การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชาสายพันธุ์หางกระรอกภูพานเอสที 1

In vitro culture of *Cannabis sativa* L .

Hang Kra Rog Phu Phan ST 1

อภิชญา ลักษณิยานนท์

อภิรตา เสลานนท์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

In vitro culture of *Cannabis sativa* L .

Hang Kra Rog Phu Phan ST 1

APICHAYA LAKSANIYANON

APIRATA SELANON

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชาสายพันธุ์หางกระรอกภูพานเอสที 1 *In vitro* culture of *Cannabis sativa* L. Hang Kra Rog Phu Phan ST 1
ชื่อนักศึกษา	นางสาวอภิชญา ลักษณิยานนท์ รหัสนักศึกษา 62050556 นางสาวอภิรตา เสลานนท์ รหัสนักศึกษา 62050557
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี

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

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ ประธานกรรมการ	
รศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ กรรมการ	
ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชาสายพันธุ์หางกระรอกภูพานเอสที 1
ชื่อนักศึกษา นางสาวอภิชญา ลักษณิยานนท์ รหัสนักศึกษา 62050556
นางสาวอภิรตา เสลานนท์ รหัสนักศึกษา 62050557
ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา ชีววิทยา
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา 2565
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการงอกของเมล็ดกัญชาในขวดทดลอง มีการใช้อาหารแข็งสูตร ½ MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่ามีการงอกของเมล็ด 52% ในเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการตัดชิ้นส่วนของต้นอ่อน (ยอด ใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยง และราก) นำลงในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ NAA พบว่าในชิ้นส่วนยอดมีการเกิดยอดใหม่สูงสุด 4 ยอด/ขวด ในสูตรอาหาร TDZ 0.1 mg/l ร่วมกับ NAA 0.1 mg/l และพบการเกิดรากที่ยืดยาวขึ้นจากชิ้นส่วนของรากจากอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ในการทดลองถัดมาจากการนำแคลลัสจากใบเลี้ยง ลงในสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย KN ร่วมกับ 2,4-D, BA และ TDZ พบการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นของแคลลัส และไม่พบการเกิดรากหรือยอด จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสสีเขียวในสูตรอาหาร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.2 mg/l มีการเกิดราก 5 เส้น/ขวด และมี%การเกิดราก 60%

คำสำคัญ : กัญชา, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, การชักนำให้เกิดอวัยวะ, แคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title *In vitro* culture of *Cannabis sativa* L. Hang Kra Rog Phu Phan ST 1
Students Miss Apichaya Laksaniyanon Student ID 62050556
Miss Apirata Selanon Student ID 62050557
Degree Bachelor of Science (Biotechnology)
Department Biology
School Science
University King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year 2022
Advisor Asst Prof. Dr. Pana Lohasupthawee

Abstract

The objective of this research was to investigate the germination of cannabis seeds on ½ MS media without plant growth regulators (PGRs) in in vitro culture. The germination rate was found to be 52% within a span of 4 weeks. Subsequently, cannabis explants were obtained from the seedlings, including shoot cotyledon hypocotyls and roots. These explants were cultured on MS media supplemented with TDZ and NAA. It was observed that shoots cultured on a combination of 0.1 mg/L TDZ and 0.1 mg/L NAA exhibited an average of 4 shoots per explant. In another study, cotyledon-derived callus was cultured on MS media supplemented with a combination of KN and 2,4-D, as well as separately with BA and TDZ. The results demonstrated that the cotyledon-derived callus increased growth; however, it did not successfully induce the development of roots or shoots. When the cotyledon-derived green callus was cultured on MS media supplemented with 0.2 mg/L NAA, it successfully induced root formation. On average, there were 5 roots per culture, with a rooting percentage of 60%.

Keywords: cannabis, tissue culture, callus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้เรื่อง “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชาสายพันธุ์หางกระรอกภูพานเอสที 1” ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีเนื่องจากความอนุเคราะห์จากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี ที่ช่วยให้ความรู้ คำแนะนำ ถ่ายทอดประสบการณ์ ตลอดจนช่วยให้คำแนะนำเพื่อบรรลุปัญหาต่าง ๆ คอยช่วยเหลือและสนับสนุนในทุก ๆ ด้านให้กับคณะผู้จัดทำ กระทั่งจนโครงงานเล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี จึงอยากขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบคุณ รศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ และ ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ ที่สละเวลามาเป็นประธานกรรมการ และกรรมการสำหรับสอบโครงงานพิเศษนี้ และคอยให้คำปรึกษา รวมถึงแนะนำแนวทางแก้ปัญหาและจุดบกพร่องต่าง ๆ ทำให้โครงงานเล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยอำนวยความสะดวก และคอยให้คำปรึกษาในการใช้อุปกรณ์ ให้กับทางคณะผู้จัดทำในการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้ และขอบคุณสถาบันวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ในการทำโครงงานพิเศษ

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ นางสาว ณัฐวรา ดำรงค์มงคลกุล นักศึกษาปริญญาโท ครอบครัวที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือสนับสนุนในการทำโครงงานพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมถึงนักศึกษาปริญญาโททท่านอื่น และเพื่อน ๆ ในห้องปฏิบัติการที่คอยเกื้อหนุน ช่วยเหลือ ให้กำลังใจในการทำโครงงานพิเศษนี้มาตลอดทำให้วิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงาพิเศษเล่มนี้จะมีประโยชน์ต่อผู้ที่นำไปศึกษาข้อมูลไม่มากก็น้อยหากมีข้อผิดพลาดประการใดคณะผู้จัดทำของอภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

อภิชญา ลักษณิยานนท์
อภิรตา เสลานนท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฌ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขต	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ประวัติความเป็นมาของพืชกัญชา	3
2.1.1 ความเป็นมาของพืชกัญชา	3
2.1.1.1 สายพันธุ์กัญชาที่พบในประเทศไทย	3
2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	5
2.2 ประโยชน์ของพืชกัญชา	8
2.2.1 ผลเสียจากการใช้พืชกัญชา	9
2.3 สารประกอบภายในพืชกัญชา	9
2.3.1 สารประกอบกลุ่มแคนนาบินอยด์ (Cannabinoids)	9
2.3.2 สารประกอบกลุ่มเทอร์ปีน (Terpenes)	10
2.3.3 สารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)	11
2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	11
2.4.1 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	11
2.4.2 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	12
2.5 การฟอกฆ่าเชื้อ	13
2.5.1 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ	13
2.6 สารควบคุมการเจริญเติบโต	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1 กลุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต 13
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 14
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 17
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 17
3.1.2 เครื่องแก้ว 17
3.1.2 อุปกรณ์อื่น ๆ 17
3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ถ่ายเนื้อเยื่อ 17
3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 17
3.3 พันธุ์พืช 18
3.4 วิธีการทดลอง 18
3.4.1 การเพาะเมล็ดกัญชาในขวดทดลอง 18
3.4.2 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส หรืออวัยวะจากชิ้นส่วนของใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยง และราก ของกัญชา 19
3.4.3 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตและ การชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชา 20
3.4.4 การคำนวณทางสถิติ 24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 25
4.1 ผลการศึกษาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโต 25
4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ต่อการเจริญเติบโตและ การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนต่าง ๆ ของกัญชา 26
4.3 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตและ การชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชา 41
4.3.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ต่อ แคลลัสกัญชาที่มีสีเขียวและ สีขาว 41
4.3.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ 2,4D ต่อ แคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว 56
4.3.3 ผลการศึกษาลักษณะแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ต่อ สารควบคุมการเจริญเติบโต BA 60
4.3.4 ผลการศึกษาลักษณะแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ต่อ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ 62
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 64
5.1 สรุปผลการวิจัย 64
5.1.1 ผลการศึกษาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโต 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนต่าง ๆ ของกัญชา 64
5.1.3 ผลการศึกษาลักษณะแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว และสีขาว ต่อสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 64
5.1.4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ต่อแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว และสีขาว 65
5.1.5 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ 2,4D ต่อแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว 65
5.1.6 ผลการศึกษาลักษณะแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ต่อสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 65
5.1.7 ผลการศึกษาลักษณะแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ต่อสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ 65
5.2 ข้อเสนอแนะ 66
เอกสารอ้างอิง 67
ภาคผนวก 70
ภาคผนวก ก 71
ภาคผนวก ข 72
ภาคผนวก ค 73
ภาคผนวก ง 74
ภาคผนวก จ 77
ภาคผนวก ฉ 80
ภาคผนวก ช 83
ภาคผนวก ซ 85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ NAA ทั้ง 10 สูตรต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนกัญชา 19
3.2 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาสีขาวและสีเขียว ทั้งหมด 20 สูตร 22
3.3 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ 2,4D ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ทั้งหมด 9 สูตร 23
3.4 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ทั้งหมด 4 สูตร 23
3.4 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ทั้งหมด 4 สูตร 24
4.1 การเปลี่ยนแปลงของลำต้นใต้ใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 29
4.1 การเปลี่ยนแปลงของลำต้นใต้ใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ) 30
4.2 การเปลี่ยนแปลงของใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 32
4.2 การเปลี่ยนแปลงของใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ) 33
4.3 การเปลี่ยนแปลงของรากที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 35
4.3 การเปลี่ยนแปลงของรากที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ) 36
4.4 การเปลี่ยนแปลงของยอดที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 39
4.4 การเปลี่ยนแปลงของยอดที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ) 40
4.5 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีขาวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 45
4.5 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีขาวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ) 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีขาวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ) 47
4.5 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีขาวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ) 48
4.6 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 52
4.6 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ) 53
4.6 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ) 54
4.6 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ) 55
4.7 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหารที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ 2,4D ทั้งหมด 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ 58
4.7 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหารที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ 2,4D ทั้งหมด 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (ต่อ) 59
4.8 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวในอาหารที่เสริมด้วย BA ทั้งหมด 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 61
4.9 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวในอาหารที่เสริมด้วย TDZ ทั้งหมด 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 กัญชาสายพันธุ์หางกระรอกภูพานเอสที 1	3
2.2 กัญชาสายพันธุ์หางเสือสกลนครทีที 1	4
2.3 กัญชาสายพันธุ์ตะนาวศรีก้านขาวดับเบิลยูเอ 1	4
2.4 กัญชาสายพันธุ์ตะนาวศรีก้านแดงอาร์ดี 1	5
2.5 ลักษณะต้นของกัญชา	6
2.6 ลักษณะใบของกัญชา	6
2.7 ลักษณะดอกของกัญชาเพศผู้	7
2.8 ลักษณะดอกของกัญชาเพศเมีย	7
2.9 ลักษณะดอกของกัญชาเพศกะเทย	8
2.10 ลักษณะเมล็ดของกัญชา	8
2.11 Tetrahydrocannabinol (THC)	10
2.12 Cannabidiol (CBD)	10
3.1 เกณฑ์การให้คะแนนขนาดของแคลลัส	21
4.1 การเพาะเมล็ดกัญชาในขวดทดลอง	25
4.2 ลักษณะของลำต้นใต้ใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	28
4.3 ลักษณะของใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	31
4.4 ลักษณะของรากที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 0	34
4.5 ลักษณะของรากที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA 10 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	34
4.6 ลักษณะของยอดที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	37
4.7 ลักษณะของชิ้นส่วนยอดที่พบการเกิดยอดหลายยอด	37
4.8 ลักษณะของแคลลัสที่ขึ้นบริเวณฐานของยอดที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA 9 สูตร	38
4.9 ลักษณะของแคลลัสขาวที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA 20 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A – T	43
4.9 ลักษณะของแคลลัสขาวที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA 20 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A – T (ต่อ)	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.10 ลักษณะของแคลลัสเขียวที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA 20 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A –T 49
4.10 ลักษณะของแคลลัสเขียวที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA 20 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A –T (ต่อ) 50
4.11 ลักษณะของรากที่พบบนแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหาร 51
4.12 ลักษณะของแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหารที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ 2,4D ทั้งหมด 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป ก – ฌ 57
4.13 ลักษณะของแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหาร 4 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A – D 60
4.14 ลักษณะของแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ 4 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A – D 62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
THC	Tetrahydrocannabinols
CBD	Cannabidiol
MS	Murashige and Skoog (1962)
NaOH	Sodium hydroxide
KN	Kinetin
NAA	α -Naphthaleneacetic acid
TDZ	Thidiazuron
BA	6-Benzylaminopurine
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กัญชา ชื่อสามัญคือ Marijuana มีชื่อทางพฤกษศาสตร์คือ *Cannabis sativa* L.subsp. indica ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Cannabaceae สปีชีส์ Cannabis เป็นพืชที่พบว่ามีแหล่งกำเนิดในทวีปเอเชียทางตอนกลางและมีประวัติศาสตร์การนำมาใช้เป็นยารักษา อาหาร และเส้นใยใช้ทำเครื่องนุ่งห่มมาหลายพันปี และเป็นพืชชนิดแรก ๆ ที่พบว่ามนุษย์ในอดีตรู้จักการเพาะปลูกเพื่อใช้ประโยชน์ (RS Mall, 2564) ฤทธิ์ทางชีวภาพส่วนใหญ่ของใบกัญชาเชื่อมโยงกับสารแคนนาบินอยด์หลักที่พบในกัญชา ได้แก่ Tetrahydrocannabinols (THC) และ Cannabidiol (CBD) โดยสาร THC กระตุ้นการอยากอาหาร ลดอาการปวด ขณะที่ CBD มีฤทธิ์ THC antagonist มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดอาการปวด นอกจากนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ จากการที่กัญชามีสารที่สำคัญทั้งจึงทำให้เศรษฐกิจตลาดกัญชาทั่วโลกมีแนวโน้มขยายใหญ่ขึ้นคาดการว่าภายใน ปี 2567 มีมูลค่า 3 พันล้านบาทแบ่งเป็น กัญชาเพื่อการแพทย์ 60% และเพื่อสันทนาการ 40% (Keenan, 2022) ทำให้ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชาในห้องปลอดเชื้อ เพื่อพัฒนาการขยายพันธุ์กัญชาอย่างมีประสิทธิภาพให้มีการเพิ่มปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว จากหลายชิ้นส่วนของกัญชา โดยอาศัยสภาวะ และสูตรอาหารที่มีประสิทธิภาพเสริมการเจริญโตเติบกระตุ้นการทำงานของเมตาบอลิซึม ชักนำให้เกิดแคลลัส อวัยวะหรือการผลิตสารต่าง ๆ ในกัญชา (Danziger et al., 2021)และปราศจากเชื้อโรค โดยมีการใช้หลายชิ้นส่วนนำมาศึกษาการเจริญเติบโต เช่น ใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยง การชักนำให้เกิดยอด (Galán-Ávila et al., 2020), เมล็ดศึกษาการงอกของเมล็ดกัญชาในหลอดเพาะเลี้ยงในสภาวะปลอดเชื้อ (Cheng et al.,2016) การชักนำให้เกิดแคลลัสจากใบ และดอก (Raharjo et al., 2006)

โครงงานนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชาในห้องปฏิบัติการ โดยขอบเขตการศึกษาคือการนำแคลลัส เมล็ด ใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยง ยอด ราก ของกัญชาสายพันธุ์หางกระรอกมาทำการศึกษาหาองค์ประกอบของสูตรอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกัญชา ชักนำให้เกิดอวัยวะจากชิ้นส่วนของกัญชาที่เรานำมาศึกษา ซึ่งประโยชน์จากโครงงานดังกล่าวนำไปสู่การศึกษาและพัฒนาสูตรอาหารที่สามารถชักนำส่วนต่างของกัญชาต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชา ในสภาวะปลอดเชื้อในหลอดทดลอง
2) เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมกับการเจริญ และชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัส
3) เพื่อศึกษาการงอกของเมล็ดกัญชา สายพันธุ์หางกระรอก ในหลอดทดลอง
4) เพื่อศึกษาการนำชิ้นส่วน ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ด ได้แก่ ใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยง และราก มาชักนำให้เกิดแคลลัส และอวัยวะต่างๆของกัญชา

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชา โดยทำภายในหลอดทดลอง เพื่อศึกษาการชักนำแคลลัส โดยใช้อาหารสูตร Murashige and Skoog (MS,1962) ที่มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่ม Auxin และ Cytokininแตกต่างกัน ศึกษาการเพาะเมล็ดกัญชาในห้องปฏิบัติการ และการนำชิ้นส่วนของต้นอ่อนจากการเพาะเมล็ดมาชักนำให้เกิดแคลลัส และอวัยวะต่าง ๆ ของกัญชา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถนำความรู้เกี่ยวกับเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการศึกษาการเพิ่มจำนวนต้นกัญชา
2) ทราบถึงผลที่เกิดขึ้นของแคลลัสกัญชา เมื่อได้รับฮอร์โมนควบคุมการเจริญจากกลุ่มต่าง ๆ
3) ทราบถึงสูตรอาหารที่เหมาะกับเพาะเมล็ดในขวดทดลองในสภาวะปลอดเชื้อ
4) ทราบถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส และอวัยวะต่าง ๆ จากชิ้นส่วนของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ประวัติความเป็นมาของพืชกัญชา

2.1.1 ความเป็นมาของพืชกัญชา (กรมวิชาการเกษตร, 2564)

พืชสกุลกัญชา (*Cannabis sativa* L.) มีต้นกำเนิดอยู่ที่ประเทศจีน และมีการกระจายพื้นที่ออกไปตั้งแต่พื้นที่ระดับน้ำทะเลไปจนถึงบริเวณเทือกเขาหิมาลัย และปัจจุบันมีการปลูกอย่างแพร่หลายทั่วโลก จากหลักฐานทางโบราณคดีพบว่ามนุษย์มีการนำพืชสกุลกัญชามาใช้ประโยชน์โดยการทำอาหารและนำเส้นใยมาใช้ประโยชน์ เป็นระยะเวลามากกว่า 10,000 ปี และมีหลักฐานการใช้ประโยชน์จากเส้นใยในพื้นที่อียิปต์และตะวันออกกลาง ต่อมาแพร่กระจายไปสู่ยุโรปในช่วงปี 1,000 และ 2,000 ปีก่อนคริสตกาล และในช่วงคริสต์ศักราชที่ 1606 มีการนำมาปลูกเพื่อใช้ประโยชน์จากเส้นใยในอเมริกาเหนือ สำหรับการใช้ประโยชน์ในการเป็นสมุนไพร มีหลักฐานในการใช้เป็นประโยชน์ในพื้นที่ตะวันออกกลางและเอเชีย ในช่วง 600 ปีก่อนคริสตกาล และในศตวรรษที่ 19 ประเทศในยุโรปตะวันตกได้นำพืชสกุลกัญชามาใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคลมบ้าหมู บาดทะยัก โรคไขข้อ ไมเกรน โรคหอบหืด โรคประสาทส่วนปลายอ่อนเพลีย และอาการนอนไม่หลับ

2.1.1.1 สายพันธุ์กัญชาที่พบในประเทศไทย (Pannaporn, 2565)

สายพันธุ์หางกระรอกภูพานเอสที 1 (รูปที่ 2.1)

มีช่อดอกใหญ่และเรียงกันแน่นเป็นพวงทรงสามเหลี่ยมคล้ายหางกระรอก ให้สาร THC และ CBD ในสัดส่วน 1:1 ได้ในปริมาณมาก จึงเป็นพันธุ์ที่มีการศึกษาวิจัยในทางการแพทย์มากที่สุด มีกลิ่นเฉพาะตัวหอมคล้ายมะม่วงสุก และไม่มีกลิ่นฉุน ก้านคล้ายกับพันธุ์ตะนาวศรีก้านขาวดับเบิลยูเอ 1 (รูปที่ 2.3)

รูปที่ 2.1 กัญชาสายพันธุ์หางกระรอกภูพานเอสที 1

(ที่มา: https://science.mahidol.ac.th/simple-science/2022/04/21/know-about-thai-cannabis/)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์หางเสือสกลนครทีที 1 (รูปที่ 2.2)

มีช่อดอกเล็กและเรียวยาวเป็นพวงยาวคล้ายหางเสือ ให้สาร THC สูง มีกลิ่นเฉพาะตัวหอมคล้ายเปลือกส้ม และมีกลิ่นฉุนเล็กน้อย

รูปที่ 2.2 กัญชาสายพันธุ์หางเสือสกลนครทีที 1

(ที่มา: https://science.mahidol.ac.th/simple-science/2022/04/21/know-about-thai-cannabis/)

สายพันธุ์ตะนาวศรีก้านขาวดับเบิลยูเอ 1 (รูปที่ 2.3)

มีช่อดอกจำนวนมาก การเรียงตัวเป็นแบบทรงกระบอกกระจุกแน่นที่ปลายกิ่ง ทรงต้นที่เป็นพุ่ม ให้สาร THC สูง มีกลิ่นที่เฉพาะตัวหอมคล้ายเปลือกส้มผสมกลิ่นตะไคร้ กลิ่นฉุนน้อยกว่าพันธุ์หางเสือสกลนครทีที 1 (รูปที่ 2.2)

รูปที่ 2.3 กัญชาสายพันธุ์ตะนาวศรีก้านขาวดับเบิลยูเอ 1

(ที่มา: https://science.mahidol.ac.th/simple-science/2022/04/21/know-about-thai-cannabis/)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์ตะนาวศรีก้านแดงอาร์ดี 1 (รูปที่ 2.4)

มีช่อดอกจำนวนมากเช่นเดียวกับพันธุ์ตะนาวศรีก้านขาวดับเบิลยูเอ 1 (รูปที่ 2.3) แตกต่างกันที่กิ่ง ก้าน และก้านใบ เป็นสีแดง ให้สาร CBD สูง มีกลิ่นหอมหวานคล้ายกลิ่นผลไม้สุกไม่มีกลิ่นฉุน

รูปที่ 2.4 กัญชาสายพันธุ์ตะนาวศรีก้านแดงอาร์ดี 1

(ที่มา: https://science.mahidol.ac.th/simple-science/2022/04/21/know-about-thai-cannabis/)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (เมดไทย, 2563) (เดลินิวส์ ออนไลน์, 2565)

ต้นกัญชา จัดเป็นพรรณไม้ล้มลุกฤดูเดียว มีความสูงได้ประมาณ 1-3 เมตร ลำต้นมีขนาดเล็ก ตั้งตรง ลักษณะของลำต้นเป็นเหลี่ยม มีขนสีเขียวอมเทาและไม่ค่อยแตกสาขา ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ขึ้นได้ในดินทุกชนิด ถ้าปลูกในดินร่วนซุยและมีอาหารอุดมสมบูรณ์จะงอกงามดีมาก พืชชนิดนี้มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย มีเขตการกระจายพันธุ์ในอัฟกานิสถาน ทวีปแอฟริกาเขตร้อน ทวีปยุโรป ทวีปอเมริกาเหนือและใต้ และฮาวาย พบปลูกมากในยุโรป ประเทศบราซิล อเมริกันแถบตะวันออก และปลูกมากตามแนวเขาทางภาคเหนือของประเทศไทย (รูปที่ 2.5)

ใบกัญชา ใบเป็นใบเดี่ยว รูปฝ่ามือ ออกเรียงตรงข้าม ลักษณะของใบแตกออกเป็นแฉก ๆ ประมาณ 5-8 แฉก แต่ละแฉกเป็นรูปยาวรี ปลายและโคนสอบ ส่วนขอบใบทุกแฉกเป็นหยักแบบฟันเลื่อย มีขนาดกว้างประมาณ 0.3-1.5 cm. และยาวประมาณ 6-10 cm. ลักษณะของใบโดยรวมจะคล้าย ๆ กับใบละหุ่ง ใบฝิ่นต้น และใบมันสำปะหลัง ผิวใบด้านบนเป็นสีเขียวเข้ม ส่วนด้านล่างท้องใบมีสีเทาอ่อนเล็กน้อย มีขนต่อมกระจายทั่วผิวใบด้านบน ส่วนด้านล่างมีขนอ่อนนาบไปกับแผ่นใบ ก้านใบยาวประมาณ 4-15 เซนติเมตร ในก้านหนึ่งจะมีใบเดี่ยว 3-11 ใบ มีกลิ่นเหม็นเขียว (รูปที่ 2.6)

ดอกกัญชา ออกดอกเป็นช่อที่ง่ามใบหรือปลายกิ่ง ดอกเป็นสีเหลืองหรือสีเขียว ดอกเป็นแบบแยกเพศ มีทั้งดอกช่อเพศผู้และดอกช่อเพศเมีย ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียจะแยกกันอยู่คนละต้น โดยช่อดอกและใบของต้นเพศผู้จะจัดเรียงตัวกันแบบห่าง ๆ (รูปที่ 2.7) ซึ่งต่างจากต้นเพศเมียที่จะเรียงชิดกัน ดอกเล็ก และดอกเพศเมียจะมีกลีบเลี้ยงหุ้มอยู่ (รูปที่ 2.8) นอกจากนี้กัญชายังมี ส่วนของกัญชากะเทย (รูปที่ 2.9) มักไม่นิยมนำผลิตผลมาใช้เนื่องจากดอกที่เต็มไปด้วยเมล็ด แปลว่าสารแคนนาบินอยด์มีจำนวนไม่มาก จึงไม่นิยมนำมาใช้ในการรักษา อีกทั้งคุณภาพของตัวต้นจะไม่ดีเท่ากัญชาตัวผู้หรือกัญชาตัวเมีย ทั้งนี้กัญชากะเทยสามารถผสมพันธุ์

เองได้ แปลว่ากัญชารุ่นหลังจะเป็นกัญชาที่สามารถเป็นพืช 2 เพศในต้นเดียวกันที่จะทำให้แหล่งรวมยีนด้อยลงไม่หลากหลายเพราะการผสมพันธุ์กันเอง

<u>เมล็ดกัญชา</u> ผลแห้งขนาดเล็ก เมล็ดล่อน ไม่แตก ลักษณะของผลเป็นรูปไข่กว้าง ผิวผลเรียบเป็นมัน สีน้ำตาลแกมเทาหรือสีเทาเข้ม มีใบประดับหุ้ม ในผลจะมีเมล็ดขนาดเล็ก เมล็ดมีลักษณะกลม (รูปที่ 2.10)

รูปที่ 2.5 ลักษณะต้นของกัญชา
(ที่มา: https://medthai.com/)

รูปที่ 2.6 ลักษณะใบของกัญชา
(ที่มา: https://medthai.com/)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.7 ลักษณะดอกของกัญชาเพศผู้

รูปที่ 2.8 ลักษณะดอกของกัญชาเพศเมีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.9 ลักษณะดอกของกัญชาเพศกะเทย

รูปที่ 2.10 ลักษณะเมล็ดของกัญชา
(ที่มา: https://medthai.com/)

2.2 ประโยชน์ของพืชกัญชา (กรมวิชาการเกษตร, 2564)

มนุษย์มีการใช้ประโยชน์จากพืชสกุลกัญชามาตั้งแต่โบราณจนถึงปัจจุบัน โดยมีการใช้ประโยชน์จากส่วนต่าง ๆ ของต้น ราก ใบช่อดอก และเมล็ด ซึ่งมีลักษณะของการใช้ประโยชน์แตกต่างกันไป เช่น ส่วนเปลือก/เส้นใยของลำต้น นำมาใช้ประโยชน์เป็นเชือก และเครื่องนุ่งห่ม ลำต้น นำมาทำประโยชน์เป็นกระดาษ วัสดุก่อสร้าง และพลังงาน ใบ รากและช่อดอกเพศผู้ มีการนำมาทำประโยชน์เป็นยา ช่อดอกเพศเมียมีการนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในทางการแพทย์ และสันทนาการ เพราะมีส่วนของสาร cannabinoids โดยพืชสกุลกัญชามีกลุ่มสารสำคัญที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ คือ Phytocannabinoids ซึ่งสารในกลุ่มนี้มีบทบาททางการแพทย์ คือ delta-9-Tetrahydrocannabinoids (THC) และ Cannabidiol (CBD) ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิด มีคุณสมบัติดังนี้ THC เป็นสารที่ออกฤทธิ์กระตุ้นประสาท (major psychoactive

component) ก่อให้เกิดอาการมีความสุข (euphoria property) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาแก้ปวด ต้านอาเจียน ลดการอักเสบ และต้านออกซิเดชัน ส่วน CBD เป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์เสพติดทางจิตใจ (non psychoactive) ออกฤทธิ์ระงับประสาท ซึ่ง CBD มีคุณสมบัติระงับอาการวิตกกังวล (anxiolytic activity) และต้านการชัก (anticonvulsive)

การใช้กัญชาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ ที่หลักฐานที่มีคุณภาพและน่าเชื่อถือ (Moderate-quality Evidence) คือ การรักษาอาการปวดเรื้อรัง (chronic pain) โดยใช้สารกลุ่ม cannabinoids ได้แก่ 1. อาการปวดจากปลายประสาท (neuroleptic pain) 2. อาการป่วยจากโรคมะเร็ง (cancer pain) 3. อาการกล้ามเนื้อเกร็ง เนื่องจากภาวะปลอกประสาทอักเสบ (Spasticity due to multiple sclerosis)

2.2.1 ผลเสียจากการใช้พืชกัญชา (เชียงใหม่นิวส์, 2562)

ในเบื้องต้นการเสพกัญชาจะมีฤทธิ์กระตุ้นประสาท ทำให้ผู้เสพมีอาการร่าเริง ช่างพูด ตื่นเต้น หัวเราะตลอดเวลา ต่อมาจะมีฤทธิ์กดประสาท ทำให้ผู้เสพมีอาการคล้ายเมาเหล้าอย่างอ่อน เซื่องซึม และง่วงนอน หากเสพเข้าไปในปริมาณมากจะหลอนประสาททำให้เห็นภาพลวงตา หูแว่ว หวาดระแวง ความคิดสับสน และควบคุมตัวเองไม่ได้ ในบางรายอาจไม่รู้จักตนเองหรือไม่เข้าใจสิ่งต่าง ๆ ที่อยู่รอบตัว ถึงแม้ว่าจะเสพกัญชาแม้เพียงระยะสั้น ผู้เสพบางรายอาจสูญเสียความทรงจำได้ เพราะกัญชาจะทำให้สมองและความจำเสื่อม เกิดความสับสน วิตกกังวล หากผู้เสพกัญชาเป็นผู้ที่มีอาการทางจิตด้วยแล้ว ก็จะมีความเสี่ยงมากกว่าคนปกติทั่วไปด้วย โดยอาการทางจิตประสาทที่พบได้บ่อย ๆ คือ สมาธิสั้น ความจำแย่ลง มีปัญหาในการตัดสินใจ และบางคนอาจมีปัญหาเรื่องการทรงตัว นอกจากนี้ยังส่งผลอื่น ๆ ต่อร่างกายด้วย เช่น ม่านตาหรี่ ตาแดง มีความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจ หัวใจเต้นเร็ว กัญชามีฤทธิ์ทำลายสมรรถภาพทางกาย ผู้ที่เสพในปริมาณมากเป็นระยะเวลานานจะทำให้ร่างกายเสื่อมโทรมจนไม่สามารถทำงานได้ โดยเฉพาะงานที่ต้องใช้ความคิด การตัดสินใจ และแรงงาน สารในกัญชาจะทำลายระบบการทำงานของอวัยวะในร่างกายหลายส่วน ทำลายระบบการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย จึงทำให้ร่างกายอ่อนแอ ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้ง่าย เช่น โรคหลอดลมอักเสบเรื้อรัง มีอาการเพลีย ทำให้น้ำหนักตัวลด ฯลฯ และกัญชายังมีฤทธิ์ทำลายความรู้สึกทางเพศ ทำให้ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในชายลดลง ทำให้ปริมาณอสุจิน้อยลง ผู้เสพจึงมักมีปัญหาเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในที่สุด การสูบบุหรี่ยัดไส้กัญชาเพียง 4 มวน จะเท่ากับการสูบบุหรี่ 20 มวน หรือ 1 ซอง มันจึงสามารถทำลายการทำงานของระบบทางเดินหายใจ ทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งได้มากกว่าคนสูบบุหรี่ธรรมดาถึง 5 เท่า อีกทั้งกัญชายังมีสารก่อมะเร็งที่เป็นอันตรายที่สามารถทำให้เกิดโรคมะเร็งได้ เมื่อเทียบกับบุหรี่ทั่วไปแล้วในกัญชาจะมีมากกว่า 50-70%

2.3 สารประกอบภายในพืชกัญชา

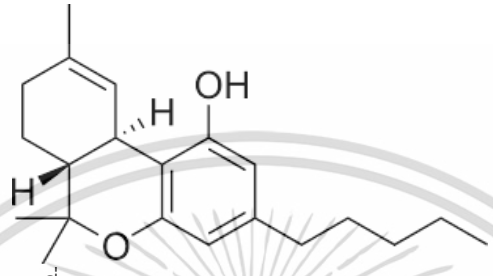
2.3.1 สารประกอบกลุ่มแคนนาบินอยด์ (Cannabinoids) (สหภูมิ, 2562)

เป็นกลุ่มสารที่พบในพืชกัญชามีสารอยู่หลายชนิด ชนิดที่มีข้อมูลใช้ทางการแพทย์มากมีสองชนิดคือ Tetrahydrocannabinol (THC) และ Cannabidiol (CBD) ทั้งสองสารเป็นสารที่ละลายในไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tetrahydrocannabinol (THC)

สาร Tetrahydrocannabinol หรือ THC (รูปที่ 2.11) เป็นสารที่หากได้รับในขนาดที่เหมาะสม จะมีผลในการลดปวด ลดการเกร็งของ กล้ามเนื้อ ลดอาการคลื่นไส้ แต่หากได้รับในขนาดสูงจะทำให้มีอาการเมาเคลิ้ม ใจสั่น หน้ามืด เห็นภาพหลอน รบกวนการรับรู้การตัดสินใจและความจำ นอกจากนี้การใช้สาร THC ขนาดสูงแบบสม่ำเสมอ จะทำให้เกิดภาวะดื้อต่อสาร (tolerance) ทำให้ต้องมีการเพิ่มขนาดเพื่อจะให้ได้ผลเท่าเดิมและเกิดการติดยาได้

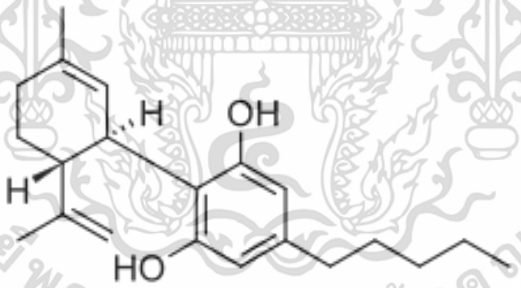


รูปที่ 2.11 Tetrahydrocannabinol (THC)

(ที่มา: https://en.wikipedia.org/wiki/Tetrahydrocannabinol)

Cannabidiol (CBD)

สาร Cannabidiol หรือ CBD (รูปที่ 2.12) เป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอาการ เมาเคลิ้มและอาการทางจิตของ THC มีการ ศึกษาใช้สาร CBD เพื่อควบคุมอาการชักและ อาการปวด สาร CBD ยังไม่พบว่าทำให้เกิด การดื้อหรือติด



รูปที่ 2.12 Cannabidiol (CBD)

(ที่มา: https://en.wikipedia.org/wiki/Cannabidiol)

2.3.2 สารประกอบกลุ่มเทอร์ปีน (Terpenes) (โกรว์สตัฟ, 2557)

เทอร์ปีน (Terpenes) คือสารประกอบกลิ่นอะโรมาที่เป็นตัวกำหนดกลิ่นของพืช เป็นกลิ่นที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติไม่ได้ถูกปรุงแต่งขึ้นมา เรามักจะได้กลิ่นอะโรมาต่าง ๆ ไม่ว่าจะมาจาก ดอกไม้ ผลไม้ และสมุนไพร เช่น ดอกกัญชา ดอกกุหลาบ ดอกลาเวนเดอร์ เลม่อน มะม่วง เป็นต้น หลาย ๆ คนเคยดื่มกาแฟหรือชาที่มีรสชาติและกลิ่นที่แตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับกลิ่นและรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์ของแต่ละสายพันธุ์ที่นำมาชง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กัญชาก็เป็นพืชที่มีกลิ่นและรสชาติที่หลากหลายแล้วแต่สายพันธุ์เช่นกัน กัญชาแท้จริงแล้วไม่ได้มีเพียงกลิ่นเดียวแบบอัดแท่งและอัดแท่งเรามักจะเจอปัญหากลิ่นดินหรือกลิ่นไม่พึงประสงค์ต่างๆ อัดแท่งบางครั้งอาจจะเจอกลิ่นเทอร์ปีน (Terpenes) ในกัญชาบ้างซึ่งนั้นก็นับเป็นกลิ่นอะโรมาที่ผลิตมาจากดอกกัญชา กัญชามีกลิ่นเทอร์ปีนมากกว่า 150 ชนิด แต่ส่วนใหญ่มักจะมีในปริมาณที่น้อยมาก ซึ่งจะมีเทอร์ปีนบางชนิดที่โดดเด่นเป็นตัวกำหนดกลิ่นของกัญชาแต่ละสายพันธุ์ เช่น กัญชาสายพันธุ์ OG Kush จะมีกลิ่น สน และ ไม้ ในขณะที่ Wedding Cake มีกลิ่น วานิลลา พริกไทย เป็นต้น

เทอร์ปีนในกัญชาเป็นสารประกอบที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติซึ่งจะเกิดขึ้นจากต่อมเรซิ่นภายใน ไตรโคม (Trichomes) ของต้นกัญชาเพศเมีย ซึ่งไตรโคมส่วนใหญ่จะเกิดบริเวณช่อดอก ใบเลี้ยง Sugar leaf ที่ขึ้นบริเวณช่อดอก และกิ่งบริเวณช่อดอก เทอร์ปีนกัญชานอกจากจะสร้างกลิ่นอันเป็นเอกลักษณ์ของแต่ละสายพันธุ์ ยังมีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตและอยู่รอดของต้นกัญชาในการปกป้องตนเองจากแมลงกินพืชบางชนิดแล้ว อีกทั้งยังช่วยสร้างสีต่างๆของดอกกัญชาและใบ รวมไปถึงการสร้างรสชาติของดอกกัญชา ปริมาณเทอร์ปีนที่ต้นกัญชาผลิตได้เกิดขึ้นจากหลายปัจจัยในการปลูก ไม่ว่าจะเป็น การปลูกกลางแจ้ง (Outdoor) ในที่ร่ม (Indoor) การสัมผัสแสงของต้นกัญชา ปริมาณปุ๋ยที่ได้รับ ล้วนมีผลต่อการผลิตเทอร์ปีนทั้งสิ้น

2.3.3 สารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) (มาซากิ, 2557)

สารสำคัญในกัญชา ที่จัดเป็นนิวตราซูติคอล (Nutraceutical) หมายถึง อาหาร หรือส่วนประกอบของอาหาร ที่มีสรรพคุณซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ประโยชน์ทางยา ป้องกันโรค รักษาโรค และชะลอความชรา มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยทำหน้าที่ในการหน่วงเหนี่ยว หรือเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) จึงช่วยในการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ และยังช่วยลดการเกิดโรคเรื้อรังชนิดต่าง ๆ

2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง การนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะเนื้อเยื่อเซลล์หรือเซลล์ไม่มีผนัง มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ และอยู่ในสภาพควบคุมอุณหภูมิ แสง และความชื้นเพื่อให้เซลล์พืชที่นำมาเพาะเลี้ยงนั้น ปราศจากเชื้อที่มารบกวนและทำลายการเจริญเติบโตของพืช

2.4.1 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

1. คัดเลือกชิ้นส่วนพืช ส่วนของพืชแทบทุกส่วน ไม่ว่าจะเป็นส่วนของลำต้น ตา ดอก ราก แม้กระทั่งเนื้อเยื่อเซลล์หรือโปรโตพลาส ก็สามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และพัฒนาให้เกิดเป็นต้นพืชได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดพืช และวัตถุประสงค์ที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2. การทำความสะอาด ชิ้นส่วนที่นำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควรเป็นชิ้นส่วนที่สะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ดังนั้น จึงต้องนำมาฆ่าเชื้อด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ แล้วล้างด้วยน้ำนึ่งที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3. การตัดเนื้อเยื่อ ชิ้นส่วนพืชที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ วางลงบนอาหารสังเคราะห์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การบ่มเลี้ยงเนื้อเยื่อ นำขวดอาหารที่มี ชิ้นส่วนพืชวางบนชั้น ที่มีแสงสว่าง 2,000 - 4,000 ลักซ์ วันละ 12 - 16 ชั่วโมง ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 - 28 องศาเซลเซียส จนกระทั่งชิ้นส่วนของพืชมีการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์

5. การตัดแบ่งและเลี้ยงอาหาร ตัดแบ่งชิ้นส่วนพืช และเปลี่ยนอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณของต้นพืชทุก 1–2 เดือน ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และระยะการเจริญเติบโต ทำการเปลี่ยนอาหารจนกระทั่งพืชเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์

6. การย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ นำต้นพืช ที่มียอดและราก ที่สมบูรณ์ออกจากขวด ล้างวุ้นที่ติดกับราก ออกให้หมด ด้วยน้ำสะอาด และผึ่งลมให้แห้ง แช่น้ำยาป้องกันกำจัดเชื้อรา นำไปปลูกในภาชนะที่โปร่งสะอาด จากนั้นนำถุงพลาสติกใส่ครอบเจาะรูระบายน้ำไว้รอบถุง วางไว้ในที่ร่ม และพรางแสง ประมาณ 4 สัปดาห์หรือจนกระทั่งต้นพืชตั้งตัวได้

2.4.2 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (สวนเกษตร32, 2564)

1. สามารถผลิตต้นไม้ใหม่ได้ครั้งละมาก ๆ ในเวลาอันสั้น

การขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากต้นแม่เพียง 1 ต้น จะสามารถขยายพันธุ์พืชได้หลายครั้งต้นในครั้งเดียว เช่น การเพิ่มปริมาณได้ 10 เท่าจากชิ้นส่วนของต้นแม่เพียง 1 ชิ้น ทำให้เกษตรกรสามารถวางแผนการผลิตจำนวนมากในเวลาที่จำกัด ซึ่งจะช่วยเพิ่มผลผลิตให้กับเกษตรกรได้

2. สามารถขยายพันธุ์พืชได้ตลอดทั้งปี

โดยปกติแล้วการขยายพันธุ์พืชตามธรรมชาติจะต้องรอฤดูกาลที่ต้นไม้นั้น ๆ ผลิดอกออกผลจนกระทั่งเกิดเป็นเมล็ดพืช แล้วจึงเก็บเกี่ยวเมล็ดพืชเหล่านั้นนำไปปลูกเป็นต้นใหม่ได้ แต่การขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้ทุกเมื่อ จึงมีส่วนช่วยให้เกษตรกรมีผลผลิตที่สม่ำเสมอ

3. พืชที่ได้จะมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่

เนื่องจากการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะใช้เซลล์ของต้นแม่นำมาเลี้ยงจนเป็นต้นใหม่ จึงสามารถคงคุณลักษณะที่ดีตรงตามสายพันธุ์ของต้นแม่นั้น ๆ ไว้ได้เช่น สีสันของดอก ลวดลายของใบ ความแข็งแรงของต้น เป็นต้น สิ่งเหล่านี้จะช่วยลดปัญหาการกลายพันธุ์และช่วยควบคุมคุณภาพของผลผลิตของเกษตรกรให้มีความสม่ำเสมอมากขึ้น

4. ได้พืชที่ปราศจากโรค

การขยายพันธุ์บางวิธีอาจมี เชื้อไวรัส ไฟโตพลาสม่า และเชื้อแบคทีเรีย ที่มักติดมากับหัวพันธุ์/ท่อนพันธุ์ซึ่งจะก่อให้เกิดความเสียหายได้ แต่การขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นจะสามารถเลือกใช้เซลล์ต้นแม่ในส่วนที่ปลอดโรค ยกตัวอย่างเช่น ส่วนปลายยอดซึ่งยังไม่มีท่อน้ำท่ออาหารที่จะเป็นทางเคลื่อนย้ายของเชื้อโรค ทำให้ได้ต้นใหม่ที่ปลอดโรคซึ่งจะช่วยลดปัญหาความเสียหายทางเศรษฐกิจให้กับเกษตรกรได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การฟอกฆ่าเชื้อ (จันทร์วิภา, 2564)

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช (surface sterilization) เป็นวิธีการทำให้ชิ้นส่วนของพืชที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ มาทำการฟอกล้างชิ้นส่วนนั้นให้สะอาด แล้วนำสารเคมี เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (ไฮเตอร์) แอลกอฮอล์ สารลดแรงตรึงผิว (Tween) หรือสารเคมีอื่น ๆ ช่วยในการฟอก โดยนิยมใช้กับชิ้นส่วนต่าง ๆ เช่น เมล็ด กิ่งอ่อน ๆ หรือหน่ออ่อนที่มีตายอด หรือตาข้างซึ่งเป็นจุดเจริญที่สามารถชักนำให้เป็นต้น และยอดต่อไปได้ มาใช้ในการฟอก

2.5.1 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

นำชิ้นส่วนของพืชที่ต้องการจะฟอก มาล้างผ่านน้ำเป็นเวลา 15-20 นาที จากนั้นทำการล้างต่อด้วยแอลกอฮอล์ หรือสารเคมีอื่น ๆ เป็นเวลา 30 วินาที ถึง 1 นาที จากนั้นทำการล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อ 1 ครั้ง จากนั้นทำการฟอกโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ผสมกับสารลดแรงตรึงผิว (Tween) ทำการเขย่าเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อ ครั้งละ 5 นาที ตามจำนวนน้ำปลอดเชื้อที่ต้องการล้าง ทำการตัดส่วนที่ตายจากการฟอกออก หรือในกรณีที่ทำเมล็ดก็ตัดส่วนปลายของเมล็ดออกขนาด 1 mm. เพื่อให้ต้นอ่อนสามารถงอกออกมาได้ จากนั้นจึงนำลงในอาหารสังเคราะห์ที่ปลอดเชื้อ

2.6 สารควบคุมการเจริญเติบโต (ไทยเกษตรศาสตร์, 2557)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulating chemicals : PGRC) เป็นสารอินทรีย์ซึ่งไม่จำกัดว่าพืชจะสร้างขึ้นเองหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น และถ้าใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็จะสามารถกระตุ้น ยับยั้ง หรือเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาของพืชได้ฮอร์โมนพืช (plant hormones) เป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นในปริมาณเล็กน้อย และมีผลในการเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาในพืชนั้น ๆ อาจมีความหมายรวมถึงวิตามินบางชนิด แต่ไม่รวมถึงอาหารที่พืชสร้างขึ้น

2.6.1 กลุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต

1. ออกซิน (auxins) สารในกลุ่มนี้มีทั้งที่พืชสร้างขึ้นเอง (ฮอร์โมน) และสารสังเคราะห์มีหน้าที่ควบคุมการขยายตัวของเซลล์ การเติบโตของใบ การติดผล การเกิดราก และเกี่ยวข้องกับกระบวนการอื่นๆ อีกมากมาย สารออกซินที่ใช้ในการเกษตรส่วนใหญ่เป็นสารสังเคราะห์โดยใช้ประโยชน์ในการเร่งรากของกิ่งตอนหรือกิ่งปักชำ ช่วยเปลี่ยนเพศดอก ของพืชบางชนิด ช่วยติดผลป้องกันผลร่วง หรือขยายขนาดผลออกซินบางชนิดใช้กันมากเพื่อการกำจัดวัชพืช

2. จิบเบอเรลลิน (gibberellins) สารกลุ่มนี้พืชสร้างขึ้นได้เอง และยังมีเชื้อราบางชนิดสร้างสารนี้ได้ จึงมีการเลี้ยงเชื้อราเหล่านี้เพื่อนำมาสกัดสารจิบเบอเรลลินออกมาใช้ประโยชน์ ปัจจุบันยังไม่สามารถสังเคราะห์สารนี้ได้ในห้องปฏิบัติการ จึงทำให้สารชนิดนี้มีราคาสูง จิบเบอเรลลินมีหน้าที่ควบคุมการยืดตัวของเซลล์ การติดผล การเกิดดอก เร่งการเจริญเติบโตของต้นพืช ชาวสวนองุ่นใช้ประโยชน์จากจิบเบอเรลลินกันมาก โดยใช้ในการยืดช่อผล และปรับปรุงคุณภาพผล เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ไซโตไคนิน (cytokinins) มีหน้าที่ควบคุมการแบ่งเซลล์ การเจริญเติบโต ทางด้านกิ่งใบ การแตกแขนง สารกลุ่มนี้ใช้ประโยชน์ทางพืชสวนน้อยมาก ส่วนใหญ่ใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แต่ปัจจุบันเริ่มนำมาใช้เร่งการแตกตาข้างของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการขยายพันธุ์พืชโดยการติดตา

4. เอทิลีนและสารปลดปล่อยเอทิลีน (ethylene and ethylene releasing compounds) สารเอทิลีนเป็นก๊าซ ซึ่งพบได้ทั่ว ๆ ไป แม้กระทั่งในควันไฟก็มีเอทิลีนเป็นองค์ประกอบ พืชก็สามารถสร้างเอทิลีนได้เอง จึงจัดเป็นฮอร์โมนพืชชนิดหนึ่ง เอทิลีนมีหน้าที่ควบคุมการออกดอก การแก่และการสุกของผล และเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล อาจกล่าวรวมๆ ได้ว่า เอทิลีนมีหน้าที่กระตุ้นให้พืชแก่ตัวได้เร็วขึ้น การใช้ประโยชน์จากเอทิลีนในแปลงปลูกกระทำได้ยากเนื่องจากเอทิลีนเป็นก๊าซ ดังนั้นจึงมีการสังเคราะห์สารต่างๆ ให้อยู่ในรูปของแข็งหรือของเหลวที่สามารถปลดปล่อยก๊าซเอทิลีนออกมาได้ ซึ่งปัจจุบันได้นำมาใช้ประโยชน์ในการเร่งดอกสับปะรด เร่งการแก่ของผลไม้บนต้น เร่งการไหลของน้ำยางพารา

5. สารชะลอการเจริญเติบโต (plant growth retardants) สารกลุ่มนี้ไม่พบตามธรรมชาติในพืช เป็นกลุ่มของสารซึ่งสังเคราะห์ขึ้นมาทั้งหมด คุณสมบัติหลักของสารกลุ่มนี้คือ ยับยั้งการสร้างหรือการทำงานของจิบเบอเรลลิน ดังนั้นลักษณะของพืชที่ได้รับสารเหล่านี้จึงมักแสดงออกในทางที่ตรงกันข้ามกับผลของจิบเบอเรลลิน ประโยชน์ของสารชะลอการเจริญเติบโตมีหลายอย่าง เช่น ลดความสูงของต้น ทำให้ปล้องสั้นลง ช่วยในการออกดอกและติดผลของพืชบางชนิด

6. สารยับยั้งการเจริญเติบโต (plant growth inhibitors) สารกลุ่มนี้พืชสร้างขึ้นมาเพื่อถ่วงดุล กับสารเร่งการเจริญเติบโตต่างๆ ไม่ให้พืชเติบโตมากเกินไป สารกลุ่มนี้ยังควบคุมการพักตัว การหลุดร่วงของใบ ดอก ผล หรือแม้กระทั่งควบคุมการออกดอกของพืช ปัจจุบันมีการใช้สารสังเคราะห์ที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช เพื่อประโยชน์ทางการเกษตรเช่น ทำให้พืชแตกกิ่งแขนงมากขึ้น ยับยั้งการเกิดหน่อยาสูบ เร่งการออกดอกของพืชบางชนิด

7. สารอื่น ๆ เป็นสารที่ไม่อาจจัดอยู่ในกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งข้างต้นได้ เนื่องจากมีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป เช่น สารเร่งการเติบโตทั่ว ๆ ไป สารทำให้ใบร่วง สารเพิ่มผลผลิตสารในกลุ่มนี้มีผลต่อพืชค่อนข้างจำกัดและมักใช้เพื่อประโยชน์อย่างใดอย่างหนึ่งโดยเฉพาะ

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Poonam et al., 2018 ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดของกัญชา โดยการล้างเมล็ดด้วยน้ำประปาเพื่อขจัดสิ่งปนเปื้อนที่ติดมากับเมล็ด จากนั้นนำเมล็ดใส่ลงในเอทานอล 70 % เป็นเวลา 30 วินาที ล้างอีก 3 ครั้งด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เมื่อล้างครบ 3 ครั้ง นำเมล็ดใส่ 0.1% $HgCl_2$ 30 วินาที ล้างอีกครั้งด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นย้ายเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ และถูกทำให้แห้งแล้ว ลงไปยังอาหารแข็ง Murashige & Skoog (MS) สูตรที่มีการลดอาหารแข็งลงครึ่งนึงนั้นก็คือ ½ MS จากนั้นผสมด้วยน้ำตาลและวุ้น (0.8 %) ตามลำดับ จากนั้นเก็บเมล็ดไว้ในที่มืดเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำออกมาวางไว้ในที่มีแสงที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเมล็ดกัญชา พบว่ามีเมล็ดกัญชางอกมากกว่า 90%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cheng et al., 2016 ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดของกัญชา โดยการใส่เมล็ดลงในกรดซัลฟิวริก 20 วินาที จากนั้นนำเมล็ดล้างด้วยน้ำประปา เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำเมล็ดใส่ลงเอทานอล 75 % เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นใส่เมล็ดลงใน Sodium hypochlorite อีก 20 นาที และล้างด้วยน้ำนึ่งที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 10 ครั้ง และนำไปลงอาหารแข็ง Murashige & Skoog (MS) จากนั้นนำไปเก็บในที่ที่มีแสงที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเมล็ด พบว่าเมล็ดสามารถงอกส่วนใบเลี้ยง หรือ cotyledons ได้ในเวลา 3 วัน และได้นำมาศึกษาการชักนำยอดจากใบเลี้ยงของกัญชงโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ 0.4 mg/l และ NAA 0.2 mg/l จากการทดลองพบว่ามีการเกิดแคลลัสและยอด 51.7% หลังจากนั้น พบว่ามีการเกิดราก จากชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสคิดเป็น 80% มีการเกิดยอดเฉลี่ย 3 ยอดต่อจำนวนใบเลี้ยงทั้งหมดที่นำมาชักนำ

Galán-Ávila et al., 2020 ศึกษาการพัฒนาของต้นกัญชาในหลอดทดลอง เพื่อดูการเกิดการงอกใหม่ของอวัยวะของพืชกัญชา โดยทำการศึกษาจากการนำส่วนใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยงของพืชกัญชา ลงในอาหารแข็ง Murashige & Skoog (MS) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่มีความเข้มข้น 0.4 mg/l เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีความเข้มข้น 0.2 mg/l ใช้ส่วนประกอบอาหารแข็ง Murashige & Skoog (MS) เป็น ½ MS ผสมกับ 1.5 % ซูโครส จากนั้นนำไปใส่ 3.5 g/L ของ Gelrite จากนั้นทำการปรับ pH เป็น 5.8 จากนั้นก็นำส่วน ใบเลี้ยง (cotyledons) และ ลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyls) ใส่ลงในอาหารแข็ง MS ที่เตรียมไว้ และวางไว้ในที่ที่มีแสงเหมาะสมกับการเจริญเติบโต หลังจากนำใบเลี้ยงลงในอาหารแข็ง พบว่ามี% ของการเกิดยอดใหม่อยู่ที่ 22.32% ในเวลา 2 สัปดาห์ และสำหรับการนำลำต้นใต้ใบเลี้ยงลงในอาหารแข็ง พบว่ามี%การเกิดยอดใหม่อยู่ที่ 54.17% ในเวลา 2 สัปดาห์

Ferreira , 2018 ศึกษาการเพาะเลี้ยงแคลลัสของกัญชา เพื่อที่จะทำให้เกิดการสร้างอวัยวะจากแคลลัส โดยในการทดลองนี้จะพบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมที่สุดสำหรับแคลลัสของกัญชา คือ สารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่มีความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่มีความเข้มข้น 0.5 mg/l และสำหรับการชักนำยอดจากแคลลัสในการทดลองนี้พบว่าไม่มีการเกิดยอดขึ้น แต่พบการเกิดแคลลัสที่มีจำนวนเพิ่มขึ้น

Movahedi et al., 2015 ศึกษาการเพาะเลี้ยงแคลลัสของกัญชา โดยในการทดลองนี้นำแคลลัสที่เกิดจากส่วนของใบเลี้ยง และลำต้นเหนือใบเลี้ยง ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 และ 3 mg/l เพียงอย่างเดียว และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 และ 3 mg/l เพียงอย่างเดียว พบว่าแคลลัสจากใบเลี้ยง ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีความเข้มข้น 3 mg/l จะได้แคลลัสที่มีน้ำหนัก 1 g ส่วนแคลลัสจากลำต้นเหนือใบเลี้ยง ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีความเข้มข้น 0.5 mg/l จะได้แคลลัสที่มีน้ำหนัก 0.93 g และสำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่มีความเข้มข้น 1 mg/l ใช้แคลลัสจากใบเลี้ยง จะได้แคลลัสที่มีน้ำหนัก 2.5 g และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่มีความเข้มข้น 2 mg/l โดยใช้แคลลัสจากลำต้นเหนือใบเลี้ยง จะได้แคลลัสที่มีน้ำหนัก 3 g พบว่าทั้ง 2 สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง BA และ TDZ มีประสิทธิภาพในการชักนำยอด และพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ สามารถเพิ่มน้ำหนักของแคลลัสได้มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Loh et al., 1983 จากการศึกษาสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสของชิ้นส่วนจากแคลลัส ได้ทำการเพาะเลี้ยงรากและลำต้นโดยใช้ออกซินและไซโตไคนิน พบการตอบสนองโดยพบว่ารากที่วางบนสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในความเข้มข้น 1 mg/l เกิดแคลลัส

Slusarkiewicz-Jarzina el at., 2005 จากการศึกษาการชักนำแคลลัสจาก ใบ ก้านใบ ข้อของกัญชา โดยได้ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ NAA พบว่า เป็นเวลา 6 สัปดาห์ KN 1.0 mg/l ร่วมกับ NAA 0.5 mg/l และ KN 2.0 mg/l ร่วมกับ NAA 0.5 mg/l เป็นความเข้มข้นที่เหมาะกับการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี

Wang et al., 2009 จากการทดลองศึกษาเกี่ยวกับการขยายพันธุ์พืชในหลอดทดลองที่มีประสิทธิภาพและขั้นตอนการชักนำยอดจากต้นอ่อนของกัญชง (*Cannabis sativa* L.) เมล็ดกัญชงเลี้ยงบนอาหารแข็ง ½ MS ภายใต้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน จนขึ้นต้นอ่อน แล้วนำต้นอ่อนมาเลี้ยงต่อในอาหารแข็ง MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA พบว่า สูตรที่มี TDZ 0.2 mg/l และNAA 0.1 mg/l มีอัตราการเจริญเป็นยอดสูงสุดที่ 3.22 ยอดต่อต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 เครื่องแก้ว

1. กระบอกตวง
2. บีกเกอร์
3. ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
4. จานเพาะเลี้ยงแก้ว

3.1.2 อุปกรณ์อื่น ๆ

1. เครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius BP221S)
2. เครื่องวัดค่าความกรดด่าง (METTLER TOLEDO SevenCompact)
3. หม้อนึ่งความดัน (TOMY HIGH-PRESSURE STEAM STERILIZER ES-315)
4. กระดาษกราฟ
5. กระชอน

3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ถ่ายเนื้อเยื่อ

1. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
2. ตะเกียงแอลกอฮอล์
3. มีดผ่าตัดเบอร์ 3
4. ปากคีบสแตนเลส

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Murashige and Skoog (MS,1962) (องค์ประกอบอาหาร MS ที่ภาคผนวก ก)
2. น้ำตาลทราย
3. น้ำกลั่น
4. ผงวุ้น (Agar)
5. สารละลายกรดไฮโดรคลอกริก 0.5 และ 1N (Hydrochloric,HCl)
6. สารละลายเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 และ 1N (Sodium hydroxide,NaOH)
7. สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 70% และ 95% (Ethyl alcohol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. สารควบคุมการเจริญเติบโต

8.1 Kinetin (KN)

8.2 a-Naphthaleneacetic acid (NAA)

8.3 Thidiazuron (TDZ)

8.4 6-Benzylaminopurine (BA)

8.5 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4D)

3.3 พันธุ์พืช

กัญชา (Marijuana) หรือ (*Cannabis indica*) สายพันธุ์หางกระรอกภูพานเอสที 1

ซึ่งที่มาจาก ร้าน เอพริลแฟรี่ โดย มีใบอนุญาตขายเมล็ดพันธุ์ควบคุม (ที่ภาคผนวก ข)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเพาะเมล็ดกัญชาในขวดทดลอง

นำเมล็ดกัญชาใส่ในกระชอนวางบนบีกเกอร์และเปิดน้ำผ่านเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำเมล็ดมาใส่ในขวดที่มีเอทิลแอลกอฮอล์ 70% เขย่าเป็นเวลา 30 วินาทีแล้วล้างด้วยการเขย่า 5 นาที ในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อจากนั้นนำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์ 100% ร่วมกับ Tween-20 เป็นจำนวน 2 หยด เขย่า 10 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 6 ครั้ง เขย่าครั้งละ 5 นาที จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร ½ MS (Murashige and Skoog, 1962) จำนวน 25 เมล็ดทำการเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสโดยโดนแสงไฟตลอด 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์โดยบันทึกผลตามจำนวนต้นที่ออกจากเมล็ด นำมาคิดเป็น %การงอกของเมล็ดกัญชาด้วยสมการที่ 1

$$\%\text{การงอกของเมล็ดกัญชา} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100 \rightarrow \text{สมการที่ 1}$$

ต้นกัญชาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในขวดทดลอง ที่มีอายุ 4 สัปดาห์ จะถูกนำไปใช้ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสหรืออวัยวะจากชิ้นส่วนของใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยง และราก ของกัญชา (วิธีการเตรียมอาหารแข็งที่ภาคผนวก ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสหรืออวัยวะจากชิ้นส่วนของใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยง และราก ของกัญชา

นำต้นกัญชาที่งอกจากเมล็ดมาตัดแยก เอาส่วนของใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยงขนาด 1 เซนติเมตร ยอดและราก ของกัญชาย้ายลงในอาหารแข็งสูตร MS เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ NAA ตามตาราง ที่ 3.1 โดยทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกัญชาในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสโดยโดนแสงไฟตลอด 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (วิธีเตรียมอาหารแข็งที่ภาคผนวก ง)

ตารางที่ 3.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ NAA ทั้ง 10 สูตรต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนกัญชา

สูตรอาหาร	ความเข้มข้น (mg/l)	
MS	TDZ	NAA
0	0	0
1	0.1	0.1
2	0.1	0.2
3	0.1	0.4
4	0.2	0.1
5	0.2	0.2
6	0.2	0.4
7	0.4	0.1
8	0.4	0.2
9	0.4	0.4

บันทึกผลจาก จำนวนการเกิดยอด %การเกิดยอด %การเกิดแคลลัส (ดังสมการที่ 2 และ 3) บันทึกลักษณะของรากและลักษณะของแคลลัสที่ชักนำได้จากใบเลี้ยงและลำต้นใต้ใบเลี้ยง เมื่อครบ 4 สัปดาห์

$$\%\ \text{การเกิดแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยงบนอาหารแข็ง}} \times 100 \rightarrow \text{สมการที่ 2}$$

$$\%\ \text{การเกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอดใหม่}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนยอดที่นำมาเลี้ยงบนอาหารแข็ง}} \times 100 \rightarrow \text{สมการที่ 3}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชา

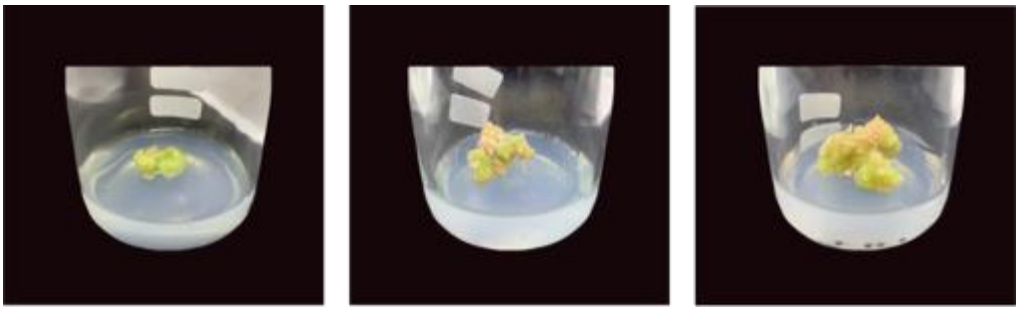
นำแคลลัสที่ชักนำได้จากใบเลี้ยงโดยมีลักษณะของสีแตกต่างกัน คือสีเขียวและสีขาว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิด 1.5 เซนติเมตร มาศึกษาการเจริญและการชักนำอวัยวะในอาหารสูตรที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ในส่วนของแคลลัสสีเขียวจะทำการเปลี่ยนสารควบคุมการเจริญเติบโตได้แก่ KN ร่วมกับ 2,4-D, TDZ และ BA เพื่อศึกษาการเจริญและชักนำอวัยวะต่อไป โดยทุกสูตรทำการเพาะเลี้ยงแคลลัสในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงไฟ 16 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยบันทึกผล %การเกิดยอด และ %การเกิดราก (ดังสมการที่ 4 และ 5) ลักษณะแคลลัส และขนาดของแคลลัสโดยให้คะแนนตามเกณฑ์ (ดังแสดงในรูป ที่ 3.1) โดยนำค่าคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสมาคิดค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส (ดังสมการที่ 6)

$$\%\ \text{การเกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนแคลลัสที่เกิดยอด}}{\text{จำนวนแคลลัสทั้งหมด}} \times 100 \rightarrow \text{สมการที่ 4}$$

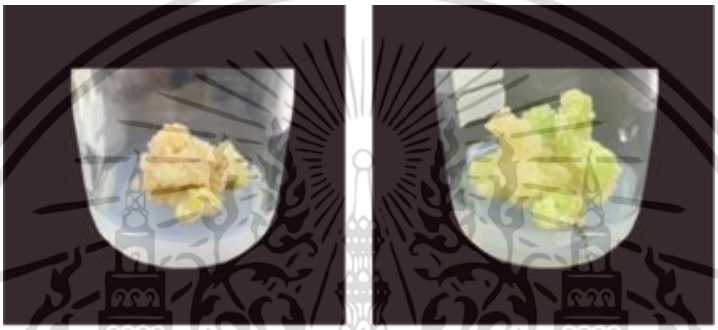
$$\%\ \text{การเกิดราก} = \frac{\text{จำนวนแคลลัสที่เกิดราก}}{\text{จำนวนแคลลัสทั้งหมด}} \times 100 \rightarrow \text{สมการที่ 5}$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส} = \frac{\text{ผลรวมคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส}}{\text{จำนวนแคลลัสทั้งหมด}} \rightarrow \text{สมการที่ 6}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) (ข) (ค)



(ง) (จ)

รูปที่ 3.1 เกณฑ์การให้คะแนนขนาดของแคลลัส

(ก) ขนาดของแคลลัสมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 มิลลิลิตรเมตร ให้คะแนนเป็น +1

(ข) ขนาดของแคลลัสมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.8 มิลลิลิตรเมตร ให้คะแนนเป็น +2

(ค) ขนาดของแคลลัสมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.1 มิลลิลิตรเมตร ให้คะแนนเป็น +3

(ง) ขนาดของแคลลัสมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.4 มิลลิลิตรเมตร ให้คะแนนเป็น +4

(จ) ขนาดของแคลลัสมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 2.7 มิลลิลิตรเมตรขึ้นไป ให้คะแนนเป็น +5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีขาวและสีเขียว ทั้งหมด 20 สูตร

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้น (mg/l)	
	KN	NAA
A	0	0.05
B	0	0.1
C	0	0.2
D	0	0.5
E	0.1	0
F	0.1	0.1
G	0.1	0.5
H	0.1	1
I	0.5	0
J	0.5	0.1
K	0.5	0.5
L	0.5	1
M	1	0
N	1	0.1
O	1	0.5
P	1	1
Q	2	0
R	2	0.1
S	2	0.5
T	2	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ 2,4D ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ทั้งหมด 9 สูตร

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้น (mg/l)	
	KN	2,4D
ก	0.5	0.5
ข	0.5	0.7
ค	0.5	1
ง	0.7	0.5
จ	0.7	0.7
ฉ	0.7	1
ช	1	0.5
ซ	1	0.7
ฌ	1	1

ตารางที่ 3.4 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ทั้งหมด 4 สูตร

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้น (mg/l)
	BA
BA 0.1	0.1
BA 0.2	0.2
BA 0.5	0.5
BA 1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.5 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ทั้งหมด 4 สูตร

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้น (mg/l)
	TDZ
TDZ 0.1	0.1
TDZ 0.2	0.2
TDZ 0.5	0.5
TDZ 1	1

3.4.4 การคำนวณทางสถิติ

นำค่าคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสทั้งหมดมาวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าทางสถิติ ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนขนาดของแคลลัสด้วยการทดสอบแบบดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test; DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 26

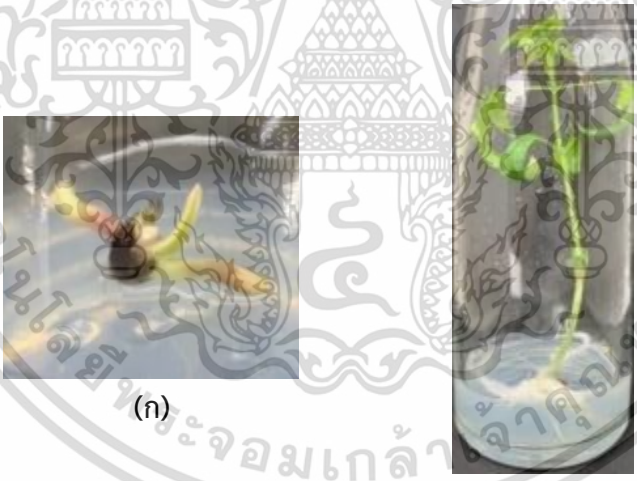
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโต

จากผลการทดลองการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดกัญชาและนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร ½ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ทำการเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยให้แสง 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพาะเมล็ด 25 เมล็ด พบว่า ใช้ระยะเวลา 5 วัน จึงมีการงอกลำต้นใต้ใบเลี้ยง และใบเลี้ยงออกมาจากเมล็ด (ดังแสดงในรูป ที่ 4.1) (ก) เมล็ดที่เพาะบนอาหารแข็งสูตร ½MS ดังแสดงในรูป พบว่าต้นที่งอกออกจากเมล็ด มีจำนวน 13 เมล็ด คิดเป็น 52 % (ข) เมล็ดที่เพาะบนอาหารแข็งสูตร MS ½ MS เมื่อครบ 4 สัปดาห์

Poonam et al., 2018 ได้ทำการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดกัญชา โดยใช้ 70% เอทานอล และ 0.1% $HgCl_2$ จากนั้นนำเมล็ดลงอาหารสูตร ½ MS พบว่ามี%การงอกของเมล็ดกัญชามากกว่า 90% ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการทดลองของเราที่มี%การงอกของเมล็ดเท่ากับ 52% ในสูตรอาหารเดียว ซึ่งอาจเกิดจากคุณภาพของเมล็ดและที่มาของเมล็ดที่แตกต่างกัน จึงทำให้%การงอกไม่สอดคล้องกัน



(ก) (ข)

รูปที่ 4.1 การเพาะเมล็ดกัญชาในขวดทดลอง
(ก) เมล็ดที่เพาะบนอาหารแข็งสูตร ½ MS ระยะเวลา 5 วัน
(ข) ต้นอ่อนที่งอกออกจากเมล็ดที่เพาะบนอาหารแข็งสูตร ½ MS เมื่อครบ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนต่าง ๆ ของกัญชา

จากผลการทดลองการนำชิ้นส่วนของกัญชา ได้แก่ ใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยง ยอด และราก โดยชิ้นส่วนที่นำมาศึกษามาจากต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดในการทดลองที่ 3.1 โดยนำชิ้นส่วนกัญชาทั้งหมดมาเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA (ดังแสดงในตาราง 3.1) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ามีการเกิดแคลลัสในทุกชิ้นส่วนที่นำลงอาหาร

ใบเลี้ยงพบการเกิดแคลลัสในทุกสูตรอาหาร โดยทุกสูตรมี %การเกิดแคลลัส 100 %และเกิดแคลลัสในระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าใบเลี้ยงที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 และ 6 (ดังแสดงในตาราง 4.1) มีการเกิดแคลลัสขึ้นเมื่อนำลงอาหารเป็นเวลา 4 วัน ลักษณะของแคลลัสมีสีขาวแทรกด้วยสีเขียว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆในขณะที่อีกสูตรพบว่า แคลลัสมีสีเขียวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น ๆ เมื่อครบ 4 สัปดาห์ (ดังแสดงในตารางที่ 4.1) โดยสูตรที่ใช้ระยะเวลานานที่สุดในการชักนำแคลลัสคือสูตรอาหารที่ 7 (ดังแสดงในตาราง 4.1) ใช้เวลา 8 วันถึงจะเห็นการเกิดแคลลัสโดยลักษณะที่พบคือแคลลัสเป็นสีเขียว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ แต่ในอาหารทุกสูตรไม่พบการเกิดของยอด (ดังแสดงในรูป 4.2)

ลำต้นใต้ใบเลี้ยง โดยในสูตรอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA สูตรที่ 2,3,8 และ 9 (ดังแสดงในตาราง 4.2) พบการเกิดแคลลัสเมื่อผ่านไป 7 วัน โดยลักษณะแคลลัสเมื่อครบ 4 สัปดาห์ คือ ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ สูตร 2 และ 3 แคลลัสที่พบเป็นสีเขียวในขณะที่ สูตรที่ 8 และ 9 แคลลัสเป็นสีน้ำตาล โดยสูตรที่เกิดแคลลัสช้าที่สุด พบว่าเกิดแคลลัสเมื่อผ่านไป 9 วัน ได้แก่อาหารสูตรที่ 1 เมื่อครบ 4 สัปดาห์ แคลลัสมีสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ แต่ในอาหารทุกสูตรไม่พบการเกิดของยอด และราก (ดังแสดงในรูป 4.3)

รากพบการเกิดแคลลัสในทุกสูตรอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 4.3 โดยมีเพียงสูตรเดียวที่ไม่พบการเกิดแคลลัสคือ สูตรที่ 0 (ดังแสดงในรูป 4.4) สูตรที่เกิดแคลลัสที่เร็วสุด ใช้เวลา 4 วัน ได้แก่สูตรอาหารที่มี 2, 3 และ 6 โดยแต่ละสูตรหลังจากผ่านไป 4 สัปดาห์ แคลลัสมีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ ในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 , 5 และ 8 แคลลัสยังคงเป็นสีเขียว (ดังแสดงในรูป 4.5) แต่ในอาหารทุกสูตรไม่พบการเกิดของยอด และราก

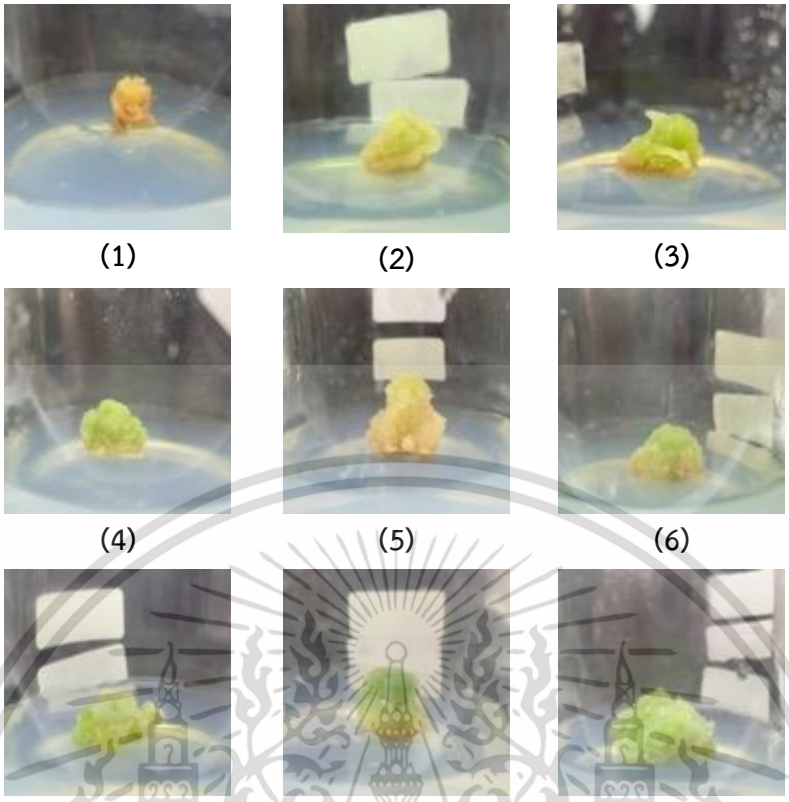
ยอดของกัญชาเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (ดังแสดงในรูป 4.6) พบการเกิดใหม่ของยอดอ่อนบริเวณบนสุดของปลายยอดกัญชาในทุกสูตร (ดังแสดงในตาราง4.4) แต่พบเพียง 1 สูตรที่มีการเกิดยอดใหม่ 4 ยอด/ คือ อาหารสูตรที่ 1 (ดังแสดงในรูป 4.7) โดยมีเพียง 2 สูตรที่ใบยังไม่มีการเปลี่ยนสีหรือเฉา ได้แก่สูตรอาหารที่ 2 และ 9 (ดังแสดงในรูป 4.6) และยังพบการเกิดแคลลัสที่บริเวณฐานของยอดในทุกสูตร (ดังแสดงในรูป 4.8) โดยสูตรที่พบแคลลัส เมื่อลงอาหารไปแล้ว 5 วัน คือสูตรที่ 2 เมื่อผ่านไป 1 สัปดาห์ (ดังแสดงในตารางที่ 4.4) แคลลัสที่พบมีสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ ไม่พบการเกิดรากในทุกสูตรอาหาร

Galán-Ávila et al., 2020 ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาของต้นกัญชาในหลอดทดลอง เพื่อดูการเกิดการงอกใหม่ของอวัยวะของพืชกัญชา โดยทำการศึกษาจากการนำส่วนใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยงของพืชกัญชา ลงในอาหารแข็ง TDZ ที่มีความเข้มข้น 0.4 mg/l เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 0.2 mg/l ใช้ พบว่ามี% ของการเกิดยอดใหม่อยู่ที่ 22.32% ในเวลา 2 สัปดาห์ และสำหรับการนำลำต้นใต้ใบเลี้ยงลงในอาหารแข็ง พบว่ามี%การเกิดยอดใหม่อยู่ที่ 54.17% ในเวลา 2 สัปดาห์ แต่ในผลการทดลองนี้พบว่า TDZ ที่มีความเข้มข้น 0.4 mg/l เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีความเข้มข้น 0.2 mg/l ไม่มีการเกิดยอด ทั้งในใบเลี้ยง และลำต้นใต้ใบเลี้ยง และเมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ ที่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงคือการเกิดแคลลัสเท่านั้น ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงสารควบคุมการเจริญชนิดอื่น ๆ ที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดจากชิ้นส่วนใบเลี้ยง และลำต้นใต้ใบเลี้ยงมากกว่านี้ จากงานวิจัย Loh et al., 1983 จากการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสของชิ้นส่วนกัญชาโดย ได้ทำการเพาะเลี้ยงรากโดยใช้ออกซิน พบว่ารากที่วางบนสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA เกิดแคลลัสซึ่งเป็นไปตามผลการทดลอง การเกิดของแคลลัสคิดเป็น 90%ของรากทั้งหมดที่นำมาเลี้ยงในอาหาร 9 สูตร ในส่วนของการเกิดยอด จากงานวิจัย Wang R et al.,2009 จากการทดลองศึกษาเกี่ยวกับการขยายพันธุ์พืชในหลอดทดลองที่มีประสิทธิภาพและขั้นตอนการชักนำยอดจากต้นอ่อนของกัญชง (*Cannabis sativa* L.) เมล็ดกัญชงเลี้ยงบนอาหารแข็ง ½ MS ภายใต้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวันจนขึ้นต้นอ่อนแล้วนำต้นอ่อนมาเลี้ยงต่อในอาหารแข็ง MS ที่มี TDZ และ NAA พบว่าสูตรที่มี TDZ 0.2 mg/lและNAA 0.1 mg/l มีการเกิดยอดยอดสูงสุดที่ 3.22 ต่อชิ้นส่วนยอด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ที่มีการเกิดยอดเฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้นส่วนยอดในสูตรอาหารเดียวกัน แต่ในผลการทดลองของเราสูตรที่มีการเกิดยอดมากที่สุดอยู่ที่การเกิดยอดเฉลี่ย 4 ยอดต่อชิ้นส่วนยอดทั้งหมดอยู่ที่อาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ 0.1 mg/lร่วมกับ NAA 0.1 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ลักษณะของลำต้นใต้ใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป 1 – 9 (คือสูตรอาหารที่ 1 – 9 ดังแสดงในตาราง 3.1)

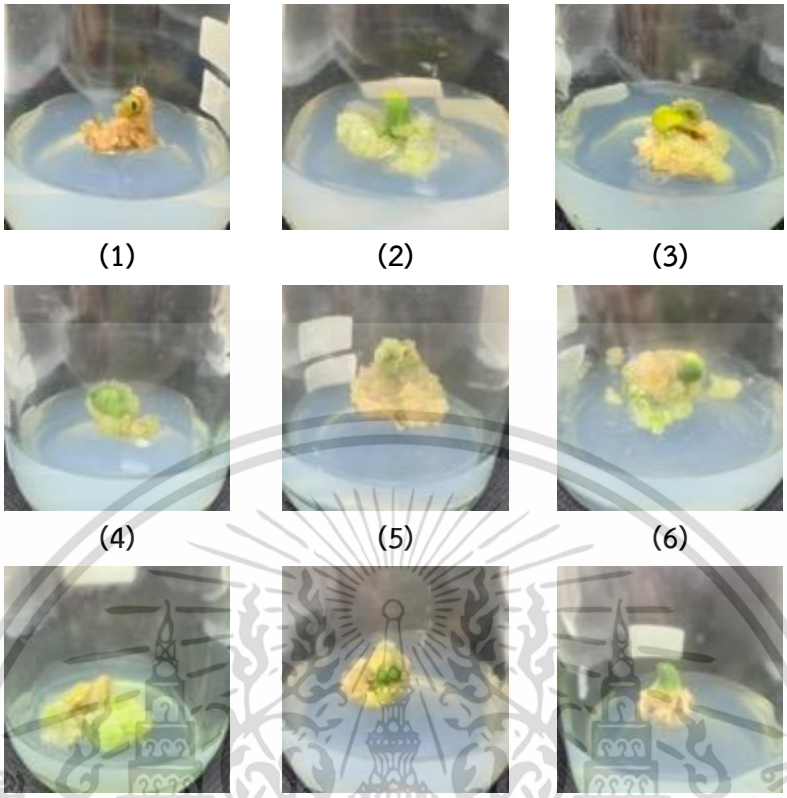
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงของลำต้นใต้ใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%การเกิดแคลลัส	% การเกิดยอด	ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงของลำต้นใต้ใบเลี้ยง
	TDZ	NAA			
1	0.1	0.1	100	0	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
2	0.1	0.2	100	0	พบว่าใช้เวลา 4 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีขาวแทรกด้วยสีเขียว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
3	0.1	0.4	100	0	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น ๆ
4	0.2	0.1	100	0	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียว ลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น ๆ
5	0.2	0.2	100	0	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีขาวแทรกด้วยสีเขียว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

ตารางที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงของลำต้นใต้ใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ)

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%การเกิดแคลลัส	% การเกิดยอด	ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงของลำต้นใต้ใบเลี้ยง
	TDZ	NAA			
6	0.2	0.4	100	0	พบว่าใช้เวลา 4 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น ๆ
7	0.4	0.1	100	0	พบว่าใช้เวลา 8 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
8	0.4	0.2	100	0	พบว่าใช้เวลา 5 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น ๆ
9	0.4	0.4	100	0	พบว่าใช้เวลา 5 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียว ลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น ๆ



รูปที่ 4.3 ลักษณะของใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป 1 – 9 (คือสูตรอาหารที่ 1 – 9 ดังแสดงในตาราง3.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

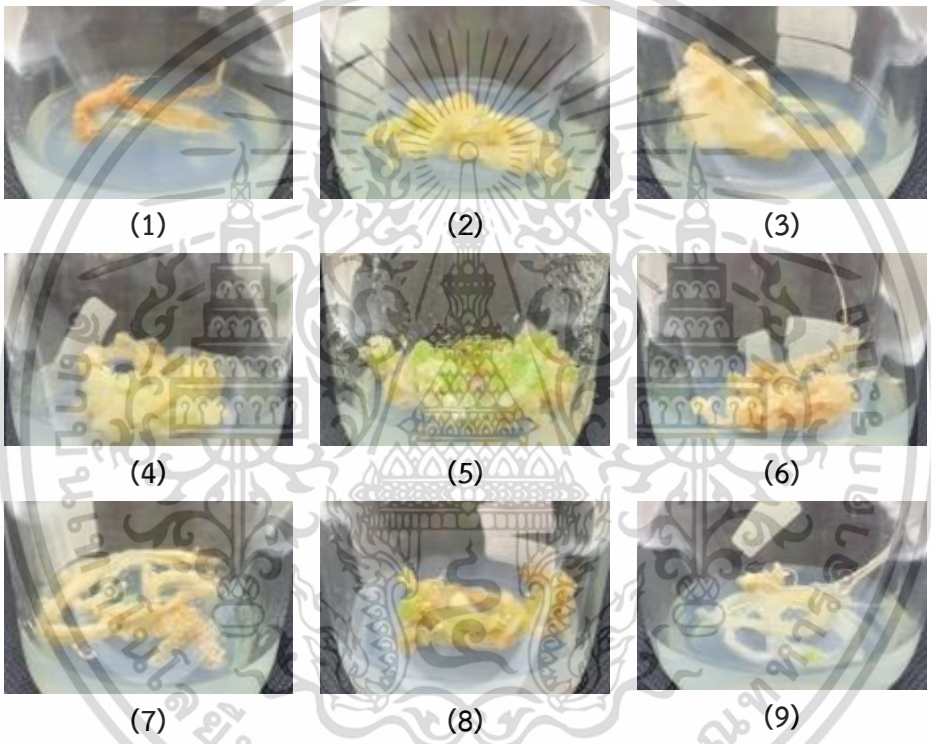
ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงของใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%การเกิดแคลลัส	% การเกิดยอด	ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงของใบเลี้ยง
	TDZ	NAA			
1	0.1	0.1	100	0	พบว่าใช้เวลา 9 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
2	0.1	0.2	100	0	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
3	0.1	0.4	100	0	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวแทรกด้วยสีขาว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
4	0.2	0.1	100	0	พบว่าใช้เวลา 8 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
5	0.2	0.2	100	0	พบว่าใช้เวลา 8 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวแทรกด้วยสีขาว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงของใบเลี้ยงที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ)

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%การเกิดแคลลัส	% การเกิดยอด	ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงของใบเลี้ยง
	TDZ	NAA			
6	0.2	0.4	100	0	พบว่าใช้เวลา 8 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวแทรกด้วยสีขาว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
7	0.4	0.1	100	0	พบว่าใช้เวลา 8 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
8	0.4	0.2	100	0	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
9	0.4	0.4	100	0	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

รูป 4.4 ลักษณะของรากที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 0 (ดังแสดงในตาราง 3.1)



รูปที่ 4.5 ลักษณะของรากที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA 10 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป 1 – 9 (คือสูตรอาหารที่ 1 – 9 ดังแสดงในตาราง3.1)

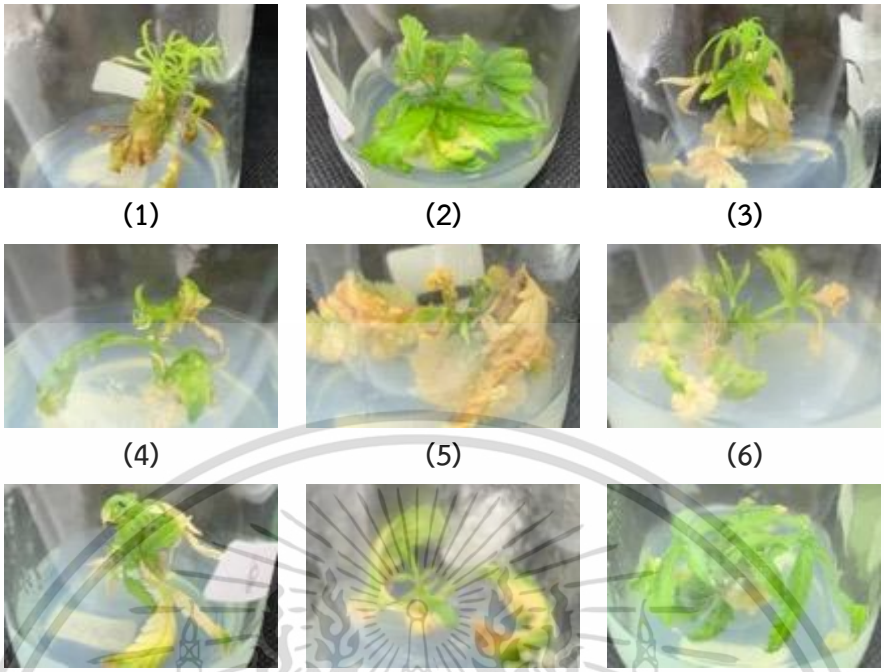
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงของรากที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%การเกิดแคลลัส	ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงของราก
	TDZ	NAA		
0	0	0	0	ไม่พบการเกิดของแคลลัสแต่พบการเพิ่มปริมาณของราก
1	0.1	0.1	60	พบว่าใช้เวลา 4 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวแทรกด้วยสีขาว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
2	0.1	0.2	60	พบว่าใช้เวลา 4 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวแทรกด้วยสีขาว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
3	0.1	0.4	60	พบว่าใช้เวลา 4 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีขาว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
4	0.2	0.1	100	พบว่าใช้เวลา 8 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีขาวแทรกด้วยสีเขียว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
5	0.2	0.2	100	พบว่าใช้เวลา 8 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงของรากที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ)

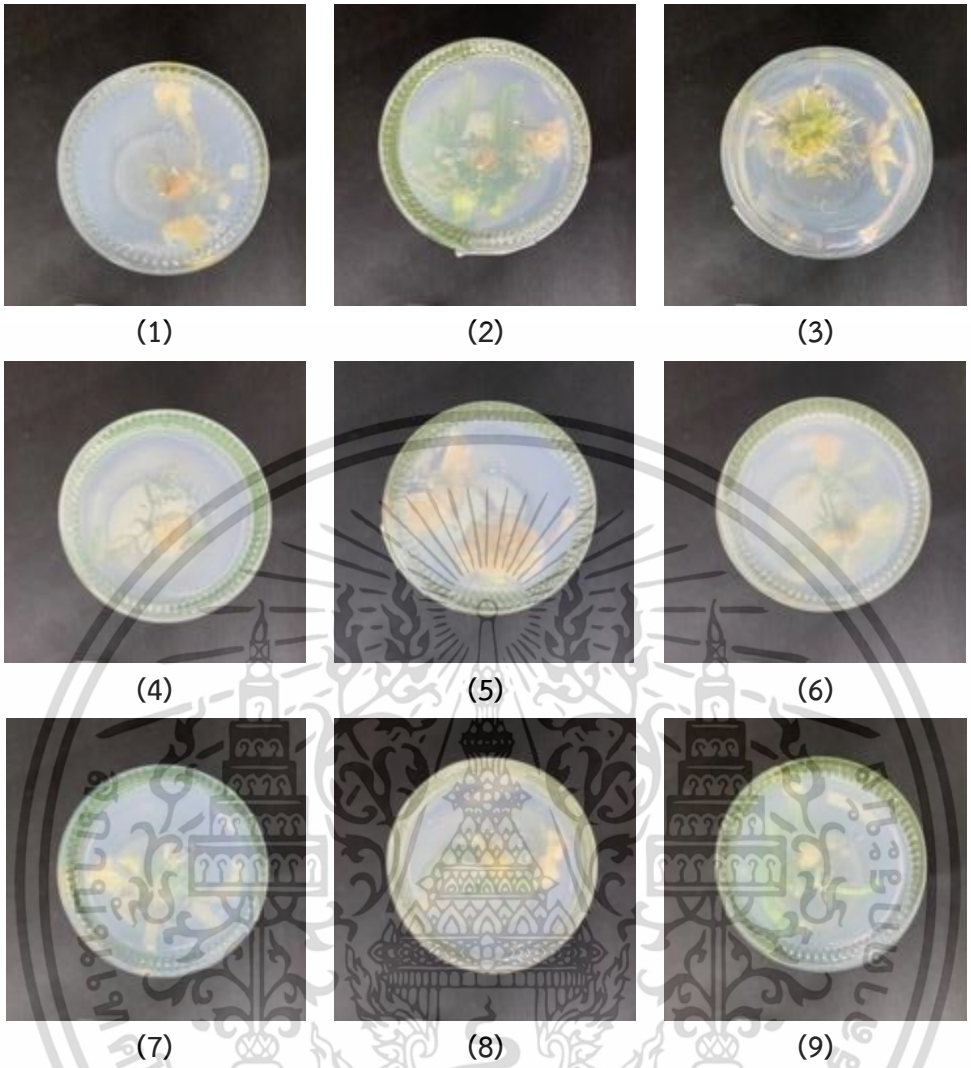
สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%การเกิดแคลลัส	ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงของราก
	TDZ	NAA		
6	0.2	0.4	100	พบว่าใช้เวลา 4 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีขาวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
7	0.4	0.1	30	พบว่าใช้เวลา 5 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีขาว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
8	0.4	0.2	100	พบว่าใช้เวลา 5 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
9	0.4	0.4	60	พบว่าใช้เวลา 6 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น แคลลัสที่พบมีสีขาว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ



รูปที่ 4.6 ลักษณะของยอดที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป 1 – 9 (คือสูตรอาหารสูตรที่ 1 – 9 ดังแสดงในตาราง3.1)

รูปที่ 4.7 ลักษณะของชิ้นส่วนยอดที่พบการเกิดยอดหลายยอด โดยจากรูปมาจากสูตรอาหาร TDZ 0.1 mg/l ร่วมกับ NAA 0.1 mg/l พบการเกิดยอดใหม่ 4 ยอด*ลูกศรสีแดงชี้ตำแหน่งยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 ลักษณะของแคลลัสที่ขึ้นบริเวณฐานของยอดที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป 1 – 9 (คือสูตรอาหารสูตรที่ 1 – 9 ดังแสดงในตาราง 3.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงของยอดที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%การเกิดแคลลัส	เฉลี่ยการเกิดยอด (ต่อชิ้นส่วนยอด)	%การเกิดยอด	ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงของยอด
	TDZ	NAA				
1	0.1	0.1	60	4	100	พบว่าใช้เวลา 10 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้นที่บริเวณฐานของยอด แคลลัสที่พบมีสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
2	0.1	0.2	60	3	100	พบว่าใช้เวลา 5 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้นบริเวณฐานของยอด แคลลัสที่พบมีสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
3	0.1	0.4	100	3	100	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้นบริเวณฐานของยอด แคลลัสที่พบมีสีขาว ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
4	0.2	0.1	100	2	100	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้นบริเวณฐานของยอด แคลลัสที่พบมีสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
5	0.2	0.2	100	1	100	พบว่าใช้เวลา 11 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้นบริเวณฐานของยอด แคลลัสที่พบมีสีขาวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงของยอดที่วางบนอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลา 4สัปดาห์ (ต่อ)

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		%การเกิดแคลลัส	เฉลี่ยการเกิดยอด (ต่อชิ้นส่วนยอด)	%การเกิดยอด	ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงของยอด
	TDZ	NAA				
6	0.1	0.1	30	2	100	พบว่าใช้เวลา 12 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้นบริเวณฐานของยอด แคลลัสที่พบมีสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
7	0.1	0.2	60	1	100	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น บริเวณฐานของยอด แคลลัสที่พบมีสีขาวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
8	0.1	0.4	100	1	100	พบว่าใช้เวลา 13 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้น บริเวณฐานของยอด แคลลัสที่พบมีสีขาวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
9	0.2	0.1	60	2	100	พบว่าใช้เวลา 7 วัน จึงมีการเกิดแคลลัสขึ้นบริเวณฐานของยอด แคลลัสที่พบมีสีขาวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

4.3 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชา

4.3.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ต่อแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียวและสีขาว

จากการนำแคลลัสของกัญชาสีขาวและสีเขียวที่มาจากการชักนำใบเลี้ยงมาทำการเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA (ดังแสดงในตาราง 3.2)

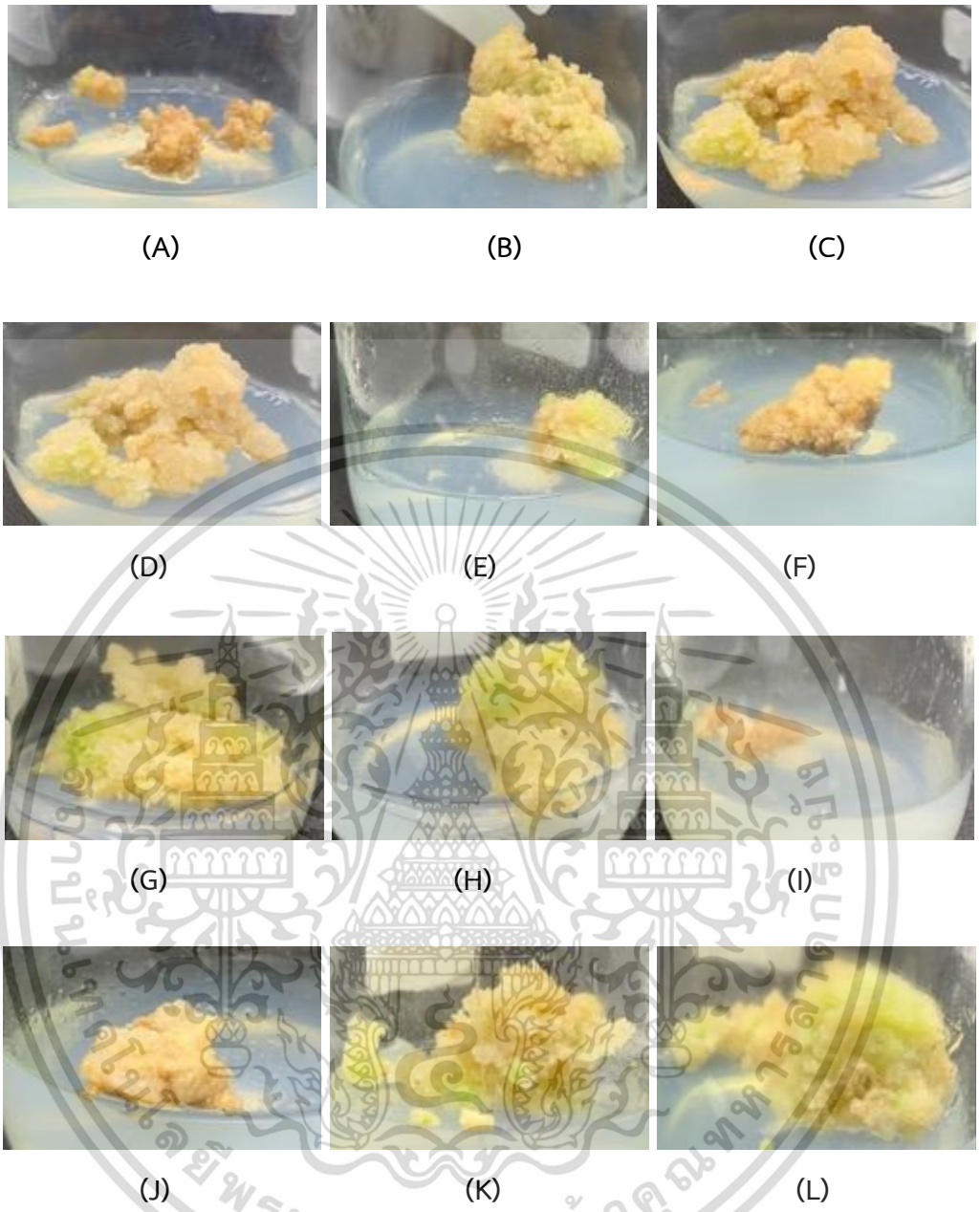
โดยแคลลัสสีขาวพบว่าเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์มีสีของแคลลัสเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียวและเพิ่มปริมาณมากขึ้นกว่าเดิมโดยสูตรที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสมากที่สุดคือสูตร G ที่ โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสที่ 4.80 $\pm$ 0.42^{a} (ดังแสดงในตาราง4.5) ลักษณะที่พบคือขนาดใหญ่ สีที่พบส่วนใหญ่สีเขียวและมีแคลลัสสีขาวแทรกเล็กน้อย แคลลัสมีลักษณะนิ่มเกาะกันอย่างหลวมๆ สูตรรองลงมาที่มีคะแนนเฉลี่ยใกล้เคียงกัน คือ สูตร H, K, P, T, C, D (ดังแสดงในตาราง 4.5) ให้ลักษณะแคลลัสที่คล้ายกันคือแคลลัสมีขนาดใหญ่ปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวและมีแคลลัสสีขาวแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะนิ่มเกาะกันอย่างหลวมๆ แต่สูตร C อาจไม่เหมาะสมเพราะพบว่าแคลลัสกลายเป็นสีน้ำตาลหลังจะนำเอาแคลลัสสีขาวลงอาหารไปแล้ว 4 สัปดาห์ และสูตรที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของแคลลัสมากที่สุด คือ สูตร F โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสที่ 1.40 $\pm$ 0.55^{e} (ดังแสดงในตาราง 4.5) ลักษณะแคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบว่าคือสีน้ำตาล หลังจากนำเอาแคลลัสลงอาหารไปแล้ว 4 สัปดาห์แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น โดยจากการนำแคลลัสสีขาวลงอาหารทั้ง 20 สูตร ไม่พบการเกิดยอดและราก (ดังแสดงในรูป 4.9)

ในส่วนของการใช้แคลลัสสีเขียวลงในอาหาร เป็นเวลาทั้งหมด 4 สัปดาห์ ดังแสดงในรูป 4.10 พบว่าแคลลัสเพิ่มปริมาณมากขึ้นโดยที่สูตรที่มีคะแนนเฉลี่ยมากที่สุดได้แก่ สูตร G มีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส 4.93 $\pm$ 0.27^{a} (ดังแสดงในตาราง 4.6) ลักษณะแคลลัสมีขนาดใหญ่สีที่พบเป็น สีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ ซึ่งเป็นสูตรเดียวกับที่นำแคลลัสสีขาวมาลงอาหารแล้วให้คะแนนเฉลี่ยมากที่สุด และลักษณะของแคลลัสที่พบทั้งที่นำแคลลัสสีขาวลงและแคลลัสสีเขียวลงอาหารสูตร G เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ให้ลักษณะที่คล้ายคลึงกัน สูตรที่เหมาะสมรองลงมา ได้แก่ สูตร R, H, N ,L (ดังแสดงในตาราง 4.6) ลักษณะที่พบคือแคลลัสมีขนาดใหญ่ สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว อาจมีแทรกสีน้ำตาลเพียงเล็กน้อย มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ ส่วนสูตรอาหารที่ไม่เหมาะสม คือที่ให้ค่าเฉลี่ยคะแนนต่ำได้แก่ สูตร Q ลักษณะแคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาล มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น โดยจากการนำแคลลัสสีขาวลงอาหารทั้ง 20 สูตร ไม่พบการเกิดยอดและแต่พบการเกิดราก ได้แก่ อาหารสูตร A ,B ,C, F และในสูตร C ให้ %การเกิดรากมากที่สุด คือ 60% รองลงมาคือ อาหารสูตร F ซึ่งมี % การเกิดราก คือ 40% (ดังแสดงในรูปที่ 4.11)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Slusarkiewicz-Jarzina el at., 2005. จากการศึกษาการชักนำแคลลัสจาก ใบ ก้านใบ ข้อของกัญชาโดยได้ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 6 สัปดาห์ KN 1.0 mg/l ร่วมกับ NAA 0.5 mg/l และ KN 2.0 mg/l ร่วมกับ NAA 0.5 mg/l เป็นความเข้มข้นที่เหมาะกับการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี ซึ่งจากงานวิจัยจึงนำมาทดลองกับการหาสูตรอาหารที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแคลลัส พบว่าผลสอดคล้องกันจากการวางแคลลัสเขียวในความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตข้างต้น แคลลัสมีขนาดปานกลางและยังคงมีสีเขียวลักษณะแคลลัสนิ่มเกาะกันอย่างหลวม ๆ และยังพบว่าการใช้ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่ม Auxin ทำให้มีโอกาสเกิดราก และในการวิจัยของ Cheng et al.,2016 การศึกษาการชักนำยอดจากใบเลี้ยงของกัญชงโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ 0.4 mg/l และ NAA 0.2 mg/l จากการทดลองพบว่ามีการเกิดแคลลัสและยอด 51.7% หลังจากนั้น พบว่ามีการเกิดรากจากชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสคิดเป็น 80% ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองเพราะพบว่าในอาหารที่มี NAA 0.2 mg/l พบการเกิดรากในแคลลัสที่มีเขียวที่วางในอาหารสูตรนี้เช่นกัน

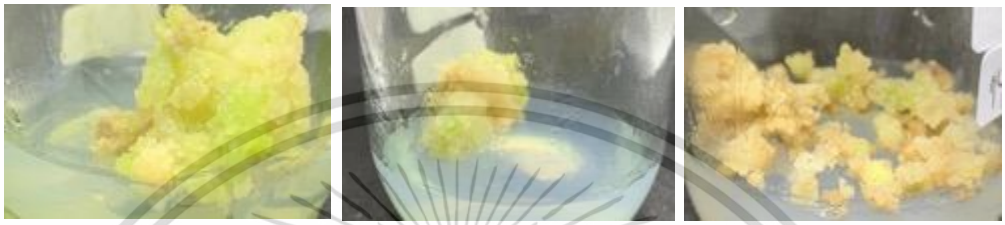
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



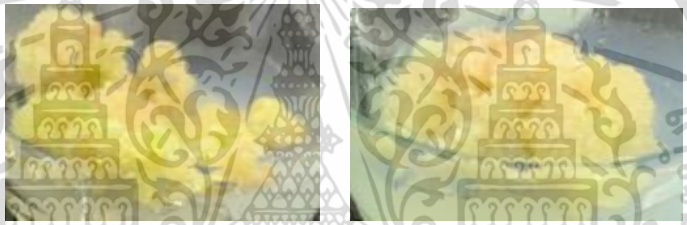
รูปที่ 4.9 ลักษณะของแคลลัสขาวที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA 20 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A – T (คืออาหารสูตร A – T ตามตาราง 3.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(M) (N) (O)



(P) (Q) (R)



(S) (T)

รูปที่ 4.9 ลักษณะของแคลลัสขาวที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA 20 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A – T (คืออาหารสูตร A – T ตามตาราง 3.2) (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีขาวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
	KN	NAA				
A	0	0.05	2.00 ± 0.00^{de}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็กปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวเกิดขึ้นด้านในและแคลลัสสีน้ำตาลเกิดขึ้น รอบๆ แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
B	0	0.1	3.00 ± 0.00^{cd}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวเกิดขึ้นด้านในและแคลลัสสีน้ำตาลเกิดขึ้น รอบๆ แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
C	0	0.2	4.00 ± 0.00^{b}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ปานกลาง สีที่พบเป็นสีน้ำตาลเกิดขึ้นและแคลลัสสีเขียวเกิดขึ้นบางส่วน แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
D	0	0.5	4.00 ± 0.00^{b}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียว แคลลัสมีลักษณะนิ่มเกาะกันอย่างหลวมๆ
E	0.1	0	1.60 ± 1.34^{e}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาลและแคลลัสสีเขียวเกิดขึ้นบางส่วน แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
F	0.1	0.1	1.40 ± 0.55^{e}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาล แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น

ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีขาวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ)

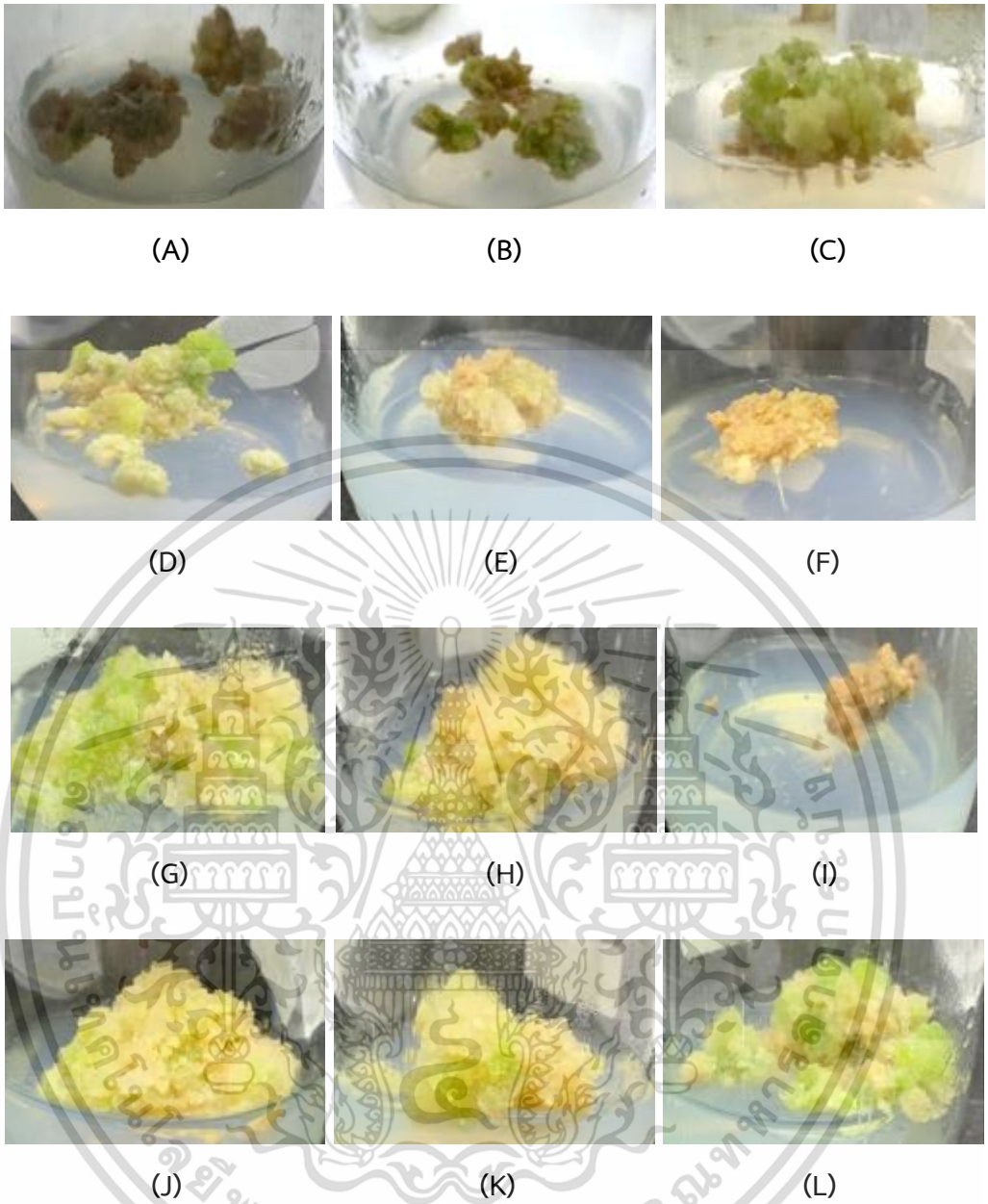
สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
	KN	NAA				
G	0.1	0.5	4.80 ± 0.42^{a}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ สีที่พบเป็นสีเขียวและมีแคลลัสสีขาวแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะนิ่มเกาะกันอย่างหลวมๆ
H	0.1	1	4.44 ± 1.04^{ab}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวและมีแคลลัสสีขาวแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะนิ่มเกาะกันอย่างหลวมๆ
I	0.5	0	1.60 ± 1.34^{e}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีเขียวและมีแคลลัสสีน้ำตาลแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
J	0.5	0.1	2.33 ± 1.51^{cde}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็กปานกลาง สีที่พบเป็นสีน้ำตาล แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
K	0.5	0.5	4.24 ± 0.84^{ab}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวเกิดขึ้นด้านนอกและด้านในเกิดแคลลัสสีน้ำตาล แคลลัสมีลักษณะนิ่มเกาะกันอย่างหลวมๆ

ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีขาวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ)

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
	KN	NAA				
L	0.5	1	3.25 ± 1.49^{bcd}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียว แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
M	1	0	1.00 ± 0.00^{e}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาลและสีเขียวแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
N	1	0.1	3.50 ± 1.51^{bc}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียว แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
O	1	0.5	3.00 ± 1.00^{bcd}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาลและมีแคลลัสสีน้ำตาลแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
P	1	1	4.23 ± 1.02^{ab}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวและสีน้ำตาลแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น

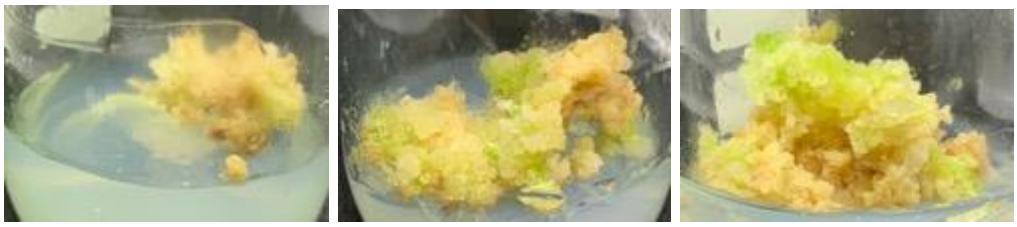
ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีขาวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ)

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
	KN	NAA				
Q	2	0	3.20 ± 0.84^{bcd}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวและสีน้ำตาลแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
R	2	0.1	3.18 ± 0.84^{bcd}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ปานกลาง สีที่พบเป็นเป็นสีน้ำตาลและสีเขียวแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
S	2	0.5	3.50 ± 0.58^{abc}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวและสีน้ำตาลแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
T	2	1	4.17 ± 0.41^{ab}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ปานกลาง สีที่พบเป็นเขียวและสีน้ำตาลแทรกบางส่วน แคลลัสมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น

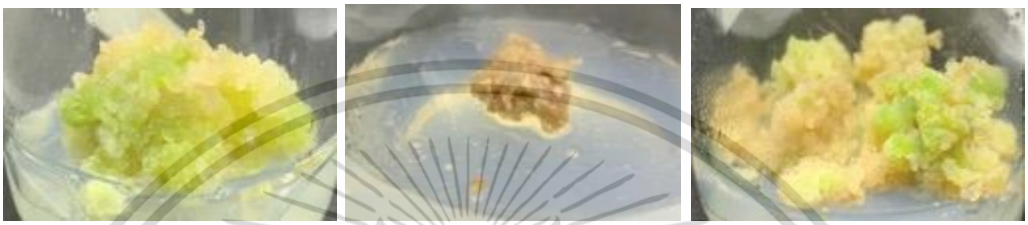


รูปที่ 4.10 ลักษณะของแคลลัสเขียวที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA 20 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A – T (คืออาหารสูตร A – T ตามตาราง 3.2)

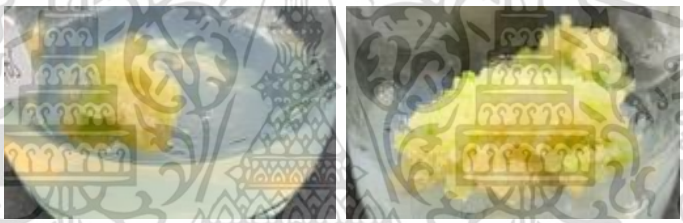
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(M) (N) (O)



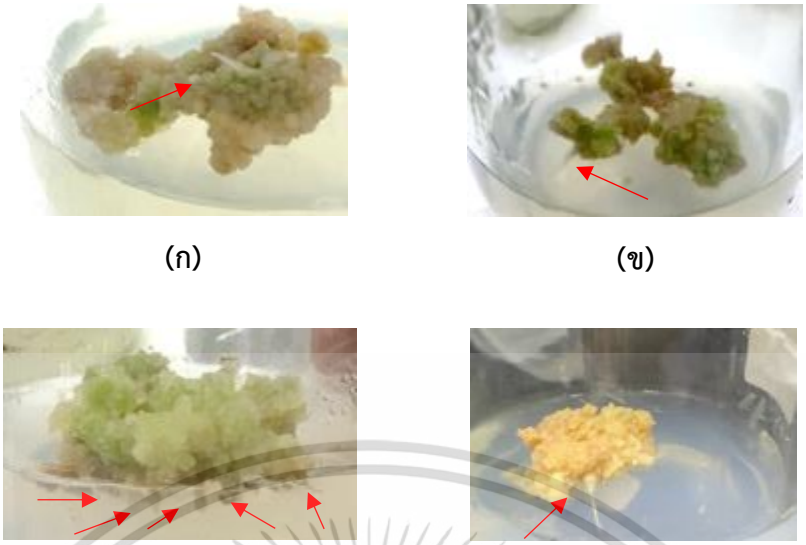
(P) (Q) (R)



(S) (T)

รูปที่ 4.10 ลักษณะของแคลลัสเขียวที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA 20 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A – T (คืออาหารสูตร A – T ตามตาราง 3.2) (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) (ข)

(ค) (ง)

รูปที่ 4.11 ลักษณะของรากที่พบบนแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุม ดังนี้

(ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0.05 mg/l พบว่ามีจำนวนราก 1 เส้นต่อขวด

(ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0.1 mg/l พบว่ามีจำนวนราก 1 เส้นต่อขวด

(ค) สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0.2 mg/l พบว่ามีจำนวนราก 5 เส้นต่อขวด

(ง) สารควบคุมการเจริญเติบโต KN 0.1 mg/l ร่วมกับ NAA 0.1 mg/l พบว่ามีการเกิดราก 1 เส้นต่อขวด ภายหลังจากการเพาะเลี้ยง4 สัปดาห์ *ลูกศรสีแดงชี้จุดที่เกิดราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
	KN	NAA				
A	0	0.05	2.60 ± 0.45^{fg}	0	20	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีเขียว มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น มีรากเกิดขึ้น
B	0	0.1	3.10 ± 0.55^{ef}	0	10	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีน้ำตาล มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น มีรากเกิดขึ้น
C	0	0.2	3.60 ± 0.55^{cde}	0	60	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวมีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น มีรากเกิดขึ้น
D	0	0.5	3.60 ± 0.55^{cde}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวมีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
E	0.1	0	1.80 ± 0.84^{hi}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีน้ำตาล มีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น
F	0.1	0.1	2.75 ± 0.71^{gh}	0	40	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาลมีลักษณะแข็งเกาะกันแน่น

ตารางที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ)

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l))		ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
	KN	NAA				
G	0.1	0.5	4.93 ± 0.27^{a}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
H	0.1	1	4.55 ± 0.69^{ab}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
I	0.5	0	1.00 ± 0.00^{i}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาล มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น
J	0.5	0.1	3.85 ± 0.90^{bcd}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
K	0.5	0.5	3.50 ± 0.76^{def}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

ตารางที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ)

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
	KN	NAA				
L	0.5	1	4.00 ± 0.00^{bcd}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
M	1	0	2.60 ± 0.89^{g}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
N	1	0.1	4.40 ± 0.27^{abc}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
O	1	0.5	3.83 ± 0.69^{bcd}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
P	1	1	3.87 ± 0.00^{bcd}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

ตารางที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ทั้งหมด 20 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ต่อ)

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
	KN	NAA				
Q	2	0	1.00 ± 0.90^{i}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาล มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น
R	2	0.1	4.83 ± 0.76^{a}	0	0	แคลลัสมีขนาดใหญ่ สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
S	2	0.5	2.50 ± 0.00^{gh}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็กปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
T	2	1	3.70 ± 0.89^{cd}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

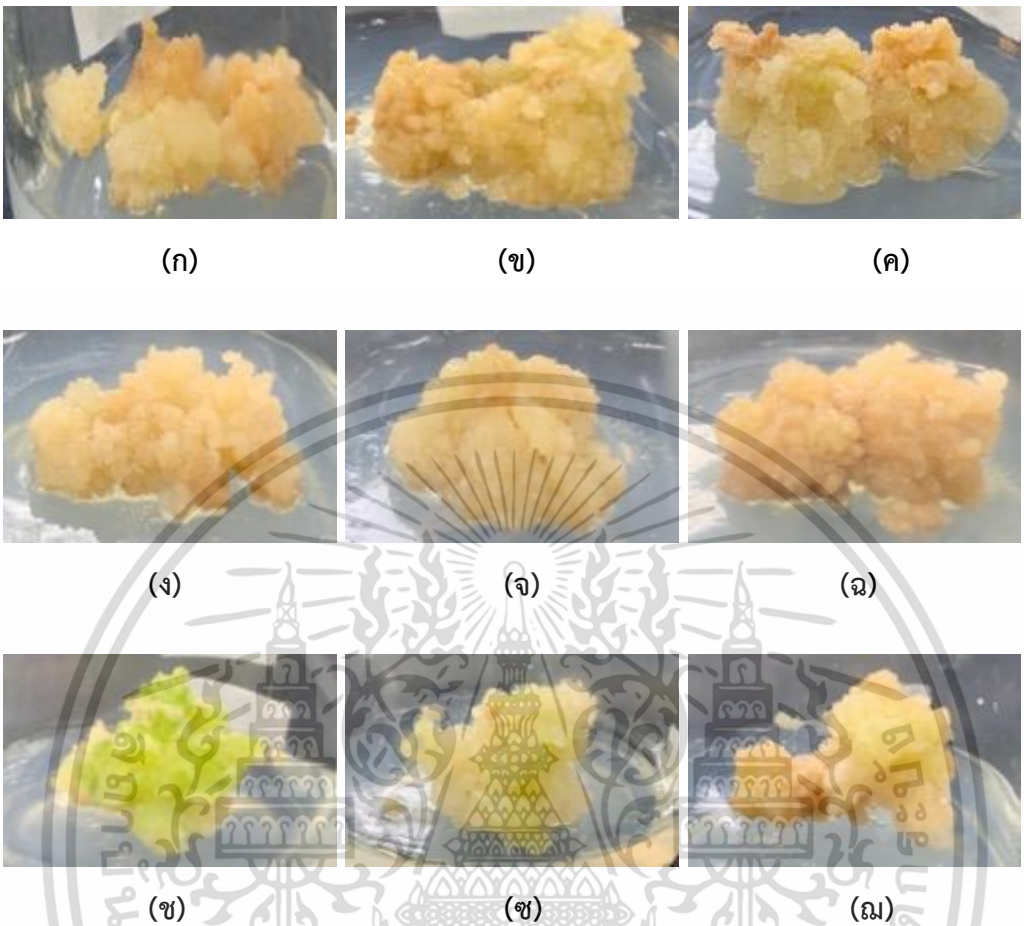
4.3.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ 2,4-D ต่อแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว

จากการนำแคลลัสของกัญชาที่มีสีเขียวที่มาจากการชักนำใบเลี้ยงมาทำการเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ 2,4D 0.5,0.7,1 mg/l (ดังแสดงในตาราง 3.3) ทั้งหมด 9 สูตร เป็นเวลาทั้งหมด 4 สัปดาห์

พบว่าจากทั้ง 9 สูตร ได้ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสที่ใกล้เคียงกัน โดยสูตรที่มีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสมากที่สุดได้แก่ สูตร ค อยู่ที่ 3.18 ± 0.41^{ab} (ดังแสดงในตาราง 4.7) แต่ไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตของแคลลัส เพราะทำให้แคลลัสเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล โดยมี 8 สูตรที่ให้ผลใกล้เคียงกัน คือแคลลัสเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลลักษณะนิ่มเกาะกันอย่างหลวม ๆ (ดังแสดงในรูป 4.12) มีเพียงสูตรเดียวที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสคือ สูตร ช ที่ ให้ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส 3.00 ± 0.50^{ab} (ดังแสดงในตาราง 4.7) เพราะลักษณะแคลลัสที่พบมีขนาดปานกลางสีที่พบเป็นสีเขียว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ ซึ่งอาจมีโอกาสพัฒนาให้เกิดอวัยวะขึ้นได้หากนำไปชักนำด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น และไม่พบการพัฒนาไปอวัยวะ เช่น ยอด ราก (ดังแสดงในรูป 4.12)

จากงานวิจัยของ Ferreira, 2018 ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงแคลลัสของกัญชา เพื่อที่จะทำให้เกิดการสร้างอวัยวะจากแคลลัส ได้ทำการทดลองจนนำไปสู่การสร้างสมมุติฐานว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมที่สุดสำหรับแคลลัสของกัญชาที่จะสามารถพัฒนาให้เกิดยอด คือสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่มีความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ 2,4-D 0.5 mg/l ในอาหาร MS ซึ่งพบว่าผลการทดลองไม่สอดคล้องกับการสมมุติฐานดังกล่าว เพราะไม่พบการเกิดยอดในแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 ลักษณะของแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหารที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ 2,4-D ทั้งหมด 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป ก – ฌ (คืออาหารสูตร ก – ฌ ตามตาราง 3.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหารที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ 2,4-D ทั้งหมด 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
	KN	2,4D				
ก	0.5	0.5	3.58 ± 1.31^{a}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีน้ำตาลแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
ข	0.5	0.7	2.11 ± 0.60^{c}	0	0	แคลลัสมีขนาเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาลแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
ค	0.5	1	3.18 ± 0.41^{ab}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลางสีที่พบเป็นสีน้ำตาลแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
ง	0.7	0.5	2.08 ± 0.49^{c}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาลแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
จ	0.7	0.7	2.42 ± 0.52^{bc}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็ก สีที่พบเป็นสีน้ำตาลแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

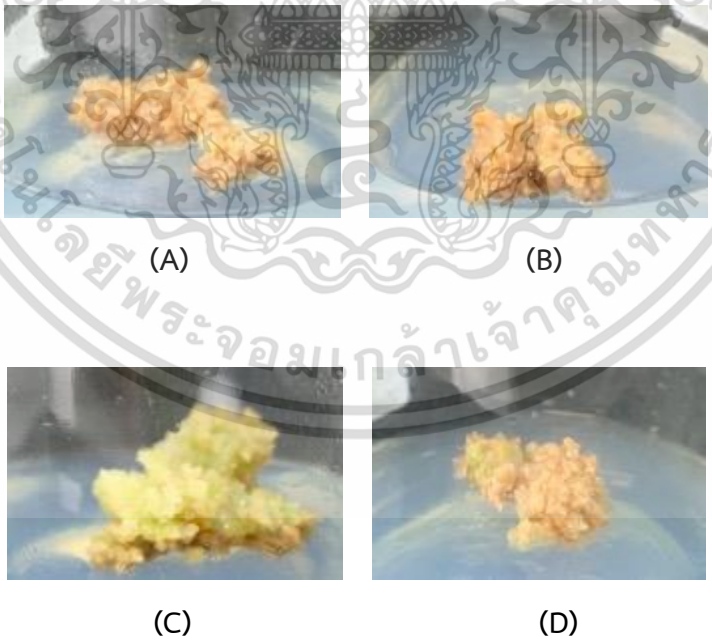
ตารางที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหารที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ 2,4-D ทั้งหมด 9 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (ต่อ)

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)		ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
	KN	2,4D				
ฉ	0.7	1	3.08 ± 1.24^{ab}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีน้ำตาลแทรกด้วยสีขาว มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น
ช	1	0.5	3.00 ± 0.50^{ab}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลางสีที่พบเป็นสีเขียว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
ซ	1	0.7	3.17 ± 0.94^{ab}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่พบเป็นสีเขียว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ
ฌ	1	1	2.83 ± 0.84^{abc}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็กปานกลาง สีที่พบเป็นสีน้ำตาลแทรกด้วยสีเขียว มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น

4.3.3 ผลการศึกษาลักษณะแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ต่อสารควบคุมการเจริญเติบโต BA

จากการนำแคลลัสของกัญชาที่มีสีเขียวที่ชักนำได้จากใบเลี้ยง โดยทำการเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0.1 ,0.2, 0.5 ,1 mg/l (ดังแสดงในตาราง3.4) ทั้งหมด 4 สูตร เป็นเวลาทั้งหมด 4 สัปดาห์ พบว่าจะทั้ง 4 สูตร มีเพียงสูตรเดียวที่สีแคลลัสยังคงเป็นสีเขียวแต่มีแคลลัสสีน้ำตาลแทรกเล็กน้อย คือ สูตร BA 0.5 ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l โดยสูตรนี้มีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสมากที่สุด คือ 2.58 $\pm$ 0.10^{a} (ดังแสดงในตาราง4.8) ส่วนสูตรทีเหลือมีลักษณะแคลลัสที่คล้ายกันคือ มีขนาดเล็ก สีแคลลัสเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น (ดังแสดงในรูป ที่ 4.13) จากการทดลองพบว่าไม่มีสูตรใดที่เหมาะกับการเจริญเติบโตเพราะมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสต่ำและไม่พบการพัฒนาไปอวัยวะเช่น ยอด ราก ในทุกสูตรอาหาร

จากงานวิจัย Movahedi et al., 2015 การศึกษาการเพาะเลี้ยงแคลลัสของกัญชา โดยในการทดลองนี้ชักนำแคลลัสที่เกิดจากส่วนของใบเลี้ยง และลำต้นเหนือใบเลี้ยง ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 mg/l มีการเพิ่มปริมาณของแคลลัสจากชิ้นส่วนใบเลี้ยงได้ดีจากการทดลองนี้จึงนำมาทดลองโดยใช้แคลลัสสีเขียววางบนอาหารที่มี สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.5, 1 mg/l พบว่าแคลลัสมีปริมาณเพิ่มสอดคล้องกับงานวิจัย โดยการชักนำให้เกิดอวัยวะอาจต้องใช้ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น



รูปที่ 4.13 ลักษณะของแคลลัสสีเขียวที่วางบนอาหาร 4 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A – D (คืออาหารสูตร BA 0.1, BA 0.2, BA 0.5, BA 1 ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง3.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

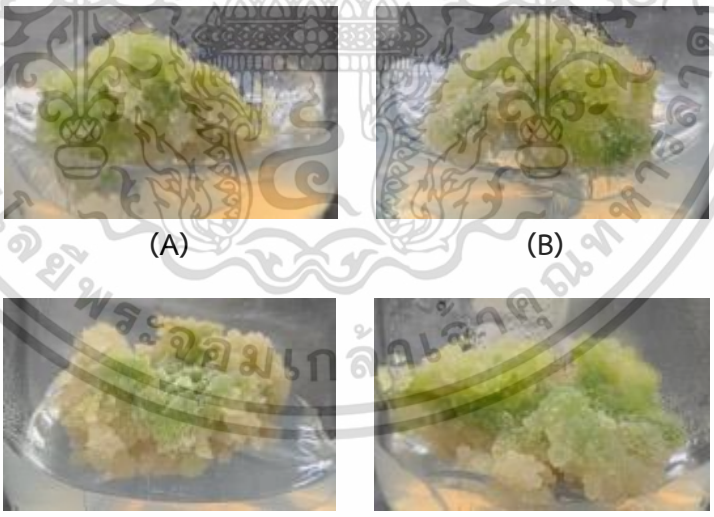
ตารางที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวในอาหารที่เสริมด้วย BA ทั้งหมด 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (mg/l)	ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
BA 0.1	0.1	2.00 ± 0.00^{ab}	0	0	แคลลัสที่พบมีขนาดเล็ก สีที่เกิดขึ้นเป็นสีน้ำตาล มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น
BA 0.2	0.2	1.17 ± 0.39^{c}	0	0	แคลลัสที่พบมีขนาดเล็ก สีที่เกิดขึ้นเป็นสีน้ำตาล มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น
BA 0.5	0.5	2.58 ± 0.10^{a}	0	0	แคลลัสที่พบมีขนาดเล็ก สีที่เกิดขึ้นเป็นสีเขียวแทรกด้วยสีน้ำตาล มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น
BA 1	1	1.75 ± 0.75^{bc}	0	0	แคลลัสที่พบมีขนาดเล็ก สีที่เกิดขึ้นเป็นสีน้ำตาล มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น

4.3.4 ผลการศึกษาลักษณะแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ต่อสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ

จากการนำแคลลัสของกัญชาที่มีสีเขียวที่มาจากการชักนำใบเลี้ยงมาทำการเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ 0.1 ,0.2, 0.5 และ 1 mg/l (ดังแสดงในตาราง3.5) ทั้งหมด 4 สูตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าจากทั้ง 4 สูตร มีลักษณะของแคลลัสที่เหมือนกัน (ดังแสดงในรูป 4.14) คือ สีแคลลัสยังคงเป็นสีเขียวและมีสีขาวแทรก มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น โดยสูตรที่มีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสมากที่สุดได้แก่ สูตรที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/l ได้ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัสอยู่ที่ 4.58 ± 1.52^{a} (ดังแสดงในตาราง4.9) เหมาะกับการเจริญเติบโตของแคลลัส ไม่พบการพัฒนาไปอวัยวะ เช่น รากหรือยอด ในทุกสูตรอาหาร

จากงานวิจัย Movahedi et al., 2015 การศึกษาการเพาะเลี้ยงแคลลัสของกัญชา โดยในการทดลองนี้ ชักนำแคลลัสที่เกิดจากส่วนของใบเลี้ยงโดย ใช้ TDZ ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 mg/l พบว่ามีกระตุ้นให้เกิดแคลลัสมากขึ้น โดยแคลลัสจากใบเลี้ยง มีน้ำหนัก 2.5 g ใน TDZ ความเข้มข้น 1 mg/l จากการทดลองนี้จึงนำมาทดลองโดยใช้แคลลัสสีเขียววางบนอาหารที่มี สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.5 และ 1 mg/l พบว่าแคลลัสมีปริมาณเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับงานวิจัย โดยการชักนำให้เกิดอวัยวะอาจต้องใช้ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น



รูปที่ 4.14 ลักษณะของแคลลัสเขียวที่วางบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ 4 สูตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ รูป A – D (คืออาหารสูตร TDZ 0.1 , TDZ 0.2, TDZ 0.5 และ TDZ 1 ตามลำดับดังแสดงในตาราง3.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสสีเขียวในอาหารที่เสริมด้วย TDZ ทั้งหมด 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตของแคลลัส $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% การเกิดยอด	% การเกิดราก	ลักษณะแคลลัส
TDZ 0.1	0.1	2.82 ± 1.78^{b}	0	0	แคลลัสมีขนาดเล็กปานกลาง สีที่เกิดขึ้นเป็นสีเขียว มีสีขาวแทรก มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น
TDZ 0.2	0.2	3.58 ± 0.90^{ab}	0	0	แคลลัสมีขนาดปานกลาง สีที่เกิดขึ้นเป็นสีเขียว มีสีขาวแทรก มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น
TDZ 0.5	0.5	4.58 ± 1.52^{a}	0	0	แคลลัสมีใหญ่มาก สีที่เกิดขึ้นเป็นสีเขียว มีสีขาวแทรก มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น
TDZ 1	1	4.42 ± 1.17^{a}	0	0	แคลลัสมีใหญ่ สีที่เกิดขึ้นเป็นสีเขียว มีสีขาวแทรก มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ผลการศึกษาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโต

จากการนำเมล็ดของกัญชา นำมาฟอกฆ่าเชื้อจำนวน 20 เมล็ด ใช้สูตรอาหารแข็ง ½ MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยทำการล้างเมล็ดด้วยการเปิดน้ำผ่านเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นล้างด้วยน้ำนึ่งที่ผ่านการฆ่าเชื้อจำนวน 1 ครั้ง จากนั้นนำเมล็ดใส่สารละลายไฮเตอร์ที่ความเข้มข้น 100% ร่วมกับ Tween-20 จำนวน 2 หยด เขย่าเป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อจำนวน 6 ครั้ง เขย่าครั้งละ 5 นาที จากนั้นนำลงสูตรอาหารแข็ง ½ MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ทำการเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ามี%การงอกเท่ากับ 52%

5.1.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนต่าง ๆ ของกัญชา

จากการนำชิ้นส่วนชิ้นส่วนต่าง ๆ กัญชา โดยใช้ ยอด ใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยง และราก มาเพาะเลี้ยงต่อ โดยใช้อาหารแข็ง MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/l ร่วมกับ NAA มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/l จำนวน 10 สูตร ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบการเกิดแคลลัส 100% โดยในชิ้นส่วนของยอด พบการเกิดยอดในทุกสูตร และพบว่าสูตรที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/l เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/l เกิดยอดจำนวน 4 ยอด/ขวด ซึ่งเป็นจำนวนยอดที่พบมากที่สุด แต่ไม่พบการเกิดรากในยอด และพบว่ามีแคลลัสขึ้นที่ฐานของยอด ส่วนของใบเลี้ยง พบการเกิดของแคลลัส 100% ส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง พบการเกิดของแคลลัส 100% และส่วนของราก พบการเกิดของแคลลัส 100% และพบว่ารากที่เลี้ยงในสูตรอาหารแข็ง MS มีการยืดยาวของรากใหม่

5.1.3 ผลการศึกษาลักษณะแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว และสีขาว ต่อสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA

จากการนำแคลลัสของกัญชาทั้งแคลลัสสีขาว และแคลลัสสีเขียว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.5 mg/l เพียงอย่างเดียว จำนวน 4 สูตร ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าการใช้แคลลัสกัญชาสีขาว ไม่มีการเกิดอวัยะต่าง ๆ และจากการใช้แคลลัสของกัญชาสีเขียว พบว่ามี%การเกิดรากขึ้นที่ความเข้มข้น 0.05 mg/l เป็น 20%, ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/l เป็น10% และที่ความเข้มข้น 0.2 mg/l เป็น 60% โดยแคสลัสที่เกิดขึ้นมีสีเขียวแทรกด้วยสีน้ำตาล ลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ NAA ต่อแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว และสีขาว

จากการนำแคลลัสของกัญชาทั้งแคลลัสสีขาว และแคลลัสสีเขียว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 2 และ 3 mg/l ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 2 และ 3 mg/l จำนวน 20 สูตร ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าการใช้แคลลัสสีขาว ไม่มีการเกิดอวัยวะอื่นของกัญชาเกิดขึ้น แคลลัสที่พบมีสีเขียวเกิดขึ้นด้านใน และเกิดสีน้ำตาลรอบ ๆ มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น ๆ และจากการใช้แคลลัสสีเขียว พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/l ร่วมกับ NAA ที่มีความเข้มข้น 0.1 mg/l พบว่ามี%การเกิดราก 40% แคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีเขียวเกิดขึ้นด้านใน และเกิดสีขาวรอบ ๆ มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

5.1.5 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ 2,4D ต่อแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว

จากการนำแคลลัสจากใบเลี้ยงของกัญชา มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ที่มีความเข้มข้น 0.5, 0.7 และ 1 mg/l ร่วมกับ 2,4D ที่ความเข้มข้น 0.5, 0.7 และ 1 mg/l จำนวน 9 สูตร ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าไม่มีการเกิดอวัยวะขึ้น และแคลลัสมีสีน้ำตาลแทรกด้วยสีขาวรอบ ๆ มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

5.1.6 ผลการศึกษาลักษณะแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ต่อสารควบคุมการเจริญเติบโต BA

จากการนำแคลลัสจากใบเลี้ยงของกัญชา มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.5 และ 1 mg/l เพียงอย่างเดียว จำนวน 4 สูตร ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าไม่มีการเกิดอวัยวะอื่นของกัญชาเกิดขึ้น และแคลลัสมีสีน้ำตาล มีลักษณะแข็ง เกาะกันแน่น ๆ

5.1.7 ผลการศึกษาลักษณะแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ต่อสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ

จากการนำแคลลัสจากใบเลี้ยงของกัญชา มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.5 mg/l เพียงอย่างเดียว จำนวน 4 สูตร ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าการใช้แคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว ไม่มีการเกิดอวัยวะอื่นของกัญชาเกิดขึ้น และแคลลัสมีสีเขียว มีลักษณะนิ่ม เกาะกันหลวม ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของระยะเวลาในการทดลอง อาจมีการเพิ่มระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง

5.2.2 ควรมีการศึกษาเรื่องการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตตัวอื่นมาศึกษาเพิ่มเติมในการชักนำอวัยวะจากแคลลัสของพืชกัญชา อาจจะมีการใช้สารควบคุม mT หรือ meta topolin โดยจากวิจัยของ Lata et al., 2016 ได้ทำการชักนำยอดจากข้อของกัญชา 100% โดยเกิดยอดเฉลี่ย 13.4 ยอดต่อชิ้นส่วนยอดและเกิดราก 96% โดยจำนวนรากเฉลี่ย 13.8 เส้น ในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย mT หรือ meta topolin 2 mM เป็นสารควบคุมในกลุ่ม cytokinin นำมาใช้ในการชักนำยอดและรากจากแคลลัส ในการทดลองในอนาคต

5.2.3 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมสำหรับการใช้กัญชาสายพันธุ์อื่นมาทำการเปรียบเทียบการชักนำให้เกิดแคลลัส เพื่อนำแคลลัสที่ได้ มาเปรียบเทียบการชักนำให้เกิดอวัยวะต่อเพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติมในการหาสูตรอาหารที่เหมาะกับการชักนำให้เกิดอวัยวะของพืชกัญชาต่อไป

5.2.4 จากผลการทดลองที่มีการเพิ่มจำนวนของรากจากการลงรากในอาหาร MS โดยไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตใด ๆ ในอนาคตอาจมีการศึกการทำ root culture เพื่อการเพิ่มปริมาณราก เพื่อนำรากมาศึกษาสารที่มีประโยชน์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2564. คู่มือสำหรับเกษตรกร การผลิตพืชสกุลกัญชา (*Cannabis sativa* L.) เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ และอุตสาหกรรม. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก : https://www.doa.go.th/hc/sisaket/wp-content/uploads/2021/.pdf

กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2559. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก : https://esc.doae.go.th/wp-content/uploads/2018/12/การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.pdf

จันทร์วิภา รัตนอานันต์. 2564. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก : http://www3.rdi.ku.ac.th/cl/knowledge/2564/surface_sterilization.pdf

มาซากิ. 2557. สารสำคัญในกัญชามีอะไรบ้าง. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก : https://masakigarden.com/สารสำคัญในกัญชา/

สหภูมิ ศรีสุมะ. 2562. สังคมไทยทางไปของกัญชา. [ออนไลน์].เข้าถึงได้จาก :
https://www.rama.mahidol.ac.th/atrama/sites/default/files/public/pdf/column/AtRama34_c02.pdf

สวนเกษตร32. 2564. ข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก : https://www.kaset32farm.com/?s=ข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เชียงใหม่นิวส์. 2562. ประโยชน์ และโทษของกัญชา. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก : https://www.chiangmainews.co.th/page/archives/1009011

เดลินิวส์ ออนไลน์. 2565. ไขสงสัย ‘กัญชา’ ตัวผู้-เมีย-กะเทย โดดเด่นต่างกันอย่างไร?. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก : https://www.dailynews.co.th/news/1143003/

เมดไทย. 2563. กัญชา สรรพคุณและประโยชน์ของต้นกัญชา 30 ข้อ !. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก :https://medthai.com/%e0%b8%81%e0%b8%b1%e0%b8%8d%e0%b8%8a%e0%b8%b2/ | Medthai.

โกรว์สตัฟ. 2557. 7 เทอร์ปีน (Terpenes) ในกัญชาคืออะไรและช่วยอะไรได้บ้าง ?. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก : https://growstuffshop.com/เทอร์ปีนคืออะไร-what-are-cannabis-terpenes

ไทยเกษตรศาสตร์. 2557. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก : https://www.thaikasetsart.com/สารควบคุมพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Cheng, C., Zang, G., Zhao, L., Gao, C., Tang, Q., Chen, J., Guo, X., Peng, D and Su, J., 2016, A rapid shoot regeneration protocol from the cotyledons of hemp (*Cannabis sativa* L.), Ind. Crops. Prod. Volume 83, Pages 61-65,ISSN 0926-6690,https://doi.org/10.1016/j. 12.035.

Danziger, N. and Bernstein, N. 2021. Plant architecture manipulation increases cannabinoid standardization in “drug-type” medical cannabis. Ind. Crops. Prod. 167, p. 113528. doi:10.1016/j.indcrop.2021.113528.

Ferreira, I. 2018. Studies on the development of callus cultures of *Cannabis sativa* L. r egarding plant regeneration. Instituto Superior Técnico, Lisboa, Portugal.

Galán-Ávila, A., García-Fortea, E., Prohens, J. and Herraiz, F.J. 2020. Development of a Direct in vitro Plant Regeneration Protocol From Cannabis sativa L. Seedling Explants: Developmental Morphology of Shoot Regeneration and Ploidy Level of Regenerated Plants. Front. Plant Sci. 11:645.

Hemant, L., Suman, C., Natascha, T., Ikhlas, A. K., and Mahmoud, A. E. 2016. *In vitro* mass propagation of *Cannabis sativa* L.: A protocol refinement using novelaromatic cytokinin meta-topolin and the assessment of eco-physiological, biochemical and genetic fidelity of micropropagated plants.J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants, http://dx.doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.12.001

Keenan, E. (2022) Key insights from the Global Cannabis Report, Prohibition Partners. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://prohibitionpartners.com/2019/11/07/key-insights-from-the-global-cannabis-report/

Loh, W. H.-T., Hartsel, S. C., and Robertson, L. W. 1983. Tissue Culture of *Cannabis sativa L. and in vitro Biotransformation of Phenolics. Z. Pflanzenphysiol. 111(5), 395–400.* doi:10.1016/s0044-328x(83)80003-8

Movahedi, M., Ghasemi-Omran, V., Torabi, S. 2015. The effect of different concentrations of TDZ and BA on in vitro regeneration of Iranian cannabis (*Cannabis sativa*) using cotyledon and epicotyl explants, J. Plant Mol. Breed., 3(2), pp. 20-27. doi: 10.22058/jpmb.2015.15371

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures, Physiologia Plantarum, 15(3), pp. 473–497. doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

Pannaporn Saepae. 2565. รอบรู้เรื่องกัญชา รู้จักกัญชาพันธุ์ไทย และการใช้กัญชาทางการแพทย์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://science.mahidol.ac.th/simple-science/2022/04/21/know-about-thai-cannabis/

Poonam., Aaditya., Akshay, K., and Vimlendu, B., 2018. In Vitro Germination and Tissue Culture Protocol Establishment for *Cannabis sativa* L. Department of Biotechnology, School of Engineering and Technology, Sharda University. 5(2):1-7

Raharjo, T. J., Eucharia, O., Chang, W.-T., and Verpoorte, R. 2010. Callus induction and phytochemical characterization of *cannabis sativa* cell suspension cultures. Indones. J. Chem. 6(1), 70–74.

RS Mall. 2564.กัญชง กับประโยชน์และสรรพคุณ ที่คุณอาจจะยังไม่รู้. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก : https://www.rsmall.com/blog/health_benefits_of_hemp

Slusarkiewicz-Jarzina, A., Ponitka, A., and Kaczmarek, Z. 2005. Influence of cultivar, explant source and plant growth regulator on callus induction and plant regeneration of *Cannabis sativa* L.. Acta Biol. Crac. 47.

Wang, R., He, L.S., Xia, B., Tong, J.F., Li, N. and Peng, F. 2009.A micropropagation system for cloning of hemp (*Cannabis sativa* L.) by shoot tip culture. Pak. J. Bot.41: 603-8.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 ตารางแสดงสูตรอาหารสังเคราะห์ MS (Murashige and Skoog, 1962)

สารเคมี	ปริมาณสารที่ใช้ (มก./ล.)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
H_3BO_3	6.2
Kl	0.83
$Na_2MoO_4.7H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
Na_2-EDTA	37.25
Nicotinic acid	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Pyridoxine-HCl	0.5
Glycine	0.2
Myo-inositol	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ใบอนุญาตขายเมล็ดพันธุ์ควบคุม ร้าน เอพริลแฟรี่

พ.พ.4

ใบอนุญาตขายเมล็ดพันธุ์ควบคุม

ใบอนุญาตเลขที่ 1013163500262565 กรมวิชาการเกษตร

ใบอนุญาตฉบับนี้ออกให้แก่

เอพริลแฟรี่

สถานที่ทำการเลขที่ 78

หมู่ที่ - ตรอก/ซอย ถนน เทศบาล23

ตำบล/แขวง กาฬสินธุ์ อำเภอ/เขต เมืองกาฬสินธุ์ จังหวัด กาฬสินธุ์

โดยมี นางสาวปวีณา ลิ้มไพรสกุลชัย เป็นผู้ดำเนินกิจการ

เพื่อแสดงว่าเป็นผู้ได้รับอนุญาตให้ขายเมล็ดพันธุ์ควบคุม ตามมาตรา 14 แห่งพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518

แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติพันธุ์พืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535

สถานที่เก็บเลขที่ 78

หมู่ที่ - ตรอก/ซอย ถนน เทศบาล23

ตำบล/แขวง กาฬสินธุ์ อำเภอ/เขต เมืองกาฬสินธุ์ จังหวัด กาฬสินธุ์

ใบอนุญาตฉบับนี้ออกให้เมื่อวันที่ 1 เดือน มกราคม พ.ศ. 2566 ให้ใช้ได้

จนถึงวันที่ 31 ธันวาคม พ.ศ. 2566 และให้ใช้ได้เฉพาะสถานที่ซึ่งระบุไว้ในใบอนุญาตเท่านั้น

(ลายมือชื่อ) พนักงานเจ้าหน้าที่ผู้ออกใบอนุญาต

ผู้อำนวยการกองวิจัยและพัฒนาการอารักขา ปฏิบัติราชการแทน อธิบดีกรมวิชาการเกษตร

แสดงในที่เปิดเผย

ชำระเงินต่ออายุใบอนุญาต ภายหลังใบอนุญาตสิ้นอายุ ต้องชำระเงินเพิ่มอีก 100 บาท

KAL-5-1887

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมอาหารสำหรับฟอกเมล็ดโดยย้ายลงสูตรอาหาร ½ MS

ขั้นที่ 1 ทำการเตรียมอาหาร 250 ml/1 สูตร โดยทำการคำนวณปริมาตรอาหาร MS Sugar และ Agar

สูตรคำที่ 1 คำนวณ ½ MS

- ต้องการ MS ในปริมาตร 250 ml

  ในMS 1 L (1000ml) ใช้ 4.43

  $\frac{1}{2}$ MS= 2.215 g/L

  MS 250 ml ใช้ $\frac{(250\text{ml})(2.215g)}{1000ml}$ = 0.55375 g

คำนวณSugar

- ต้องการ Sugar ในปริมาตร 250 ml

  ใน Sugar 1 L (1000ml) ใช้ 15 g

  Sugar 250 ml ใช้ $\frac{(250ml)(15g)}{1000ml}$= 3.75g

คำนวณAgar

- ต้องการAgar ในปริมาตร 250 ml

  ในAgar 1 L (1000ml) ใช้ 8 g

  Agar 250 ml ใช้ $\frac{(250\ ml)(8g)}{1000ml}$= 2 g

ขั้นที่ 2 นำ MS 0.55375 g มาละลายกับ Sugar 3.75 g จากนั้นใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ลงไป จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้เป็น 250 ml และนำไปปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5.6-5.8 จากนั้นนำไปใส่ Agar 2 g และนำไปละลายต่อในไมโครเวฟจน Agar ละลายใส และใส่บรรจุลงในขวดเพื่อนำไปฆ่าเชื้อเป็นอันเสร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การเตรียมอาหารเพื่อการชักนำให้เกิดแคลลัสหรืออวัยวะจากชิ้นส่วนของใบเลี้ยง ลำต้นใต้ใบเลี้ยง และราก ของกัญชา

ตารางที่ ค.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว

สูตรอาหาร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	TDZ	NAA
A	0.1	0.1
B	0.1	0.2
C	0.1	0.4
D	0.2	0.1
E	0.2	0.2
F	0.2	0.4
G	0.4	0.1
H	0.4	0.2
I	0.4	0.4

ใส่ปริมาณที่ต้องการเตรียม กับ คำนวณ MS น้ำตาล วุ้น ฮอร์โมนแต่ละสูตร A B C

ขั้นที่ 1 ทำการคำนวณสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ กับ NAA ดังนี้

คำนวณฮอร์โมน TDZ

- ต้องการเตรียม 0.1 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.1\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.025 ml

  เปลี่ยนเป็น μl = 0.025 x 1000 = 25 μl

- ต้องการเตรียม 0.2 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.2\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.5 ml เปลี่ยนเป็น μl = 0.5 x 1000 = 50 μl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ต้องการเตรียม 0.4 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.4\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.1 ml

  เปลี่ยนเป็น µl = 0.1 x 1000 = 100 µl

คำนวณMS

- ต้องการ MS ในปริมาตร 250 ml

  ในMS 1 L (1000ml) ใช้ 4.43 g

  MS 250 ml ใช้ $\frac{(250\text{ml})(4.43g)}{1000ml}$ = 1.1075 g

คำนวณSugar

- ต้องการน้ำตาล ในปริมาตร 250 ml

  ในน้ำตาล 1 L (1000ml) ใช้ 30 g

  น้ำตาล 250 ml ใช้ $\frac{(250ml)(30g)}{1000ml}$= 7.5 g

คำนวณAgar

- ต้องการAgar ในปริมาตร 250 ml

  ในAgar 1 L (1000ml) ใช้ 8 g

  Agar250 ml ใช้ $\frac{(250\ ml)(8g)}{1000ml}$= 2 g

คำนวณฮอร์โมน NAA

- ต้องการเตรียม 0.1 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.1\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.025 ml

  เปลี่ยนเป็น µl = 0.025 x 1000 = 25 µl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ต้องการเตรียม 0.2 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.2\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.05 ml

  เปลี่ยนเป็น μl = 0.05 x 1000 = 50 μl

- ต้องการเตรียม 0.4 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.4\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.1 ml

  เปลี่ยนเป็น μl = 0.1 x 1000 = 100 μl

ขั้นที่ 2 ทำการเตรียมอาหาร 250 ml/1 สูตร โดยทำการคำนวณปริมาตรอาหาร MS Sugar และ Agar

คำนวณ MS

- ต้องการ MS ในปริมาตร 250 ml

  ในMS 1 L (1000ml) ใช้ 4.43 g

  MS 250 ml ใช้ $\frac{(250\text{ml})(4.43g)}{1000ml}$ = 1.1075 g

คำนวณ Sugar

- ต้องการSugar ในปริมาตร 250 ml

  ใน Sugar 1 L (1000ml) ใช้ 30 g

  น้ำตาล 250 ml ใช้ $\frac{(250ml)(30g)}{1000ml}$= 7.5 g

คำนวณ Agar

- ต้องการAgar ในปริมาตร 250 ml

  ในAgar 1 L (1000ml) ใช้ 8 g

  Agar250 ml ใช้ $\frac{(250\ ml)(8g)}{1000ml}$= 2 g

ขั้นที่ 3 นำ MS 1.1075 g มาละลายกับ Sugar 7.5 g จากนั้นใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ NAA ลงไปจากนั้นทำการปรับปริมาตรให้เป็น 250 ml และนำไปปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5.6-5.8 จากนั้นนำไปใส่ Agar 2 g และนำไปละลายต่อในไมโครเวฟจน Agar ละลายใส และใส่บรรจุลงในขวดเพื่อนำไปฆ่าเชื้อเป็นอันเสร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การเตรียมอาหารเพื่อเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชา

ตารางที่ จ.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN, NAA และ KN ร่วมกับ NAA ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว

สูตรอาหาร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	KN	NAA
A	0	0.05
B	0	0.1
C	0	0.2
D	0	0.5
E	0.1	0
F	0.1	0.1
G	0.1	0.5
H	0.1	1
I	0.5	0
J	0.5	0.1
K	0.5	0.5
L	0.5	1
M	1	0
N	1	0.1
O	1	0.5
P	1	1
Q	2	0
R	2	0.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมอาหารเลี้ยงแคลลัสโดยย้ายลงสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA เพียงอย่างเดียว

ขั้นที่ 1 ทำการคำนวณสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ดังนี้

คำนวณ NAA

- ต้องการเตรียม 0.05 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

$C_1V_1=C_2V_2$

$$V1 = \frac{\left(0.05\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$$

V1 = 0.0125 ml

เปลี่ยนเป็น μl = 0.0125 x 1000 = 12.5 μl

- ต้องการเตรียม 0.1 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

$C_1V_1=C_2V_2$

$$V1 = \frac{\left(0.1\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$$

V1 = 0.025 ml

เปลี่ยนเป็น μl = 0.025 x 1000 = 25 μl

- ต้องการเตรียม 0.2 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

$C_1V_1=C_2V_2$

$$V1 = \frac{\left(0.2\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$$

V1 = 0.05 ml

เปลี่ยนเป็น μl = 0.05 x 1000 = 50 μl

- ต้องการเตรียม 0.5 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

$C_1V_1=C_2V_2$

$$V1 = \frac{\left(0.5\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$$

V1 = 0.125 ml

เปลี่ยนเป็น μl = 0.125 x 1000 = 125 μl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นที่ 2 ทำการเตรียมอาหาร 250 ml/1 สูตร โดยทำการคำนวณปริมาตรอาหาร MS Sugar และ Agar

คำนวณMS

- ต้องการ MS ในปริมาตร 250 ml

  ในMS 1 L (1000ml) ใช้ 4.43 g

  MS 250 ml ใช้ $\frac{(250\text{ml})(4.43g)}{1000ml}$ = 1.1075 g

คำนวณSugar

- ต้องการSugar ในปริมาตร 250 ml

  ในSugar 1 L (1000ml) ใช้ 30 g

  Sugar 250 ml ใช้ $\frac{(250ml)(30g)}{1000ml}$= 7.5 g

คำนวณAgar

- ต้องการAgar ในปริมาตร 250 ml

  ในAgar 1 L (1000ml) ใช้ 8 g

  Agar 250 ml ใช้ $\frac{(250\ ml)(8g)}{1000ml}$= 2 g

ขั้นที่ 3 นำ MS 1.1075 g มาละลายกับ Sugar 7.5 g จากนั้นใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ลงไปจากนั้นทำการปรับปริมาตรให้เป็น 250 ml และนำไปปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5.6-5.8 จากนั้นนำไปใส่ Agar 2 g และนำไปละลายต่อในไมโครเวฟจน Agar ละลายใส และใส่บรรจุลงในขวดเพื่อนำไปฆ่าเชื้อเป็นอันเสร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

ตารางที่ ฉ.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต KN ร่วมกับ 2,4D ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว

สูตรอาหาร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	KN	2,4D
A	0.5	0.5
B	0.5	0.7
C	0.5	1
D	0.7	0.5
E	0.7	0.7
F	0.7	1
G	1	0.5
H	1	0.7
I	1	1

ใส่ปริมาณที่ต้องการเตรียม กับ คำนวณ MS น้ำตาล วุ้น ฮอร์โมนแต่ละสูตร A B C

ขั้นที่ 1 ทำการคำนวณสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ดังนี้

คำนวณสูตร KN

- ต้องการเตรียม 0.5 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 500 mg/L

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.5\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{\mathbf{500\ mg/L}}$

  V1 = 0.25 ml

  เปลี่ยนเป็น µl = 0.25 x 1000 = 250 µl

- ต้องการเตรียม 0.7 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 500 mg/L

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.7\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{\mathbf{500\ mg/L}}$

  V1 = 0.35 ml

  เปลี่ยนเป็น µl = 0.35 x 1000 = 350 µl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ต้องการเตรียม 1 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 500 mg/L

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(1\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{500\ mg/L}$

  V1 = 0.5 ml

  เปลี่ยนเป็น µl = 0.5x 1000 = 500 µl

คำนวณสูตร 2,4D

- ต้องการเตรียม 0.5 mg/L ปริมาณ 250 ml ในความเข้มข้น 132 mg/L

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.5\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{132\ mg/l}$

  V1 = 0.946 ml

  เปลี่ยนเป็น µl = 0.946 x 1000 = 946 µl

- ต้องการเตรียม 0.7 mg/L ปริมาณ 250 ml ในความเข้มข้น 132 mg/L

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.7\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{132\ mg/l}$

  V1 = 1.325 ml

  เปลี่ยนเป็น µl = 1.325 x 1000 = 1325 µl

- ต้องการเตรียม 1 mg/L ปริมาณ 250 ml ในความเข้มข้น 132 mg/L

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(1\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{132\ mg/l}$

  V1 = 1.893 ml

  เปลี่ยนเป็น µl = 1.893 x 1000 = 1893 µl

ขั้นที่ 2 ทำการเตรียมอาหาร 250 ml/1 สูตร โดยทำการคำนวณปริมาตรอาหาร MS Sugar และ Agar

คำนวณ MS

- ต้องการ MS ในปริมาตร 250 ml

  ในMS 1 L (1000ml) ใช้ 4.43 g

  MS 250 ml ใช้ $\frac{(250ml)(4.43g)}{1000ml}$ = 1.1075 g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณ Sugar

- ต้องการSugar ในปริมาตร 250 ml

  ใน Sugar 1 L (1000ml) ใช้ 30 g

  น้ำตาล 250 ml ใช้ $\frac{(250ml)(30g)}{1000ml}$= 7.5 g

คำนวณ Agar

- ต้องการAgar ในปริมาตร 250 ml

  ในAgar 1 L (1000ml) ใช้ 8 g

  Agar250 ml ใช้ $\frac{(250\ ml)(8g)}{1000ml}$= 2 g

ขั้นที่ 3 นำ MS 1.1075 g มาละลายกับ Sugar 7.5 g จากนั้นใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต KN และ 2,4D ลงไปจากนั้นทำการปรับปริมาตรให้เป็น 250 ml และนำไปปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5.6-5.8 จากนั้นนำไปใส่ Agar 2 g และนำไปละลายต่อในไมโครเวฟจน Agar ละลายใส และใส่บรรจุลงในขวดเพื่อนำไปฆ่าเชื้อเป็นอันเสร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

ตารางที่ ช.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว

สูตรอาหาร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
	BA
A	0.1
B	0.2
C	0.5
D	1

ใส่ปริมาณที่ต้องการเตรียม กับ คำนวณ MS น้ำตาล วุ้น ฮอร์โมนแต่ละสูตร A B C

ขั้นที่ 1 ทำการคำนวณสารควบคุมการเจริญเติบโต BA

คำนวณฮอร์โมน BA

- ต้องการเตรียม 0.1 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.1\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.025 ml

  เปลี่ยนเป็น μl = 0.025 x 1000 = 25 μl

- ต้องการเตรียม 0.2 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.2\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.5 ml

  เปลี่ยนเป็น μl = 0.5 x 1000 = 50 μl

- ต้องการเตรียม 0.5 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.5\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.125 ml

  เปลี่ยนเป็น μl = 0.125 x 1000 = 125 μl

- ต้องการเตรียม 1 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$C_1V_1=C_2V_2$

$V1 = \frac{\left(1\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

V1 = 0.250 ml

เปลี่ยนเป็น µl = 0.250 x 1000 = 250 µl

ขั้นที่ 2 ทำการเตรียมอาหาร 250 ml/1 สูตร โดยทำการคำนวณปริมาตรอาหาร MS Sugar และ Agar

คำนวณ MS

- ต้องการ MS ในปริมาตร 250 ml

  ในMS 1 L (1000ml) ใช้ 4.43 g

  MS 250 ml ใช้ $\frac{(250ml)(4.43g)}{1000ml}$ = 1.1075 g

คำนวณ Sugar

- ต้องการSugar ในปริมาตร 250 ml

  ใน Sugar 1 L (1000ml) ใช้ 30 g

  น้ำตาล 250 ml ใช้ $\frac{(250ml)(30g)}{1000ml}$= 7.5 g

คำนวณ Agar

- ต้องการAgar ในปริมาตร 250 ml

  ในAgar 1 L (1000ml) ใช้ 8 g

  Agar250 ml ใช้ $\frac{(250\ ml)(8g)}{1000ml}$= 2 g

ขั้นที่ 3 นำ MS 1.1075 g มาละลายกับ Sugar 7.5 g จากนั้นใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ลงไปจากนั้น ทำการปรับปริมาตรให้เป็น 250 ml และนำไปปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5.6-5.8 จากนั้นนำไปใส่ Agar 2 g และนำไปละลายต่อในไมโครเวฟจน Agar ละลายใส และใส่บรรจุลงในขวดเพื่อนำไปฆ่าเชื้อเป็นอันเสร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ

ตารางที่ ซ.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดอวัยวะของแคลลัสกัญชาที่มีสีเขียว

สูตรอาหาร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
	TDZ
A	0.1
B	0.2
C	0.5
D	1

ใส่ปริมาณที่ต้องการเตรียม กับ คำนวณ MS น้ำตาล วุ้น ฮอร์โมนแต่ละสูตร A B C

ขั้นที่ 1 ทำการคำนวณสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ

คำนวณฮอร์โมน TDZ

- ต้องการเตรียม 0.1 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.1\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.025 ml

  เปลี่ยนเป็น µl = 0.025 x 1000 = 25 µl

- ต้องการเตรียม 0.2 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.2\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.5 ml

  เปลี่ยนเป็น µl = 0.5 x 1000 = 50 µl

- ต้องการเตรียม 0.5 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

  $C_1V_1=C_2V_2$

  $V1 = \frac{\left(0.5\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

  V1 = 0.125 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนเป็น µl = 0.125 x 1000 = 125 µl

- ต้องการเตรียม 1 mg/L ปริมาตร 250 ml ในความเข้มข้น 1 mg/ml (1000 mg/L)

$C_1V_1=C_2V_2$

$V1 = \frac{\left(1\frac{mg}{L}\right)(250ml)}{1000\ ml}$

V1 = 0.250 ml

เปลี่ยนเป็น µl = 0.250 x 1000 = 250 µl

ขั้นที่ 2 ทำการเตรียมอาหาร 250 ml/1 สูตร โดยทำการคำนวณปริมาตรอาหาร MS Sugar และ Agar

คำนวณ MS

- ต้องการ MS ในปริมาตร 250 ml

ในMS 1 L (1000ml) ใช้ 4.43 g

MS 250 ml ใช้ $\frac{(250\text{ml})(4.43g)}{1000ml}$ = 1.1075 g

คำนวณ Sugar

- ต้องการSugar ในปริมาตร 250 ml

ใน Sugar 1 L (1000ml) ใช้ 30 g

น้ำตาล 250 ml ใช้ $\frac{(250ml)(30g)}{1000ml}$= 7.5 g

คำนวณ Agar

- ต้องการAgar ในปริมาตร 250 ml

ในAgar 1 L (1000ml) ใช้ 8 g

Agar250 ml ใช้ $\frac{(250\ ml)(8g)}{1000ml}$= 2 g

ขั้นที่ 3 นำ MS 1.1075 g มาละลายกับ Sugar 7.5 g จากนั้นใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ลงไปจากนั้นทำการปรับปริมาตรให้เป็น 250 ml และนำไปปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5.6-5.8 จากนั้นนำไปใส่ Agar 2 g และนำไปละลายต่อในไมโครเวฟจน Agar ละลายใส และใส่บรรจุลงในขวดเพื่อนำไปฆ่าเชื้อเป็นอันเสร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 7 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นางสาวอภิชญา ลักษณิยานนท์ รหัสประจำตัว 62050556

นางสาวอภิรตา เสลานนท์ รหัสประจำตัว 62050557

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชาสายพันธุ์หางกระรอกภูพานเอสที 1

ชื่อภาษาอังกฤษ *In vitro* culture of *Cannabis sativa* L . Hang Kra Rog Phu Phan ST 1

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 0.88 %

ลงชื่อ.....

(นางสาวอภิชญา ลักษณิยานนท์)

นักศึกษา

ลงชื่อ.....

(นางสาวอภิรตา เสลานนท์)

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....

(ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้