ผลของอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962) ดัดแปลงร่วมกับปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชา
Effect of Murashige and Skoog (1962) Medium in Combination with Hydroponics Fertilizer RSU S1 for Cannabis Tissue Culture

ธนัชยา เกณฑ์ขุนทด อริศรา เหง้าชัยภูมิ ประณต มณีอินทร์
กษิดิ์เดช อ่อนศรี * และ เกศินี ศรีปฐมกุล
Tanatya Kenkhunthod, Arisara Ngawchaiyapoom, Pranot Maniin,
Kasideth Onsri * and Kesinee Sripathomkul

คณะนวัตกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยรังสิต
Faculty of Agricultural Innovation, Rangsit University
*Corresponding author e-mail: kasideth.o@gmail.com
(Received: 8 June 2023; Revised: 31 October 2023; Accepted: 27 November 2023)

บทคัดย่อ

การดัดแปลงอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962) ร่วมกับปุ๋ยไฮโดร-โปนิกส์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชา (*Cannabis sativa* L.subsp. *indica*) โดยการนำชิ้นส่วนข้อของกัญชามาเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นที่เตรียมจากอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกัน 4 ระดับได้แก่ ½ MS + hydroponics RSU S1 200 ppm, ½ MS + hydroponics RSU S1 300 ppm, MS + hydroponics RSU S1 200 ppm, MS + hydroponics RSU S1 300 ppm เปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าอาหารสูตร MS + hydroponics RSU S1 300 ppm และสูตร MS + hydroponics RSU S1 200 ppm เป็นสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกัญชามีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 30.875 และ 30.664 ใบ และมีค่าความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 3.382 และ 3.229 เซนติเมตร ซึ่งอาหารสูตร MS + hydroponics RSU S1 300 ppm สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกัญชามีความสูงยอด น้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นมีค่ามากกว่าทุกชุดการทดลอง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.443 เซนติเมตร 0.896 กรัม และ 0.113 กรัมตามลำดับ สำหรับอาหารสูตร ½ MS + hydroponics RSU S1 300 ppm สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 6.739 ยอด ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และเปอร์เซ็นต์การรอด พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ: กัญชา; การเจริญเติบโต; อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962); ปุ๋ยไฮโดรโป นิกส์

Abstract

The effects of modifying Murashige and Skoog's (MS) medium with hydroponics fertilizer on cannabis (*Cannabis sativa* L.subsp. *indica*) tissue culture using nodal segments were investigated. MS media was supplement with four different nutrient levels hydroponics fertilizer including ½ MS + hydroponics RSU S1 200 ppm, ½ MS + hydroponics RSU S1 300 ppm, MS + hydroponics RSU S1 200 ppm, and MS + hydroponics RSU S1 300 ppm, in comparison with MS as the control treatment. Explants were cultured on each treatments for eight weeks under fluorescent illumination 16 hours photoperiod per day at 25±2 °C. The result revealed that MS + hydroponics RSU S1 300 ppm and MS + hydroponics RSU S1 200 ppm triggered the greatest increase in leaves (30.875 and 30.664 leaves) and canopy width (3.382 and 3.229 cm). MS medium with hydroponics RSU S1 300 ppm produced the best shoot length (2.443 cm) , fresh weight (0.896 g), and dry weight (0.113 g). The most shoot were detected in ½ MS + hydroponics RSU S1 300 ppm (6.739 shoots), however the percentage of root formation and survival rate were not statistically significant.

Keywords: Cannabis; Growth; Murashige and Skoog (1962); Hydroponics nutrient solution

บทนำ

กัญชาเป็นพืชล้มลุก (*Cannabis sativa* L. subsp. *Indica)* ลักษณะทั่วไป คือ มีลำต้นสูงประมาณ 1-5 เมตร ลักษณะใบจะแยกออกเป็นแฉกประมาณ 5-7 แฉก ขอบใบเป็นรอยหยัก ออกดอกบริเวณงาม หรือข้อกิ่ง และก้าน ส่วนของดอก ใบ กิ่ง ก้าน สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในรูปแบบดอกผลผลิตแบบสด และแบบแห้ง กัญชาจัดเป็นพืชทางเลือก ที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์มากมาย เพื่อใช้บรรเทาอาการเจ็บปวด ลดอาการอักเสบ ลดอาการเกร็งชักกระตุกของกล้ามเนื้อ ยับยั้งการกระจายตัวของเซลล์มะเร็ง ลดอาการลมชัก ช่วยให้หลับง่าย เนื่องจากมีองค์ประกอบที่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท ซึ่งผลประโยชน์ทางการแพทย์ดังกล่าว ได้ผลักดันให้กัญชาได้กลายเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่หลายประเทศให้ความสนใจ ทำให้ประเทศไทยมีการปรับปรุงนโยบายกัญชาเพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ และวิจัยได้ (รวิสสาข์ สุชาโต และคณะ, 2564) ซึ่งการที่จะใช้ประโยชน์จากกัญชาจึงจำเป็นที่จะต้องมีการขยายพันธุ์ที่ดีเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ โดยกัญชาสามารถขยายพันธุ์ได้หลายวิธี เช่น การเพาะเมล็ด การปักชำ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่เนื่องจากการปลูกด้วยเมล็ดมีโอกาสที่จะกลายพันธุ์ได้ และหากปลูกด้วยเมล็ดประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของพืชจะเป็นต้นเพศผู้อีก 50 เปอร์เซ็นต์จะเป็นต้นเพศเมีย (Chandra *et al*., 2020) ส่วนการปักชำเองก็ถูกจำกัดโดยจำนวนของต้นพันธุ์ อีกทั้งยังต้องใช้ระยะเวลานาน และมีโอกาสที่พืชจะติดเชื้อในเนื้อเยื่ออีกด้วย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในการขยายพันธุ์กัญชาเพื่อให้ได้ต้นกัญชาที่มีลักษณะเหมือนต้นแม่ ขยายพันธุ์ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น ได้ต้นพันธุ์ที่แข็งแรงปราศจากโรค และเพื่อรักษาปริมาณสารของสาร

แคนนาบินอยด์ (Cannabinoid) (Yildiz, 2012) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นความก้าวหน้าในด้านเกษตรเกี่ยวกับพืช ที่มีการพัฒนาเทคนิคในการขยายพันธุ์แบบใหม่ ที่ทำให้ได้พืชต้นใหม่จำนวนมาก และใช้เวลาได้อย่างรวดเร็วในเวลาจำกัด โดยมีคุณภาพของต้นพืชที่ดีและเหมือนเดิม (สุมนทิพย์ บุนนาค, 2556) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการนำเอาส่วนของพืช ที่เป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ หรือเซลล์ไม่มีผนังมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ อยู่ในสภาพควบคุมอุณหภูมิ แสง และความชื้น เพื่อให้เซลล์พืชที่นำมาเพาะเลี้ยงนั้น ปราศจากเชื้อที่มาทำลายการเจริญเติบโตของพืช (บุญยืน กิจวิจารณ์, 2544) มีการศึกษาการขยายพันธุ์บอนสีด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของขวัญเดือน รัตนา และคณะ (2565) ด้วยชิ้นส่วนใบอ่อนเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA (6-Benzylaminopurine) ร่วมกับ NAA (α-Naphthaleneacetic Acid) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีจำนวนต้นสูงสุด 9.9 ต้น และอาหารสูตร MS มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 44.1 ใบ จากนั้นย้ายต้นอ่อนและแคลลัสมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 เดือน จึงย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA Kinetin และน้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้แคลลัสเจริญเป็นต้นสูงสุด 4.4 ต้น และจำนวนใบสูงสุด 9.8 ใบ และจากการย้ายต้นอ่อนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3.0 หรือ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สามารถชักนำให้มีจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุด 2.7 ต้น และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 16 ใบ จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS มีอัตราการเกิดรากสูงสุด 87.5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากสูงสุด 17.8 ราก จากนั้นย้ายต้นอ่อนบอนสีออกปลูกในสภาพธรรมชาติเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า บอนสีมีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์ ปัจจุบันการเพาะปลูกกัญชาส่วนใหญ่ใช้วิธีการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื้อนิยมใช้กับพืชที่มีปัญหาในเรื่องของการขยายพันธุ์ หรือพืชที่มีปัญหาเรื่องโรค จึงส่งผลทำให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกลายมาเป็นกระบวนการที่สำคัญในอุตสาหกรรมการขยายพันธุ์พืช ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหลายปัจจัย ได้แก่ ชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาหารสังเคราะห์ และสภาพแวดล้อม (Yildiz, 2012) นอกจากนี้จากการรายงานของจตุพร หงส์ทองคำ และคณะ (2565) ได้ทำการขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงขาวในสภาพปลอดเชื้อโดยนำชิ้นส่วนตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 10 และ 15 นาที พบว่า ความเข้มข้นของ NaOCl และระยะเวลาที่เหมาะสม คือ NaOCl ความเข้มข้น 1.24% เป็นเวลานาน 10 นาที มีอัตราการรอดสูงสุด 92% จากนั้นนำชิ้นส่วนตาข้างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดยอดเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้ตาข้างเกิดยอดได้มากที่สุด 3.28 ยอดต่อชิ้น

ปัจจุบันสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน หรือปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์หาซื้อได้ง่ายทั่วไปตามท้องตลาด อีกทั้งยังประกอบไปด้วยธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช จากการรายงานของกิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์ (2561) ได้ศึกษาผลของอาหารอย่างง่ายจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่สอง และข้อที่สามของลานไพลินเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

พืชที่เตรียมจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน สูตรสำหรับผักนำไปเพาะเลี้ยงในสภาพให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศา-เซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าทุกชุดการทดลองสามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 1.69 ถึง 1.92 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ แต่ยังไม่พบรายงานการพัฒนาสูตรอาหาร MS ดัดแปลงร่วมกับปุ๋ยไฮโดร-โปนิกส์ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอาหาร MS ดัดแปลงร่วมกับปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อหาสูตรอาหารที่ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกัญชาในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมชิ้นส่วนกัญชา และการฟอกฆ่าเชื้อ

เพาะเมล็ดกัญชาด้วยวัสดุที่เป็นดินภายในถาด โดยจะรดน้ำวันละ 1 ครั้งจนต้นกัญชามีอายุครบ 1 เดือน ทำการเลือกต้นโดยจะมีการวัดความสูงของต้นกัญชาเริ่มวัดจากใบเลี้ยงไปจนถึงยอด จำนวน 20 ต้นได้ค่าเฉลี่ยความสูงเท่ากับ 7.6±2 เซนติเมตร วัดเส้นรอบวงลำต้นของข้อที่ 1 และ ข้อที่ 2 จำนวน 20 ต้น ข้อที่ 1 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.03±0.1 มิลลิเมตร และข้อที่ 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.09±0.1 มิลลิเมตร วัดความสูง และเส้นรอบวงข้อที่ 1 และข้อที่ 2 ให้ได้ตามเกณฑ์ที่กำหนดจากนั้นตัดส่วนเนื้อเยื่อเจริญข้อที่ 1 และข้อที่ 2 ตัดแต่งใบทิ้ง นำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสาร Clorox ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 15 นาที และฟอกต่อด้วย Clorox ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 15 นาที จากนั้นแช่ในน้ำปลอดเชื้ออีก 10 นาที ดัดแปลงจากวิธีของธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ และคณะ (2559)

2. การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.1 ชั่งสารสำหรับทำอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประกอบด้วย อาหารสังเคราะห์สูตร MS สำเร็จรูปแบบผง ปริมาณ 4.43 กรัม/ลิตร ส่วนอาหารสูตร ½ MS ใช้ MS ปริมาณ 2.21 กรัมต่อลิตร น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร และปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 ความเข้มข้น 200 ppm ใช้ปริมาณ 39 มิลลิลิตรต่อลิตร ส่วนปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 ความเข้มข้น 300 ppm ใช้ปริมาณ 58 มิลลิลิตรต่อลิตร

2.2 หลังจากชั่งสารเสร็จแล้วให้นำ MS น้ำตาลทราย และปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 ผสมกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำปลอดเชื้อจนครบ 1 ลิตร คนจนละลายเมื่อละลายแล้วนำมาวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ให้ได้ค่า pH 5.7

2.3 นำอาหารที่ได้ไปเติมผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตรจากนั้นนำมาต้มจนผงวุ้นละลายดี นำอาหารมาแบ่งใส่ขวดขนาด 4 ออนซ์ ตักอาหารให้มีปริมาตร20 มิลลิลิตรเท่ากันทุกขวด จากนั้นปิดฝาให้สนิท และนำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อ โดยใช้หม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

3. การตัดแต่งชิ้นส่วนพืชและย้ายเนื้อเยื่อ

นำชิ้นส่วนของกัญชามาเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการตัดเนื้อเยื่อให้มีความยาว 1 เซนติเมตร จากนั้นนำชิ้นเนื้อเยื่อปักลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ลึกประมาณ 0.5 เซนติเมตร เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 8 สัปดาห์ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และมีการให้แสงจากหลอดไฟ LED ระยะเวลาให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

4. การวางแผนการทดลองและการบันทึกข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) แบ่งเป็น 4 ทรีตเมนต์ ทรีตเมนต์ละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้นพืช โดยการนำชิ้นส่วนข้อของกัญชามาเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นที่เตรียมจากอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962) ร่วมกับปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกัน 4 ระดับได้แก่ ½ MS + hydroponics RSU S1 200 ppm, ½ MS + hydroponics RSU S1 300 ppm, MS + hydroponics RSU S1 200 ppm, MS + hydroponics RSU S1 300 ppm เปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลอง ได้แก่ จำนวนใบ จำนวนยอด ความสูงยอด ความกว้างทรงพุ่ม บันทึกน้ำหนักสดต้นโดยใช้ฟอร์เซปนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อออกจากอาหาร โดยไม่ให้วุ้นติดไปกับเนื้อเยื่อ นำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นนำเนื้อเยื่อใส่ในถุงกระดาษไปอบใน Hot Air Oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 วัน และนำมาใส่เครื่องดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที จึงนำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่งเพื่อบันทึกน้ำหนักแห้งต้น หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของกัญชาบนอาหารสังเคราะห์ Murashige and Skoog (1962) หรือ MS ร่วมกับปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 ที่ความเข้มข้น 200 ppm และ 300 ppm เปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า จำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงยอด ความกว้างทรงพุ่ม น้ำหนักสดต้น และน้ำหนักแห้งต้น มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P<0.05$) โดยสูตรอาหาร MS +hydroponics RSU S1 300 ppm และสูตร MS + hydroponics RSU S1 200 ppm เป็นสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกัญชามีจำนวนใบ และความกว้างทรงพุ่มมากที่สุด และชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกัญชาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS + hydroponics RSU S1 300 ppm สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด โดยมีจำนวนยอดเท่ากับ 6.739 ยอด (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงยอด ความกว้างทรงพุ่ม ของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกัญชาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับปุ๋ยไฮโดรโป-นิกส์ RSU S1 ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Treatment	จำนวนยอด (ยอด)	จำนวนใบ (ใบ)	ความสูงยอด (เซนติเมตร)	ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)
Control (MS)	$3.722^{bc1/}$	22.702^{b}	$1.443a^{bc}$	2.193^{bc}
½ MS + hydroponics RSU S1 200 ppm	3.340^{c}	15.653^{c}	0.992^{c}	1.854^{c}
½ MS + hydroponics RSU S1 300 ppm	6.739^{a}	25.623^{ab}	1.338^{bc}	2.475^{b}
MS + hydroponics RSU S1 200 ppm	4.976^{bc}	30.664^{a}	2.054^{ab}	3.229^{a}

Treatment	จำนวนยอด (ยอด)	จำนวนใบ (ใบ)	ความสูงยอด (เซนติเมตร)	ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)
MS +hydroponics RSU S1 300 ppm	5.047[ab]	30.875[a]	2.443[a]	3.382[a]
F-Test	*	*	*	*
C.V. (%)	10.95	15.91	16.02	11.30

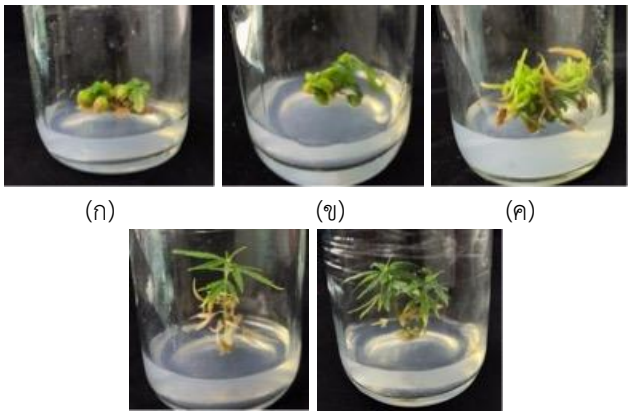
หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ได้จากการเปรียบเทียบค่าทางสถิติ
* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และเปอร์เซ็นต์การรอด พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + hydroponics RSU S1 300 ppm มีค่าความสูงยอด น้ำหนักสดต้น และน้ำหนักแห้งต้นมากกว่าอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรอื่น ๆ โดยมีค่าเท่ากับ 2.443 เซนติเมตร 0.896 กรัม 0.113 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับปุ๋ยไฮโดร-โปนิกส์ RSU S1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ สามารถชักนำให้กัญชามีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าอาหารสูตร MS (ภาพที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์ (2558) ได้พัฒนาอาหารอย่างง่ายจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อม่วงเทพรัตน์ และหญ้าหวานโดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน Stock A และ Stock B ความเข้มข้นอย่างละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร เปรียบเทียบกับอาหารวุ้นสูตร MS พบว่าอาหารวุ้นจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน Stock A และ Stock B ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้พืชทั้งสองชนิดมีจำนวนยอด จำนวนใบ และความสูงของยอดมากกว่าอาหารสูตร MS ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้ได้เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เตรียมจากปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 ประกอบไปด้วย ธาตุอาหารหลักอย่างธาตุโพแทสเซียม (K) มีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางสรีรวิทยา และชีวเคมีในพืช นับตั้งแต่การสังเคราะห์แสง การหายใจ การลำเลียงสารประกอบที่ได้จากการสังเคราะห์แสง การสร้างโปรตีน และน้ำมันในพืช ธาตุแมกนีเซียม (Mg) ช่วยในการสังเคราะห์กรดอะมิโน วิตามิน ไขมัน และน้ำตาล นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และธาตุแคลเซียม (Ca) ช่วยในการแบ่งเซลล์ มีส่วนสำคัญต่อโครงสร้างของเซลล์พืช ช่วยในการลำเลียงอาหาร (สุรวิช วรรณไกรโรจน์ และคณะ, 2564) นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วย Monopotassium, Monoammonium phosphate และ Micro nutrition อีกทั้งอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) (MS) ยังประกอบไปด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง วิตามิน และกรดอะมิโนที่จำเป็นเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต สร้างระบบสืบพันธุ์ และใช้ในการทำหน้าที่ต่าง ๆ พืชที่ได้รับปริมาณธาตุอาหารอย่างเพียงพอต่อความต้องการจะทำให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีซึ่งจะขึ้นอยู่กับธาตุอาหารที่เฉพาะเจาะจงและชนิดของพืชด้วย ถ้าพืชได้รับปริมาณธาตุอาหารมาก หรือน้อยเกินไปจะส่งผลให้การเจริญเติบโตหรือสุขภาพของพืชแย่ลง (ศศิธร พินภิรมย์ และคณะ, 2563)

ตารางที่ 2 แสดงน้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดราก และเปอร์เซ็นต์การรอดของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกัญชาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Treatment	น้ำหนักสดต้น (กรัม)	น้ำหนักแห้งต้น (กรัม)	การเกิดราก (เปอร์เซ็นต์)	การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)
Control (MS)	0.664$^{bc1/}$	0.106^{ab}	6.444	68.000
½ MS + hydroponics RSU S1 200 ppm	0.335^{d}	0.056^{c}	4.000	76.000
½ MS + hydroponics RSU S1 300 ppm	0.480^{cd}	0.078^{bc}	6.667	66.444
MS + hydroponics RSU S1 200 ppm	0.769^{ab}	0.108^{ab}	16.889	85.778
MS +hydroponics RSU S1 300 ppm	0.896^{a}	0.113^{a}	19.111	81.111
F-Test	*	*	ns	ns
C.V. (%)	15.35	16.68	11.04	20.75

หมายเหตุ $^{1/}$ ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ได้จากการเปรียบเทียบค่าทางสถิติ
* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 1 แสดงชิ้นส่วนของกัญชาที่เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ก) MS ไม่เติมปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ RSU S1 (ข) ½ MS ร่วมกับ Hydroponics RSU S1 200 ppm (ค) ½ MS ร่วมกับ Hydroponics RSU S1 300 ppm (ง) MS ร่วมกับ Hydroponics RSU S1 200 ppm (จ) MS ร่วมกับ Hydroponics RSU S1 300 ppm

สรุปผลและเสนอแนะ

อาหารสูตร MS +hydroponics 300 ppm และสูตร MS + hydroponics 200 ppm เป็นสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกัญชามีจำนวนใบ (30.664 และ 30.875 ใบ) และความ

กว้างทรงพุ่ม (3.229 และ 3.382 เซนติเมตร) มีค่าสูงที่สุด และอาหารสูตร MS +hydroponics 300 ppm สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกัญชามีความสูงยอด น้ำหนักสดต้น และน้ำหนักแห้งต้นมีค่ามากกว่าทุกชุดการทดลอง มีค่าเท่ากับ 2.443 เซนติเมตร 0.896 กรัม และ 0.113 กรัม ตามลำดับ และอาหารสูตร ½ MS + hydroponics 300 ppm สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 6.739 ยอด ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และเปอร์เซ็นต์การรอด พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นน่าจะเป็นข้อมูลพื้นฐานและแนวทางการผลิตกัญชาในสภาพปลอดเชื้อในเชิงอุตสาหกรรมต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์. (2561). ผลของอาหารจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช่ดินและอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลานไพลิน. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 49(1), 88-89.

ขวัญเดือน รัตนา, ธิดารัตน์ ผ่องแผ้ว, วิทิดา สิงห์เชื้อ, ขจรพงศ์ ดาศรี, และศุภาวีร์ แสงจันทร์จิรเดช. (2565). การขยายพันธุ์บอนสีด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. *วารสารเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี*, 3(3), 94-105.

จตุพร หงส์ทองคำ, นัตติยากรณ์ ผาเนตร, และจริยา สิงห์มาตร. (2565). การขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงขาวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดร*, 10(2), 43-56.

บุญยืน กิจวิจารณ์. (2544). *เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.* สำนักคลังนานาวิทยา.

รวิสสาข์ สุชาโต, ณัฐพล พจนาประเสริฐ, และอัจฉรา ปทุมนากุล. (2564). อารัมภาบท. ในสมพร อิศวิลานนท์, ปิยะทัศน์ พาหอนุรักษ์, วรภัทร จิตรไพศาลศรี (บ.ก.), *กัญชาพืชทางเลือกผลกระทบทางเศรษฐกิจ และความคุ้มค่าในการลงทุน*. สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ.

ศศิธร พินภิรมย์, นงนุช เลาหะวิสุทธิ์, และอัจฉรี เรืองเดช. (2563). ผลของปริมาณธาตุอาหารในสูตรอาหารกึ่งแข็ง MS ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 38(4),459-461.

สุมนทิพย์ บุนนาค. (2556). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการถ่ายยีนสู่พืช*. ภาควิชาชีววิทยา, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สุรวิช วรรณไกรโรจน์, ยี่โถ ทัพภะทัต, เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี, เกวลิน คุณาศักดากุล, รมณีย์ เจริญทรัพย์, พนมพร วรรณประเสริฐ และ เพชรรัตน์ จันทรทิณ. (2564). บาทฐานงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ม.ป.ท..

ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์, บัณฑิตา เพ็ญสุริยะ, นุชรัฐ บาลลา, และณัฐพงศ์ จันจุฬา. (2559). ชิ้นส่วนที่เหมาะสมของต้นลินเดอเนียร์เตตราพลอยด์ที่ขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, *5*(3), 227-232.

Chandra, S., Lata, H., & ElSohly, M. A. (2020). Propagation of Cannabis for Clinical Research: An Approach Towards a Modern Herbal Medicinal Products Development. *Frontiers in Plant Science*, 11(1), 1-10.

Yildiz, M. (2012). *The Prerequisite of the Success in Plant Tissue Culture: High Frequency Shoot Regeneration.* In A. Leva, & L. Rinaldi (Ed.), Reaent Advances in Plant in vitro Culture.