.1.2 ผลการศึกษาการงอกของเมล็ดต้นชิงชัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเมล็ดที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนเมล็ดที่เกิดยอด (ร้อยละ)	ความยาวของยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
MS	120	85	65.69
1/2MS	120	40	53.61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ค) **(ง)**

รูปที่ 4.1.2 การเพาะเมล็ดชิงชันในขวดทดลอง
(ค) เมล็ดที่เพาะบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์
(ง) เมล็ดที่เพาะบนอาหารแข็งสูตร 1/2MS เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1.3 ผลการศึกษาการงอกของเมล็ดต้นชิงชัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเมล็ดที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนเมล็ดที่เกิดยอด (ร้อยละ)	ความยาวของยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
MS	120	85	73.39
1/2MS	120	40	58.49

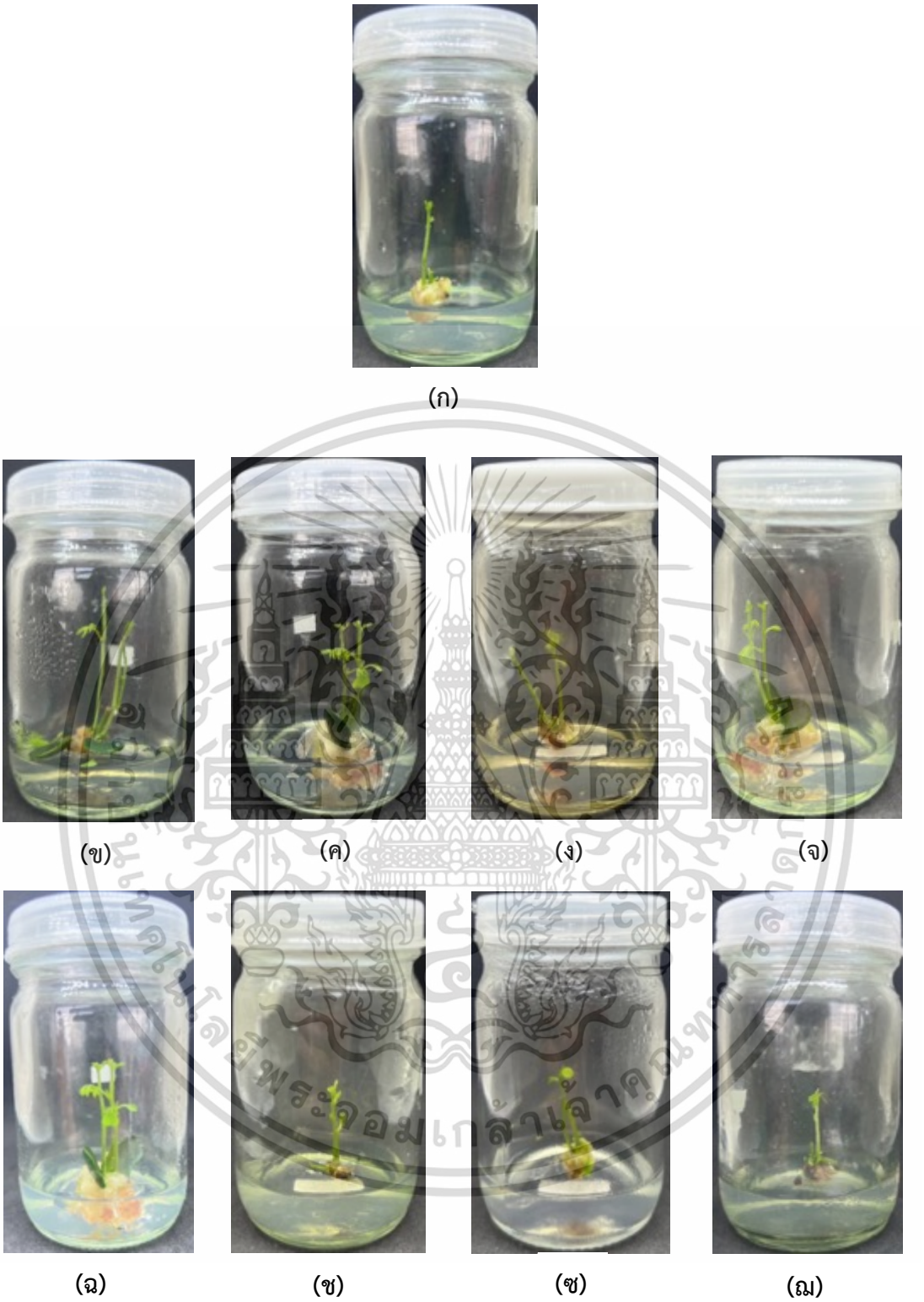
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ต่อการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อของต้นชิงชัน

จากการนำชิ้นส่วนข้อของต้นชิงชัน (*Dalbergia oliveri*) 3 - 4 เซนติเมตร มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 เพื่อชักนำให้เกิดยอด จากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

พบว่า ข้อของต้นชิงชันในอาหารสังเคราะห์ MS ที่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มีค่าเฉลี่ยสูงสุดขอดยอดเท่ากับ 34.20 มิลลิเมตร สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดมีจำนวนเฉลี่ยต่อข้อเท่ากับ 2.67 ยอดต่อข้อ คิดเป็นร้อยละเท่ากับ 80 และที่ความเข้มข้น 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยต่อข้อเท่ากับ 2 2 1.33 ยอด และมีความยาวยอดเฉลี่ย 27.65 28.33 และ 29.42 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ข้อจะมีการแตกยอดเพิ่ม 2-3 ยอด และมีใบเริ่มเกิดเล็กน้อย และในสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยสูงสุดของยอดเท่ากับ 19.20 มิลลิเมตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดสูงสุดเฉลี่ยต่อข้อเท่ากับ 2 คิดเป็นร้อยละ 30 และที่ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยต่อข้อเท่ากับ 1 2 และ 1 ยอด และมีความยาวยอดเฉลี่ย 17.98 16.97 และ 17.84 มิลลิเมตรตามลำดับ ข้อจะมีการแตกยอดเพิ่ม 1-2 ยอด และมีใบเริ่มเกิดเล็กน้อยดังแสดงในตารางที่ 4.2.1 และรูปที่ 4.2.1 - 4.2.4 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นสัปดาห์ที่ 8 ข้อต้นชิงชันในอาหารสังเคราะห์ MS ที่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยสูงสุดของยอดเท่ากับ 67.44 มิลลิเมตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดสูงสุดเฉลี่ยต่อข้อเท่ากับ 2.67 คิดเป็นร้อยละเท่ากับ 80 และที่ความเข้มข้น 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยต่อข้อเท่ากับ 2 2 และ 1.3 และมีความยาวยอดเฉลี่ย 38.05 63.04 และ 59.37 มิลลิเมตร ตามลำดับ ยอดจะมีลักษณะสูงขึ้นและมีความแข็งแรงขึ้นมีการแตกกิ่งและจำนวนใบเพิ่มขึ้น และในสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยสูงสุดขอดยอดเท่ากับ 59.99 มิลลิเมตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดสูงสุดเฉลี่ยต่อข้อเท่ากับ 1 คิดเป็นร้อยละ 70 และที่ความเข้มข้น 1 1.5 และ 2 สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยต่อข้อเท่ากับ 2 2 และ 1 และมีความยาวยอดเฉลี่ย 34.74 59.99 และ 62.08 มิลลิเมตรตามลำดับยอดมีลักษณะสูงขึ้นเล็กน้อยแต่ยังไม่ค่อยมีการแตกกิ่งและใบดังแสดงในตารางที่ 4.2.2 และรูปที่ 4.2.5 - 4.2.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)

(ข) (ค) (ง) (จ)

(ฉ) (ช) (ซ) (ฌ)

รูป 4.2.1 ลักษณะของยอดชิงชันที่เลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต รูป ก คือ Control ที่ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร รูป ข-จ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ รูป ฉ-ฌ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

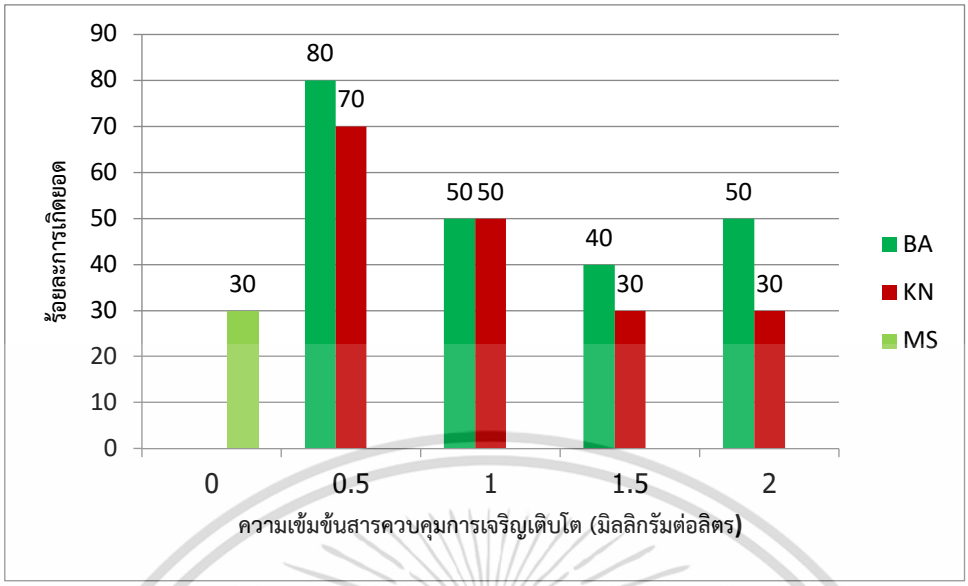
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2.1 ผลการศึกษาการชักนำยอดจากส่วนข้อของต้นชิงชันในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

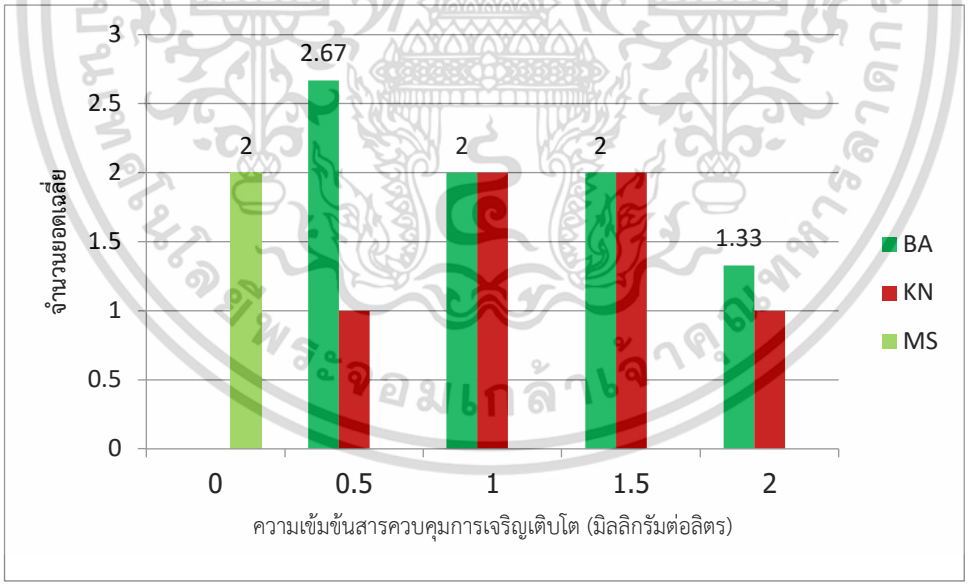
แคลลัส		จำนวนข้อที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อข้อ (ยอดต่อข้อ)	ความยาวของยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	แคลลัส
0 (control)		10	30	2.00^{b}±0.00	17.55c±0.65	++
BA	KN					
0.5	-	10	80	2.67^{a}±0.33	34.20^{a}±1.95	++
1	-	10	50	2.00^{b}±0.00	27.65^{b}±0.93	+++
1.5	-	10	40	2.00^{b}±0.00	28.33^{b}±0.38	++
2	-	10	50	1.33^{c}±0.33	29.42^{b}±1.11	+++
-	0.5	10	70	1.00^{c}±0.00	17.98^{c}±0.72	+++
-	1	10	50	2.00^{b}±0.00	16.97^{c}±2.00	+
-	1.5	10	30	2.00^{b}±0.00	19.20^{c}±0.42	++
-	2	10	30	1.00^{c}±0.00	17.84^{c}±0.13	++

หมายเหตุ : สัญลักษณ์ + แสดงถึงมีการเกิดแคลลัสน้อย , ++ แสดงถึงมีการเกิดแคลลัสปานกลาง , +++ แสดงถึงมีการเกิดแคลลัสมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

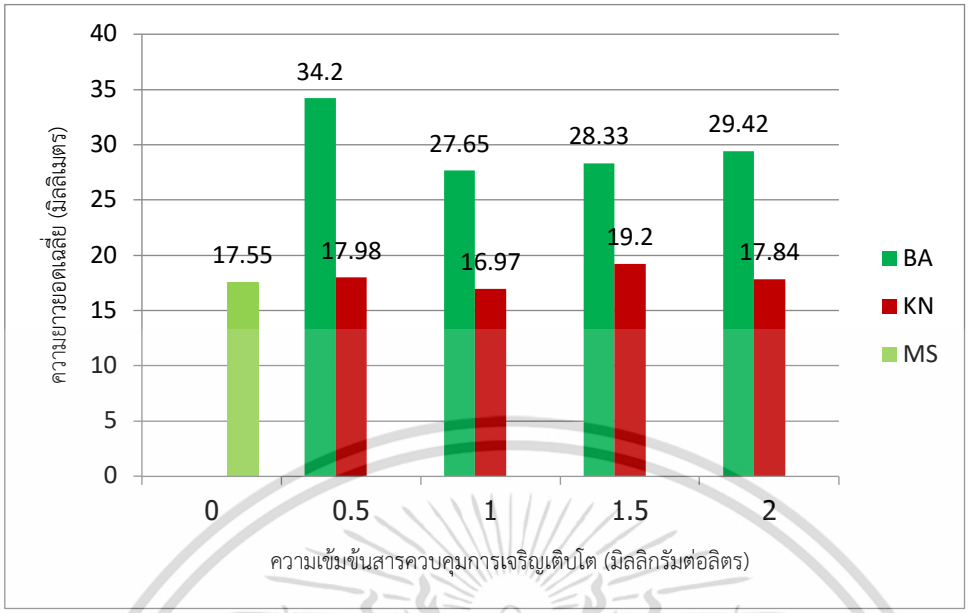


รูปที่ 4.2.2 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการเกิดยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.2.3 แสดงการเปรียบเทียบจำนวนยอดเฉลี่ยต่อข้อในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2.4 แสดงการเปรียบเทียบความยาวยอดเฉลี่ยในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก) (ข) (ค) (ง) (จ)

(ฉ) (ช) (ซ) (ฌ)

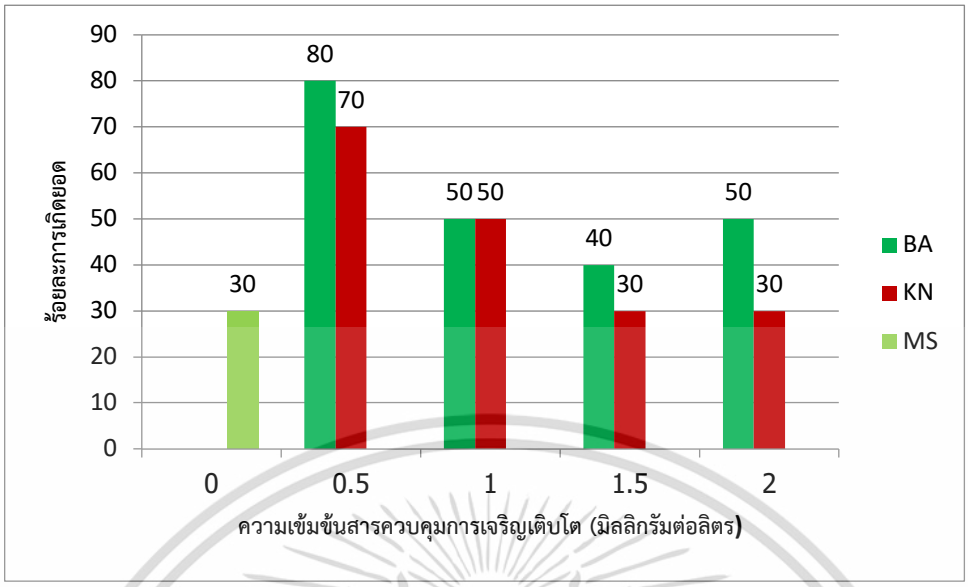
รูปที่ 4.2.5 ลักษณะของยอดชิงชันที่เลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต รูป ก ความเข้มข้นที่ 0 และรูป ข-จ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ รูป ฉ-ฌ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

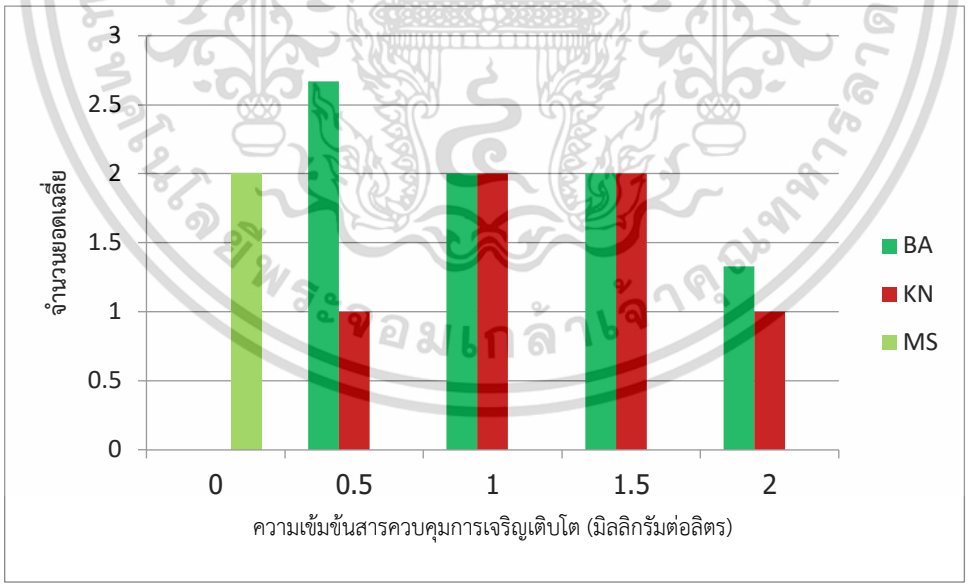
ตารางที่ 4.2.2 ผลการศึกษาการชักนำยอดจากส่วนข้อของต้นชิงชันในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนข้อที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อข้อ (ยอดต่อข่อ)	ความยาวของยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	แคลลัส
0 (Control)		10	30	2.00^{b}±0.00	36.29^{de}±0.22	++
BA	KN					
0.5	-	10	80	2.67^{a}±0.33	67.44^{a}±1.31	+
1	-	10	50	2.00^{b}±0.00	38.05^{d}±1.18	+
1.5	-	10	40	2.00^{b}±0.00	63.04^{b}±1.23	++
2	-	10	50	1.33^{c}±0.33	59.37^{c}±0.53	++
-	0.5	10	70	1.00^{c}±0.00	59.10^{c}±1.85	++
-	1	10	50	2.00^{b}±0.00	34.74^{e}±0.63	++
-	1.5	10	30	2.00^{b}±0.00	59.99^{bc}±0.05	++
-	2	10	30	1.00^{c}±0.00	62.08^{bc}±0.03	+++

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

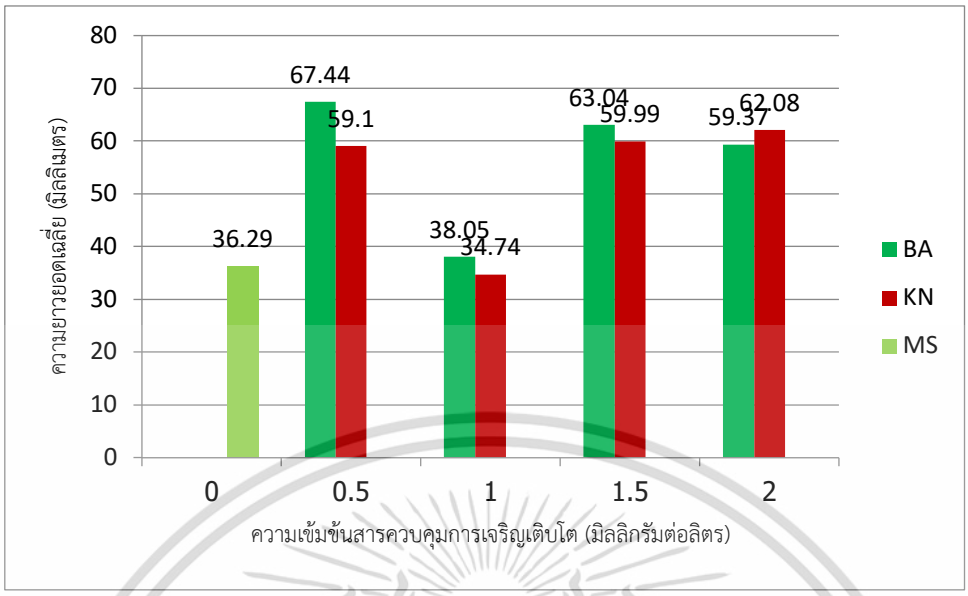


รูปที่ 4.2.6 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการเกิดยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



รูปที่ 4.2.7 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละจำนวนของยอดเฉลี่ยต่อข้อในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2.8 แสดงการเปรียบเทียบความยาวของยอดเฉลี่ยในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

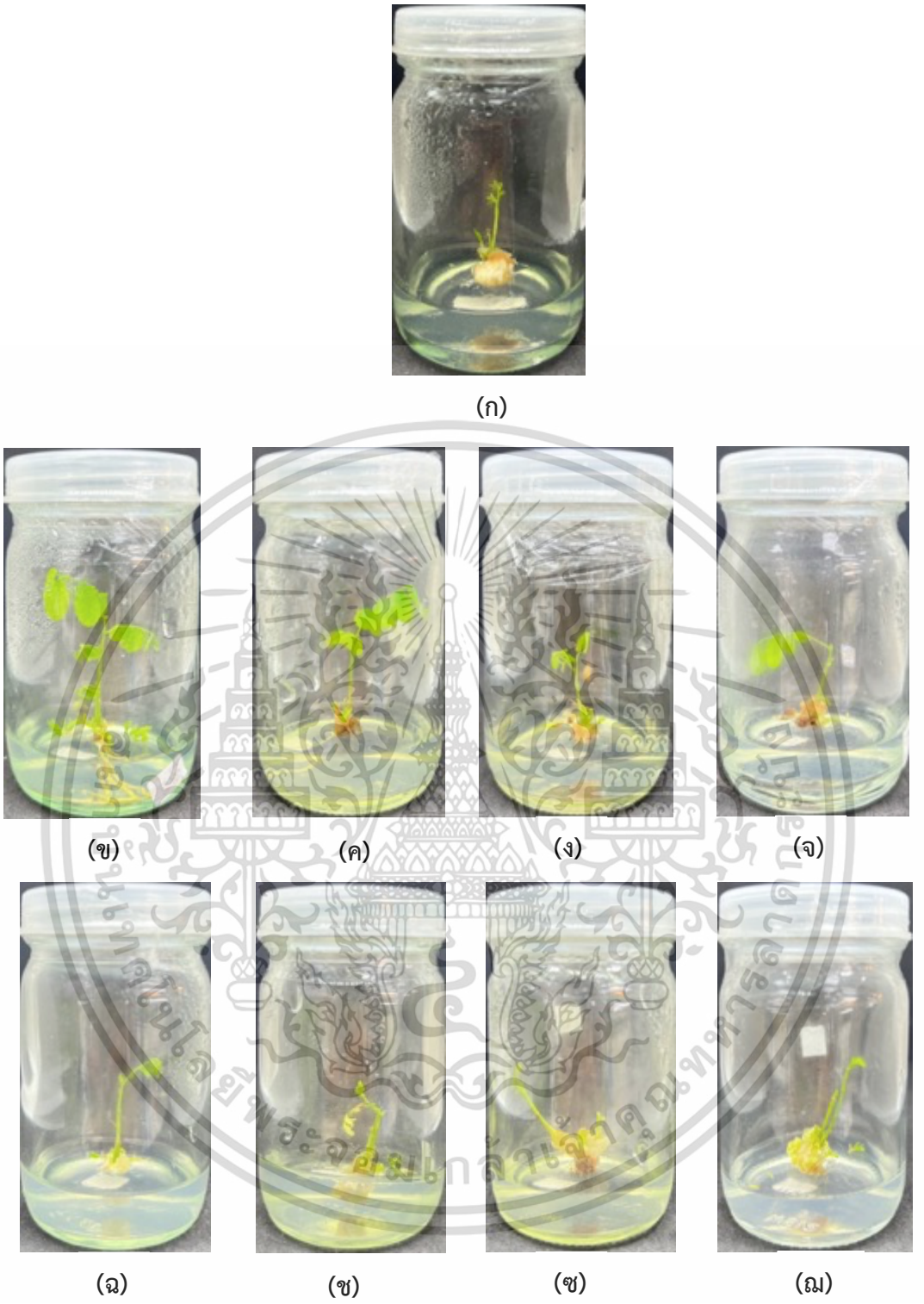
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการชักนำรากจากชิ้นส่วนยอดของต้นชิงชัน

จากการนำชิ้นส่วนข้อของต้นชิงชัน 3 - 4 เซนติเมตร มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร 1/2MS ที่เพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดราก จากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

พบว่า ข้อของต้นชิงชันในอาหารสังเคราะห์ 1/2 MS ที่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยสูงสุดขอดรากเท่ากับ 37.58 มิลลิเมตร สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุดคิดเป็นร้อยละเท่ากับ 60 และที่ความเข้มข้น 1.5 และ มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุดคิดเป็นร้อยละเท่ากับ 20 และมีความยาวรากเฉลี่ย 20.55 มิลลิเมตร และมีรากเกิดขึ้นเล็กน้อยและที่ความเข้มข้น 2 2.5 ไม่มีรากเกิดขึ้น ในระยะเวลา 4 สัปดาห์ และในสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ไม่มีรากเกิดขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.3.1 และรูปที่ 4.3.1 - 4.3.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



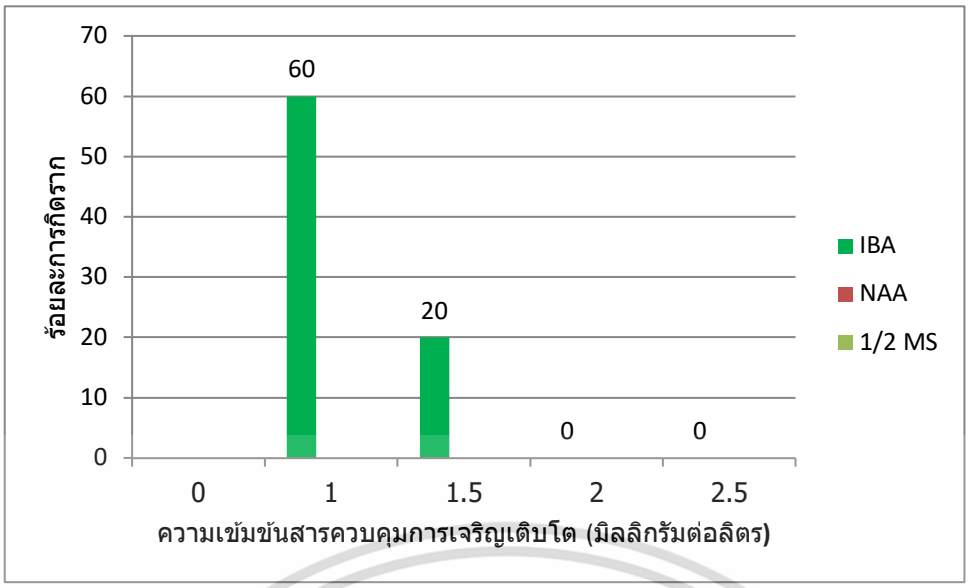
รูป 4.3.1 ลักษณะของรากชิงชันที่เลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต รูป ก ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต และรูป ข-จ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ รูป ฉ-ฌ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

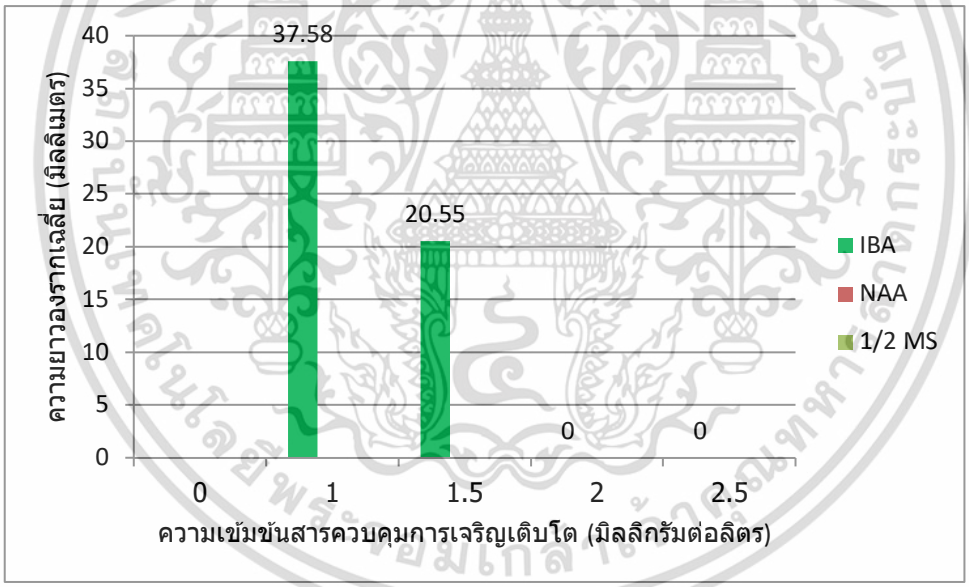
ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาการชักนำรากจากส่วนยอดของต้นชิงชันในในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนข้อที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดราก (ร้อยละ)	ความยาวของรากเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	แคลลัส
0 (Control)		10	0	0	++
IBA	NAA				
1	-	10	60	37.58	++
1.5	-	10	20	20.55	++
2	-	10	0	0	+++
2.5	-	10	0	0	+++
-	1	10	0	0	++
-	1.5	10	0	0	++
-	2	10	0	0	+++
-	2.5	10	0	0	+++

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3.2 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการเกิดรากในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.3.3 แสดงการเปรียบเทียบความยาวของรากเฉลี่ยในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ในการชักนำยอดและ IBA และ NAA ในการชักนำราก ที่ส่งผลต่อการเกิดแคลลัส

จากการนำชิ้นส่วนข้อของต้นชิงชัน 3 - 4 เซนติเมตร มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดยอด จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสปานกลางแคลลัสมีสีน้ำตาลอ่อน และในความเข้มข้นที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสมากแคลลัสมีลักษณะสีเขียวอ่อน และที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลางซึ่งแคลลัสจะมีสีน้ำตาลและสีเขียวอ่อนเล็กน้อย และที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสมากแคลลัสมีสีเขียวส่วนใหญ่และน้ำตาลอ่อนเล็กน้อย และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแคลลัสเกิดจำนวนมากและมีลักษณะสีเขียวอ่อนและน้ำตาลอ่อน และที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแคลลัสเกิดขึ้นน้อยและมีสีน้ำตาลเข้ม ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแคลลัสปานกลางแคลลัสมีสีเขียวและน้ำตาลอ่อน และที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลางและมีสีน้ำตาลอ่อนและน้ำตาลเข้ม สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสน้อย แคลลัสมีลักษณะสีเขียวเข้ม และที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสน้อยลักษณะแคลลัสมีสีน้ำตาลเข้ม และที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลางลักษณะแคลลัสมีสีเขียวและเขียวอ่อน และที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลางลักษณะสีน้ำตาลเข้ม และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลางลักษณะแคลลัสมีสีเขียว และที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลางแคลลัสมีสีเขียวและน้ำตาลเข้ม และที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลางแคลลัสมีลักษณะสีเขียวอ่อน และที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสมากลักษณะแคลลัสมีสีน้ำตาลอ่อนดังรูป 4.2.1 และรูป 4.2.5 และจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดราก และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลาลักษณะแคลลัสมีสีน้ำตาลอ่อน ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิลแคลลัสปานกลางลักษณะแคลลัสมีสีน้ำตาลเข้ม ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรมีการเกิดแคลลัสน้อยมีลักษณะแคลลัสสีน้ำตาล ที่ความเข้มค้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลางแคลลัสมีสีน้ำตาลเข้มและน้ำตาลอ่อน และสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลางแคลลัสมีสีเขียวอ่อน ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสปานกลางและมีสีเขียวอ่อน และที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสมากลักษณะแคลลัสจะมีสีเขียวสีเขียวอ่อนและสีน้ำตาลเข้ม ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแลลัสมากลักษณะมีสีเขียวและน้ำตาลอ่อนเล็กน้อยจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ดังรูป 4.3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ผลการศึกษาการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดชิงชันในอาหารสังเคราะห์ MS และ 1/2 MS ของต้นชิงชัน

จากการนำเมล็ดของชิงชัน มาทำการฟอกฆ่าเชื้อจำนวน 120 ขวด โดยใช้สูตรอาหารสังเคราะห์ MS และ 1/2MS โดยนำเมล็ดล้างผ่านน้ำเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปเขย่ายากันราที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 เป็นระยะเวลา 20 นาที และนำไปเขย่าในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วร่วมกับเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ร่วมกับ PPM, Antibiotics Antimycotic solution, Cefotaxime ความเข้มข้นอย่างละ 80 ไมโครลิตร และเติม tween-20 จำนวน 3-4 หยด ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 80 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลาทำการล้างสารฟอกฆ่าเชื้อออกโดยย้ายชิ้นส่วนเมล็ดลงในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทำการเขย่าเป็นเวลา 5 นาที โดยล้างซ้ำ 2 ครั้ง จากนั้นนำลงสู่อาหารสังเคราห์ MS และ 1/2MS และทำการเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พบว่า ในอาหารสังเคราห์ MS มีอัตราการงอกสูงสุดเท่ากับร้อยละ 80 เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

5.1.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ต่อการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อของต้นชิงชัน

จากการนำชิ้นส่วนข้อของต้นชิงชัน 3-4 เซนติเมตร มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ KN ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 เพื่อชักนำให้เกิดยอด จากการเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่า ในอาหารสังเคราะห์ MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มีอัตราการเกิดยอดร้อยละ 80 ยอด มีความยาวยอดสูงสุดเท่ากับ 65.75 มิลลิเมตร โดยมีการแตกยอดจากตาข้างมีใบอ่อนบริเวณปลายยอดและมีจำนวนใบมากลำต้นมีสีเขียวเข้มขึ้นและขึ้นลักษณะสูงและมีจำนวนยอดมากกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นลำต้นแข็งแรงพร้อมที่จะนำไปพัฒนารากต่อไป

5.1.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ต่อการชักนำรากจากชิ้นส่วนยอดของต้นชิงชัน

จากการนำชิ้นส่วนข้อของต้นชิงชัน 3-4 เซนติเมตร มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร 1/2MS ที่เพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้น 1 1.5 2 และ 2.5 เพื่อชักนำให้เกิดราก จากการเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พบว่าในอาหารสังเคราะห์ IBA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีอัตราการเกิดรากร้อยละ 70 มีความยาวสูงสุด 47.58 มิลลิเมตร และมีลักษณะรากหลายแขนงที่สมบูรณ์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของระยะเวลาในการทดลองอาจมีการเพิ่มระยะเวลาการเพาะเลี้ยง

5.2.2 ควรมีการศึกษาเรื่องการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆและหลายความเข้มข้นในการชักนำอวัยวะจากข้อของชิงชัน

5.2.3 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมสำหรับการนำแคลลัสมาชักนำให้เกิดอวัยวะต่างๆของต้นชิงชันเพื่อนำแคลลัสที่เกิด มาเปรียบเทียบการชักนำให้เกิดอวัยวะต่อไปเพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติมในการหาอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดอวัยวะของต้นชิงชันต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนา จันทร์สิงห์. 2563. **ลักษณะทางพฤกษศาสตร์**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://arit.kpru.ac.th/ap2/local/?nu=pages&page_id=1617&code_db=610010&code_type=01.

สุรางค์ เธียรหิรัญ. 2566. **ระบบจัดการฐานความรู้ด้านความหลากหลายทางชีวภาพ**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://biodiversity.forest.go.th/index.php?option=com_dofplant&id=811&view=showone&Itemid=59.

พัชรา ลิมปนะเวช. 2550. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. สารานุกรมไทยฉบับเยาวชนโดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวรัชกาลที่ 9 เล่มที่ 31 : เรื่องที่ 5.

Abhijit D., Samapika N., Potshangbam N., Leimapokpam T., Anuradha M., Souryadeep M. and Devendra K.P. 2020. “Methyl jasmonate and salicylic acid elicit indole alkaloid production and modulate antioxidant defence and biocidal properties in *Rauvolfia serpentina* Benth. ex Kurz. *In vitro* cultures.” 135 : 1-17 .

Kicia K.P., Ana da S., Juceni P., Aparecida G. and Fabrício T.C. 2017. “*In vitro* callogenesis of *Poincianella pyramidalis* (catingueira).” 27 : 525-528.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plantarum. 15(3): 473-497.

Pradhan C, Pattnaik S, Chand PK. 1998. “Rapid *in vitro* propagation of East Indian rosewood (*Dalbergia latifolia* Roxb.) through hight frequency shoot proliferation from cotyledonary nodes.” 7(1) : 61-64.

Rajesh Y., Mallesham B., Ramesh M. and E. Narasimha M. 2016. “*In vitro* conservation and genetic homogeneity assessment of *Butea monosperma* (Lam.) Taub. Var. Iutea (Witt.) Maheshwari-A potential pharmaceutical legume tree.” 3 : 195-199.

Sharma PK. 2006. “Production of synthetic seeds in *Dalbergia latifolia* Roxb.” 19(2) : 333-334

Warrier KCS, Vijaykumar NK. 1999. “Clinal propagation of selected plus trees of Indian Rosewood (*Dalbergia latifolia* Roxb.) through tissue culture.” 422-432.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตาราง สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS (Murashige and Skoog, 1962)

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัม/ลิตร)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2.2H2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
$MnSO_4.7H_2O$	6.2
$ZnSO_4.5H_2O$	22.3
H_3BO_3	6.2
KI	0.33
$Na_2.MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.H_2O$	0.025
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
$Na_2EDTA.2H_2O$	37.25
Nicotic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Glycine	2.0
Myo-Inosital	100
Agar	8000
Sucrose	30000
pH 5.7	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการเตรียมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1.ชั่งส่วนประกอบต่างๆ ได้แก่ อาหารสังเคราะห์สูตร MS 4.43 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร แล้วนำมาละลายน้ำปริมาณครึ่งหนึ่งของปริมาตรทั้งหมดที่ต้องการ

2. ปรับปริมาตรอาหารให้ได้ตามปริมาตรอาหารที่ต้องการ

3. แบ่งอาหารใส่บีกเกอร์ตามจำนวนความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องการ

4. คำนวณปริมาตรของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องเติมลงในอาหารในแต่ละความเข้มข้น จากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

หรือ

$$\text{ปริมาตรที่ใช้} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่ต้องการเตรียม x ปริมาตรอาหารทั้งหมด}}{\text{ความเข้มข้นจาก stock เริ่มต้น}}$$

5. ดูดสารควบคุมการเจริญเติบโตจาก stock เติมลงในบีกเกอร์ แล้วปรับปริมาตรอาหารให้ได้ตามปริมาตรอาหารที่ต้องการเตรียมในแต่ละความเข้มข้น

6. นำอาหารไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารให้อยู่ระหว่าง 5.6-5.8

7. เติมไฟทาเจล 2.6 หรือ 8.5 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารแต่ละบีกเกอร์ แล้วทำการละลายวุ้นด้วยไมโครเวฟ นาน 1-3 นาที

8. แบ่งใส่ขวดแก้วที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปริมาตร 10-20 มิลลิลิตร

9. นำอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

10. นำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อไปเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยง นาน 2-3 วัน เพื่อสังเกตการณ์ปนเปื้อนในอาหารก่อนการนำไปใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 30 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นาย เตชพัฒน์ ศรีจุลฮาด รหัสประจำตัว 62050490

นางสาว อารียา นามคุณ รหัสประจำตัว 62050563

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา

ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การขยายพันธุ์ชิงชัน (*Dalbergia oliveri*) ในหลอดทดลอง

ชื่อภาษาอังกฤษ *In vitro* propagation of *Dalbergia oliveri*

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 11.51% หรือโปรแกรม Turnitin –

ลงชื่อ.....อารียา นามคุณ..... ลงชื่อ.....เตชพัฒน์ ศรีจุลฮาด.....

(นางสาว อารียา นามคุณ) (นาย เตชพัฒน์ ศรีจุลฮาด)

นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....

(รศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้