ปัจจัยของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการงอกของไผ่ในสภาวะปลอดเชื้อ

INFLIUENCE OF PLANT GROWTH REGULATORS FOR REGENERATION OF BAMBOO (*Neohouzeaua mekongensis*) BY TISSUE CULTURE

ชลธิชา ท้วมสุวรรณ์

ไตรรัตน์ ไพจิตร

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

INFLIUENCE OF PLANT GROWTH REGULATORS FOR REGENERATION OF BAMBOO (*Neohouzeaua mekongensis*) BY TISSUE CULTURE

CHONTICHA THUAMSUWAN

TAIRAT PAIJIT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARMENT OF BIOLOFY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ปัจจัยของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการงอกของไผ่ในสภาวะปลอดเชื้อ
Influence of Plant Growth Regulators for Regeneration of Bamboo (*Neohouzeaua mekongensis*) by tissue culture

ชื่อนักศึกษา นางสาวชลธิชา ท้วมสุวรรณ์ รหัสนักศึกษา 62050481
นายไตรรัตน์ ไพจิตร รหัสนักศึกษา 62050491

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

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

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ปัจจัยของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการงอกของไผ่ในสภาวะปลอดเชื้อ

ชื่อนักศึกษา นางสาวชลธิชา ท้วมสุวรรณ์ รหัสนักศึกษา 62050481

นายไตรรัตน์ ไพจิตร รหัสนักศึกษา 62050491

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้ศึกษาปัจจัยของสารควบคุมการเจริญเติบโตของไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) ในสภาวะปลอดเชื้อ โดยมีการแปรผันปัจจัยคือ สารควบคุมที่ต่างกันคือ 6-Benzyl-aminnopurine (BA) Thidiazuron (TDZ) *Meta*-Topolin (*m*T) Indole-3-Acetic Acid (IAA) และ α-Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยนำส่วนข้อของต้นไผ่มาทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจานแล้วนำไปฟอกในน้ำยาป้องกันเชื้อรา ฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยไฮเตอร์ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ผสม Tween 20 1 - 2 หยด PPM 0.12 เปอร์เซ็นต์ Antibiotics 0.12 เปอร์เซ็นต์ และ Ceftriaxone 0.12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 15 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำปราศจากเชื้อ 5 ครั้ง แล้วนำส่วนข้อไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่เตรียมไว้สูตรละ 20 ซ้ำ แล้วทำการเก็บผล และสังเกตการเจริญเติบโตทั้งหมด 4 สัปดาห์ อาหารสังเคราะห์ทั้ง 5 สูตร พบอัตราการรอดสูงสุดที่อาหารสังเคราะห์สูตร MS เสริมด้วย NAA ที่ความเข้ม 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดสูงสุดที่ 50 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุดที่อาหารสังเคราะห์สูตร MS เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุดที่ 2.20±0.02 เซนติเมตร

คำสำคัญ : สารควบคุมการเจริญเติบโต ไผ่หลอด การฟอกฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Influence of Plant Growth Regulators for Regeneration of Bamboo (*Neohouzeaua mekongensis*) by tissue culture
Student	Miss Chonticha Thuamsuwan Student ID 62050481
	Mr. Tairat Paijit Student ID 62050491
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2022
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Anurug Poeaim

Abstract

In this special research, the growth regulator factors of bamboo tubes (*Neohouzeaua mekongensis*) were investigated in sterile conditions using various plant growth regulators: 6-Benzylaminnopurine (BA), Thidiazuron (TDZ), Meta-Topolin (mT), Indole-3-Acetic Acid (IAA), and **α**-Naphthaleneacetic acid (NAA) by each of them at different concentrations of 0.5, 1.0, 2.0, and 3.0 mg/L. Dishwashing liquid was used to clean the bamboo joints, followed by bleaching with an anti-fungal solvent. As needed, bleach and disinfect. For 15 minutes, Haiter 20% solution was mixed with Tween 20 1-2 drops, PPM 0.12%, Antibiotics 0.12%, and Ceftriaxone 0.12% before being rinsed 5 times with sterile water. Then, for each formula, place the joints in the prepared medium. There are 20 replications. For four weeks, the experimental results were collected. As a result, it was found that the MS diet supplemented with NAA at 0.5 mg/L intensity had the highest survival rate among the five synthetic diet regimens. MS medium supplemented with 0.5 mg/L TDZ had the highest survival rate of 50% and the longest average shoot length. The average length of the shoot was 2.20±0.02 cm.

Keywords: bamboo tubes, growth regulators, disinfection, bleaching

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จได้ด้วยดีตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิตสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เนื่องจากได้รับความกรุณาและความร่วมมือของทุกๆท่าน ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือแนะนำแนวทางที่ดีในการแก้ไขปรับปรุงข้อบกพร่องที่ได้เกิดขึ้นตลอดการทำโครงงานพิเศษนี้ ตลอดจนให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษจนทำให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และอาจารย์กรรมการสอบโครงงานพิเศษ ดร.วิมลมาศ บุญมี ที่กรุณามาเป็นกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษ อีกทั้งยังคอยแนะนำให้คำปรึกษา และชี้แนะแนวทางการแก้ปัญหาในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา ที่อนุเคราะห์ในการจัดหาเครื่องมือและสารเคมีอีกทั้งยังให้คำแนะนำในการแก้ปัญหาตลอดระยะเวลาในการทำโครงงานพิเศษนี้จนสำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ พี่ ป.โท ภาควิชาชีววิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำปรึกษาในด้านต่างๆตลอดระยะเวลาการทำโครงงานพิเศษนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ เพื่อน ๆ ที่ร่วมห้องในการทำโครงงานพิเศษที่ให้คำปรึกษาให้กำลังใจ ตลอดจนถึงการช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษนี้จนสำเร็จ

ขอขอบพระคุณครอบครัว ผู้ปกครอง สำหรับกำลังใจและการสนับสนุน ในการทำโครงงานพิเศษนี้ ซึ่งเป็นแรงสำคัญในการที่จะทำให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงออกมาได้โดยดี

ชลธิชา ท้วมสุวรรณ์
ไตรรัตน์ ไพจิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญ ..... จ
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูป ..... ช
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ซ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 1
1.3 ขอบเขตงานวิจัย 1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ไผ่หลอด (*Neohouzeaua mekongensis*) 3
1. ใบไผ่ 3
2. ดอกไผ่ 3
3. ลำไผ่ 3
4. เหง้าไผ่ 4
5. หน่อไผ่ 4
6. กิ่งไผ่ 4
2.2 การขยายพันธุ์โดยใช้กิ่งแขนง 4
2.3 การขยายพันธุ์ไผ่ด้วยการเพาะเมล็ด 4
2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 4
2.4.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช 5
2.4.2 การชักนำให้เกิดยอดจากข้อไผ่ 6
1. ไซโตไคนิน 6
2. ออกซิน 6
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 8
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 8
3.1.1 ต้นไผ่หลอด 8
3.1.2 Murashige and Skoog,1962 8
3.1.3 Agar 8
3.1.4 Sugar 8
3.1.5 น้ำกลั่น 8
3.1.6 สารควบคุมการเจริญเติบโต 8
3.1.7 สารเคมี 8
3.1.8 อุปกรณ์และเครื่องมือ 8
3.2 พันธุ์พืชที่ใช้ในการศึกษาวิจัย 9
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย 9
3.4 การคำนวณหาค่าทางสถิติ 10
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 11
4.1 อัตราการรอดชีวิตของข้อไผ่บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรต่าง ๆ 11
4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อไผ่หลอด 13
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 17
5.1 สรุปผลการวิจัย 17
5.2 ข้อเสนอแนะ 17
เอกสารอ้างอิง 18
ภาคผนวก 20
ภาคผนวก ก 21
ภาคผนวก ข 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต..... 10

4.1 อัตราการรอดชีวิตของข้อไผ่หลอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโตในช่วงระยะเวลา 4 สัปดาห์..... 12

4.2 แสดงจำนวนยอด จำนวนใบเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะของต้นไผ่หลอด 3
4.1 ลักษณะของข้อไผ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS 15
4.2 ลักษณะของข้อไผ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA 15
4.3 ลักษณะของข้อไผ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ TDZ 15
4.4 ลักษณะของข้อไผ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ *m*T 16
4.5 ลักษณะของข้อไผ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ IAA 16
4.6 ลักษณะของข้อไผ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
MS	Murashige and Skoog
BA	6-Benzylaminopurine
IAA	Indole-3-Acetic Acid
NAA	α-Naphthaleneacetic acid
TDZ	Thidaizuron
*m*T	*Meta*-Topolin
PPM	Plant Preservation Mixer
มก./ล.	มิลลิกรัมต่อลิตร
ซม.	เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไผ่หลอด *(Neohouzeaua mekongensis)* เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เป็นไผ่ขนาดเล็กมีความสูงประมาณ 3 - 4 เมตร ปล้องยาวประมาณ 10 - 15 เซนติเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 - 8 มิลลิเมตร ไม่มีหนาม ขึ้นเป็นกอ พบมากในภาคเหนือและภาคตะวันออกของไทย ที่ผ่านมาไผ่หลอดนิยมปลูกเป็นไม้ประดับหรือรั้วบ้าน จนกระทั่งปัจจุบันเมื่อมีกระแสเรื่องการลดใช้พลาสติก ทำให้ไผ่หลอดได้รับความนิยมมากโดยการในมาใช้ทดแทนหลอดพลาสติก (วารสารสิ่งแสดล้อม, 2564)

การขยายพันธุ์ไผ่ มีข้อกำจัดเนื่องจากสภาพแวดล้อม มนุษย์ ไฟป่า แมลง สัตว์กินเมล็ดพันธุ์หรือหน่อไผ่ ส่วนการปักชำโดยใช้ส่วนของลำและเหง้าไม่สามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว เพราะท่อนพันธุ์มีโอกาสรอดต่ำ สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นการขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว สามารถผลิตต้นพันธุ์พืชปริมาณมาก ๆ ในระยะเวลาอันรวดเร็ว มีขนาดสม่ำเสมอ และปลอดโรค เมื่อเทียบกับการขยายพันธุ์วิธีอื่น ๆ ด้วยเหตุนี้เป้าหมายหลักของการศึกษาวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาลักษณะภายนอก อาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการขยายพันธุ์ไผ่ การควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมกับไผ่โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเนื้อเยื่อพืชในสภาวะปลอดเชื้อ (อภิศักดิ์, 2549)

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ

1.2.2 เพื่อศึกษาอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดใบจากยอดใหม่

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อข้อในการใช้สารละลายไฮเตอร์ในความเข้มข้นที่ต่างกัน ร่วมกับสารเคมีตัวอื่น ๆ รวมถึงศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของไผ่ จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) เพียงอย่างเดียว และมีการใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ช่วยชักนำข้อให้เกิดเป็นยอดใหม่ โดยมีสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ BA TDZ *m*T IAA และ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของข้อที่ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบสูตรอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนข้อ

1.4.2 ทราบสูตรอาหารที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความเข้มข้นต่างกันที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดใบจากยอดใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไผ่หลอด

ชื่อวิทยาศาตร์ *Neohouzeaua mekongensis* อยู่ในวงศ์ Gramineae มีลักษณะลำต้นสีเขียวเป็นมัน เป็นไผ่ขนาดเล็ก สูงประมาณ 3 - 4 เมตร ปล้องยาวประมาณ 10 - 15 เซนติเมตร ไม่มีหนาม กอเป็นพุ่ม แขนงสั้น หน่อเล็ก มีขนหน่อสีเทา มีกาบสีขาว พบได้ในป่าดิบชื้นแถบตะวันออกและภาคเหนือ ไผ่ 1 ต้น มีส่วนประกอบดังนี้ รูปที่ 1

รูปที่ 2.1 ลักษณะของต้นไผ่หลอด
(ที่มา:http://kasetpluss.com/product/%E0%B9%84%E0%B8%9C%E0%B9%88%E0%B8%AB%E0%B8%A5%E0%B8%AD%E0%B8%94)

1) ใบไผ่

มีลักษณะเป็นรูปเรียวปลายแหลม ใบไผ่มีรูปร่างได้หลายแบบตามลักษณะที่ขึ้นตามตำแหน่ง

- ใบหุ้มตา หรือ โพรฟิลล์ เปรียบเสมือนใบแรกของการแตกกิ่งหรือแตกแขนงครั้งแรก
- กาบหุ้มเหง้า เป็นใบที่ข้อของเหง้า
- กาบหุ้มลำ เป็นใบที่ข้อของลำ
- ใบแท้ เป็นใบที่ตามข้อกิ่ง

2) ดอก

มีดอกขนาดเล็กเรียกว่าดอกย่อย ดอกไผ่ส่วนมากเป็นดอกสมบูรณ์เพศอาจพบบ้างที่เป็นดอกเพศเดียว

3) ลำไผ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ ปล้องและข้อ ปล้องไผ่จะเกิดระหว่างข้อ มีลักษณะเป็นห้อง ส่วนใหญ่มักกลวง ปล้องไผ่จะยาวเต็มที่บริเวณกลางลำ จากนั้นจะค่อย ๆ มีความยาวลดหลั่นลงไปทางปลายลำส่วนใหญ่ลำไผ่จะมีรูปทรงกระบอกเรียวไปทางปลายยอด

4) เหง้า

เป็นส่วนลำต้นที่อยู่ใต้ดิน ทำหน้าที่ค้ำจุนลำต้นเหนือดิน สะสมอาหาร และการแตกเหง้าอันใหม่ ต่อไประบบเหง้าสามารถแยกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

- ระบบเหง้าแบบกอ มีตัวเหง้าอวบสั้น เหง้าใหม่จะแตกตาข้างของเหง้าเก่าจากนั้นจะเจริญไปยังด้านบน พัฒนาเป็นหน่อและลำต้นต่อไป
- ระบบเหง้าแบบลำเดี่ยว ตัวเหง้ามีลักษณะผอมบาง เหง้าแต่ละอันเจริญเติบโตอยู่ในดินตามแนวราบตาข้างบางตาที่อยู่บนเหง้า จะพัฒนาต่อไปเป็นเหง้าหรือลำใหม่

5) หน่อไผ่

เป็นส่วนของลำอ่อนที่เพิ่งโผล่พ้นจากดิน มีส่วนของกาบหุ้มลำต้นปกคลุมอยู่มิดหน่อไผ่อ่อนเรียกว่า หน่อไม้

6) กิ่ง

เกิดบริเวณตาข้างที่อยู่ตรงข้อลำไผ่โดยมีรูปแบบการเกิดกิ่งแตกต่างกันไป

2.2 การขยายพันธุ์ไผ่โดยใช้กิ่งแขนง

กิ่งแขนงเป็นกิ่งที่แตกมาจากส่วนของข้อลำ ความสำเร็จในการขยายพันธุ์โดยวิธีนี้ขึ้นอยู่กับการเลือกกิ่งแขนงและวิธีการดูแลกิ่งแขนงในแปลงเพาะชำ กิ่งแขนงควรมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 - 1.5 นิ้ว ต้องมีรากที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือเหลืองอมน้ำตาล ใบคลี่แล้ว กาบหุ้มตาหลุดหมด กิ่งต้องมีอายุอย่างน้อย 1 - 2 ปี โดยใช้ระยะเวลาในการปักชำประมาณ 8 - 12 เดือน จะทำให้กิ่งพันธุ์แข็งแรงและมีเปอร์เซ็นการรอดตายสูงและใช้เวลานาน

2.3 การขยายพันธุ์ไผ่ด้วยการเพาะเมล็ด

การศึกษาการงอกของเมล็ดไผ่ ทำการเพาะ 15 วัน เมล็ดจะมีการงอกออกมา ซึ่งรากจะงอกออกจากเมล็ดก่อน ระยะเวลาผ่านไป 5 วันใบเลี้ยงจะเริ่มแทงออกมาจากเมล็ด และใบเลี้ยงโตเต็มที่ใช้เวลาประมาณ 12 วัน ทั้งนี้เมล็ดไผ่ส่วนมากมีอายุการเก็บรักษาสั้น หากเก็บไว้นาน ความสามารถในการงอกจะลดลง นอกจากนี้อุณหภูมิที่เก็บรักษาเมล็ดยังมีผลต่อการงอก ควรเก็บในอุณภูมิที่เหมาะสมและไม่ควรเก็บเป็นเวลานานเกินไปเพราะจะทำให้ประสิทธิภาพการงอกของเมล็ดลดลง (วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ การขยายพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศประเภทหนึ่งโดยการนำชิ้นส่วนพืช ซึ่งอาจเป็นโปรโตพลาสต์ เซลล์ เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะของพืช มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม ได้แก่ แสง อุณหภูมิ และความชื้น เพื่อให้ชิ้นส่วนนั้นพัฒนาได้หลายรูปแบบ ซึ่งชิ้นส่วนอวัยวะที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น ได้แก่ อวัยวะเนื้อเยื่อ กึ่งอวัยวะกึ่งเนื้อเยื่อ ตัวอย่างเช่น ปลายยอด ข้อ ปล้อง ชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้จำนวนมาก เนื่องจากพืชมีคุณสมบัติที่เรียกว่า Totipotency คือ การที่เซลล์พืชมีความเจริญเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้ การขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนด้วยเทคนิคนี้จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชบนอาหารที่เหมาะสมกับต้นพืชแต่ละชนิด (วรารัตน์. (2021)

สูตรที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น โดยทั่วไปจะมีส่วนประกอบของธาตุอาหาร สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน กรดอะมิโน วิตตามินที่เหมือนกัน แต่ปริมาณแตกต่างกันตามชนิด อายุ และชิ้นส่วนพืช โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะประกอบด้วย 4 ขั้นตอน คือ การฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำให้เกิดยอด การชักนำให้เกิดราก และการย้ายต้นออกปลูก

2.4.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

ชิ้นส่วนพืชที่นำมาฟอกนั้น ควรเลือกต้นแม่ที่ดีแข็งแรงไม่เป็นโรค คัดชิ้นส่วนที่มีเนื้อเยื่อเจริญ ไม่อ่อนหรือแก่จนเกินไป การเลือกข้อ หรือยอดที่งอกใหม่จะสามารถทำความสะอาดได้ง่ายกว่า และปราศจากเชื้อโรคมากกว่า ตำแหน่งของชิ้นส่วนพืชควรอยู่ในระยะการพัฒนา เช่น ปลายยยอด ข้อ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงแล้วจะสามารถชักนำให้เกิดไปเป็นยอดใหม่ได้ และควรคำนึงถึงขนาดและอายุของชิ้นพืช หากชิ้นพืชอายุน้อย อาจไม่สามารถทนต่อสารฟอกและทำให้ตาย หากชิ้นพืชแก่ อาจทำให้การฟอกฆ่าเชื้อไม่ได้ประสิทธิภาพ และเกิดการปนเปื้อนในที่สุด

เมื่อคัดชิ้นส่วนแล้วนำมาฟอกขั้นตอนที่สำคัญในการขจัดสิ่งสกปรก เชื้อราและเชื้อจุลินทรีย์ออกจากผิวของชิ้นพืช ซึ่งภายนอกและภายในชิ้นพืชอาจมีเชื้อราหรือแบคทีเรียอยู่ตามเนื้อเยื่อลำเลี้ยง ดังนั้นจึงควรล้างด้วยน้ำสบู่หรือน้ำยาล้างจานให้สะอาดแล้วล้างผ่านน้ำด้วยน้ำประปา ซึ่งวิธีนี้จะช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้ และเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการฟอกควรฟอกด้วยยาขจัดเชื้อรา

เมื่อล้างทำความสะอาดชิ้นพืชแล้ว จึงนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วย โซเดียมไฮเปอร์คลอไลด์ ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามขนาดของชิ้นพืช ใช้ร่วมกับ Tween 20 (polyoxyethylene sorbitan monolaurate) ประมาณ 1 - 2 หยด เพื่อลดแรงตึงผิว ช่วยให้การฟอกฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ในการชิ้นส่วนบริเวณข้อของไผ่รวกใช้สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไลด์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที โดยผสม Tween 20 1 - 2 หยด เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 71 - 90 เปอร์เซ็นต์ (เยาวพา, 2553) และการฟอกส่วนข้อของไผ่ปักกิ่ง ล้างด้วยน้ำยาล้างจาน 10 เปอร์เซ็นต์ ล้างด้วยน้ำเปล่า จุ่มข้อในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที และฟอกต่อด้วย mercuric chloride ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที และล้างด้วยน้ำปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 70 - 95 เปอร์เซ็นต์ (นันทิกา, 2019) อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีที่ความเข้มข้นแตกต่างกันขึ้นอยู่กับช่วงเดือนที่ฟอก ในช่วงเดือน เมษายน - ตุลาคม พบว่ามีการปนเปื้อนสูงสุดเนื่องจากเป็นช่วงฤดูฝนที่มีความชื้นสูง ส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตตามซอกใบ และชิ้นส่วนข้อได้ดี

2.4.2 การชักนำให้เกิดยอดจากข้อไผ่

ในการชักนำให้เกิดยอดจำเป็นต้องเลี้ยงบนอาหารที่เหมาะสมจึงจะสามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต และความเข้มข้นขึ้นอยู่กับชนิดพืชและชิ้นส่วนที่นำมาใช้ ซึ่งสารเหล่านี้มีความสำคัญอย่างมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะไซโตไคนินและออกซิน โดยสารทั้ง 2 กลุ่มมีคุณสมบัติดังนี้

1) ไซโตไคนิน

เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั้งในรูปแบบธรรมชาติและการสังเคราะห์ BA (6-benzylaminopurine) kinetin (6-furfuryladnine) TDZ (Thidiazuron) zeatin (6-(4-hydroxy-3-methylbut-2-enylamino) purine) โดยปกติถ้าไซโตไคนินอย่างเดียวจะเกิดยอดเป็นจำนวนมาก แต่เมื่อใช้ร่วมกับออกซินในอัตราส่วนต่าง ๆ กันอาจเกิดยอดและแคลลัสแหล่งสังเคราะห์ไซโตไคนินในพืช ได้แก่ บริเวณอวัยวะพืชที่มีอายุน้อยมีการสังเคราะห์ไซโตไคนินในระดับสูง เช่น เมล็ด ผล ใบอ่อน และปลายรากเป็นต้น สารชนิดนี้มีคุณสมบัติในการแบ่งเซลล์ เนื่องจากไซโตไคนินเป็นฮอร์โมนที่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์โปรตีนควบคุมการเกิดรูปร่างของเซลล์ กระตุ้นการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและตาข้าง ความเข้มข้นของไซโตไคนินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอยู่ในช่วง 0.5 - 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (รังสกฤษดิ์, 2545)

2) ออกซิน

เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แพร่กระจายอยู่ทั่วไปในพืช ทำหน้าที่ควบคุมการยืดตัวของเซลล์ ช่วยให้เซลล์ในส่วนต่าง ๆ ของพืชยืดยาวขึ้นและกระตุ้นให้สร้างผนังเซลล์มากขึ้น (วราภรณ์, 2553) ออกซินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ IAA (indole-3-acetic acid) NAA (α Naphthaleneacetic acid) ออกซินในปริมาณสูงเกินไปจะยับยั้งการเจริญเติบโต การทำงานของออกซินจะขึ้นอยู่กับสิ่งเร้าต่าง ๆ เช่น แสง อุณหภูมิ แหล่งที่มีการสังเคราะห์ออกซิน ได้แก่ เนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอด ปลายราก ใบอ่อน ช่อดอก เมล็ด เอ็มบริโอและผล โดยออกซินที่นิยมใช้มากที่สุดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ IAA เนื่องจากมีผลเสียน้อยกว่าออกซินชนิดอื่น ๆ ปริมาณอัตราส่วนสมดุลระหว่างไซโตไคนินและออกซิน มีผลต่อต่อการสร้างอวัยวะ จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเซลล์เพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Rout et al. (1994) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อของไผ่เหลือง และไผ่เป๋าะ และไผ่ซางหม่น บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิตร 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร adenine sulphate ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ เกิด somatic embryo และพัฒนาเป็นต้น 95 - 98 เปอร์เซ็นต์ และสามารถย้ายออกปลูกได้

Prutpongse et al. (1992) ทำการทดลองขยายพันธุ์ไผ่ 54 ชนิด ในหลอดทดลองโดยใช้ตาข้อของลำต้นเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการเกิดยอด 43 ยอด ภายในระยะเวลา 30 วัน และเกิดรากในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 - 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

Lin et al. (2004) ขยายพันธุ์ไผ่ โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนข้อจากต้นที่มีอายุ 10 ปี มาเพิ่มจำนวนยอดบนสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และย้ายออกปลูกลงดินได้สำเร็จ

กนกวรรณและคณะ. (2022). ทำการทดลองเพิ่มจำนวนยอดของไผ่ซางหม่นในสภาวะปลอดเชื้อ โดยใช้ส่วนข้อไผ่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถพัฒนาไปเป็นยอดอ่อนและเกิดสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่ายอดอ่อนที่เจริญจากการปลูกแบบธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 ต้นไผ่หลอด *Neohouzeaua mekongensis*

3.1.2 Murashige and Skoog,1962 (MS)

3.1.3 ผงวุ้น (Agar)

3.1.4 น้ำตาล (Sugar)

3.1.5 น้ำกลั่น (Distilled water)

3.1.6 สารควบคุมการเจริญเติบโต

3.1.6.1 6-Benzylaminopurine (BA)

3.1.6.2 α-Naphthaleneacetic acid (NAA)

3.1.6.3 Indole-3-Acetic Acid (IAA)

3.1.6.4 Thidiazuron (TDZ)

3.1.6.5 *MeTa*-Topolin (*m*T)

3.1.7 สารเคมี

3.1.7.1 ไฮเตอร์

3.1.7.2 Tween 20

3.1.7.3 Plant Preservation Mixer (PPM)

3.1.7.4 Antibiotics

3.1.7.5 Ceftriaxone

3.1.7.6 น้ำยาป้องกันเชื้อรา

3.1.7.7 น้ำยาล้างจาน

3.1.7.8 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ และ แอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์

3.1.8 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.8.1 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

3.1.8.2 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)

3.1.8.3 เครื่องวัดความเป็นกรด - ด่าง (pH meter)

3.1.8.4 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.1.8.5 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance)

3.1.8.6 กระบอกตวง (Cylender)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.8.7 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue Culture Bottle)

3.1.8.8 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.8.9 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)

3.1.8.10 ปากคีบสแตนเลส (Forceps)

3.1.9.11 กรรไกรตัดเนื้อเยื่อพืช (Scissors)

3.1.9.12 จานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Petri Dish)

3.1.9.13 ตะแกรงวางอุปกรณ์ (Rack)

3.1.10.14 ไซริงค์แก้ว (Glass Syringe)

3.2 พันธุ์พืชที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

3.2.1 ต้นไผ่หลอด *Neohouzeaua mekongensis* ได้รับอนุเคราะห์จาก อาจารย์ที่ปรึกษา

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

คัดเลือกส่วนข้อของต้นไผ่หลอดมาทำความสะอาด แล้วนำส่วนข้อที่สมบูรณ์ที่สุดไปล้างน้ำสะอาดเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำมาล้างน้ำยาล้างจาน 3 หยด ผสมน้ำปราศจากเชื้อ 50 มิลลิลิตร 15 นาที ล้างออกด้วยน้ำปราศจากเชื้อ 2 ครั้ง แล้วนำไปฟอกต่อด้วยน้ำยาป้องกันเชื้อรา 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำปราศจากเชื้อ 2 ครั้ง แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์ 15 เปอร์เซ็นต์ หยด Tween 20 2 - 3 หยด PPM ความเข้มข้น 0.12 เปอร์เซ็นต์ Antibiotics ความเข้มข้น 0.12 เปอร์เซ็นต์ และ Ceftriaxone 0.12 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นล้างต่อด้วยน้ำปราศจากเชื้อ 5 ครั้ง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งทั้งหมด 5 ดังตารางที่ 3.1 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1 ศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไผ่หลอด

ทำการเพาะเลี้ยงสูตรละ 20 ซ้ำ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะมีแสง 6 ชั่วโมงต่อวันเมื่อครบสัปดาห์ที่ 4 ทำการบันทึกจำนวนต้นที่รอดชีวิตทุกสัปดาห์ ทำการบันทึกผล และความยาวยอด (เซนติเมตร) ของต้นที่รอดชีวิต

ตารางที่ 3.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโต	**ความเข้มข้นสารควบคุมการเจริญเติบโต(มก./ล.)**			
BA	0.5	1	2	3
TDZ	0.5	1	2	3
IAA	0.5	1	2	3
*m*T	0.5	1	2	3
NAA	0.5	1	2	3

3.4 การคำนวณหาค่าทางสถิติ

3.4.1 การคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

$$\text{เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนข้อที่งอก}}{\text{จำนวนข้อที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด}} \times 100$$

3.4.2 การคำนวณความยาวยอดเฉลี่ย

$$\text{ความยาวยอดเฉลี่ย} = \frac{\text{ผลรวมความยาวยอดของข้อที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนข้อที่รอดชีวิต}}$$

นำผลการทดลองจากข้อ 3.6.2 มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี ANOVA โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS (Statistics Package for the Social Science) เวอร์ชั่น 29 (IBM SPSS Statistics 29)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปราย

4.1 อัตราการรอดชีวิตของข้อไผ่บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรต่างๆ

จากการเพาะเลี้ยงไผ่หลอดในอาหารสูตรต่าง ๆ สูตรละ 20 ซ้ำ แสดงผลอัตราการรอดชีวิต ดังตารางที่ 4.1 พบว่าในสัปดาห์ที่ 4 ของการเพาะเลี้ยงอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตมีอัตราการรอดชีวิต 40 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบอัตราการรอดชีวิตสูงสุดที่ 35 เปอร์เซ็นต์ ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบอัตราการรอดชีวิตสูงสุดที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบอัตราการรอดชีวิตสูงสุดที่ 35 เปอร์เซ็นต์ ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบอัตราการรอดชีวิตสูงสุดที่ 35 เปอร์เซ็นต์ และที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบอัตราการรอดชีวิตสูงสุดที่ 50 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 อัตราการรอดชีวิตของข้อไผ่หลอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ ใน 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)		จำนวนข้อที่เพาะเลี้ยง (ข้อ)	จำนวนข้อที่รอดชีวิต (ข้อ)	อัตราการรอดชีวิต (%)
Control	0	20	8	40
BA	0.5	20	4	20
	1	20	7	35
	2	20	2	10
	3	20	6	30
TDZ	0.5	20	1	5
	1	20	4	20
	2	20	5	25
	3	20	6	30
*m*T	0.5	20	7	35
	1	20	2	10
	2	20	4	15
	3	20	6	30
IAA	0.5	20	4	20
	1	20	7	35
	2	20	5	25
	3	20	4	20
NAA	0.5	20	10	50
	1	20	7	35
	2	20	2	10
	3	20	5	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อไผ่หลอด

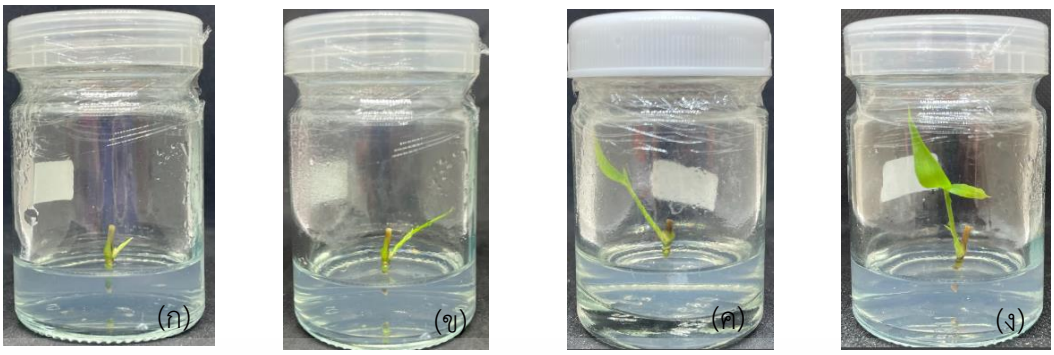
จากการนำชิ้นส่วนข้อไผ่หลอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงผลดังตารางที่ 4.2 ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดดีที่สุด โดยมีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 0.70±0.57 เซนติเมตร (รูปที่ 4.2 (ง)) เมื่อเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 5 สัปดาห์ พบว่าเกิดการงอกของใบที่ดีที่สุดจากยอดที่เกิดใหม่ โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย 1.0±0.89 ใบ อาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดดีที่สุด โดยมีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.20±0.02 เซนติเมตร (รูปที่ 4.3 (ก)) เมื่อเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 5 สัปดาห์ พบว่าเกิดการงอกของใบที่ดีที่สุดจากยอดที่เกิดใหม่ ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย 3.33±0.57 ใบ อาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ *m*T ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดดีที่สุด โดยมีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 1.77±0.42 เซนติเมตร (รูปที่ 4.6 (ข)) เมื่อเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 5 สัปดาห์ พบว่าเกิดการงอกของใบจากยอดที่เกิดใหม่ ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย 2.9±0.37 ใบ อาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ IAA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดดีที่สุด โดยมีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 1.40±0.69 เซนติเมตร (รูปที่ 4.4 (ข)) เมื่อเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 5 สัปดาห์ พบว่าเกิดการงอกของใบจากยอดที่เกิดใหม่ ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย 2.5±0.70 ใบ อาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดดีที่สุด โดยมีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 1.40±0.63 เซนติเมตร (รูปที่ 4.5 (ข)) เมื่อเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 5 สัปดาห์ พบว่าเกิดการงอกของใบจากยอดที่เกิดใหม่ ที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย 2.25±0.5 ใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงจำนวนยอด จำนวนใบเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต

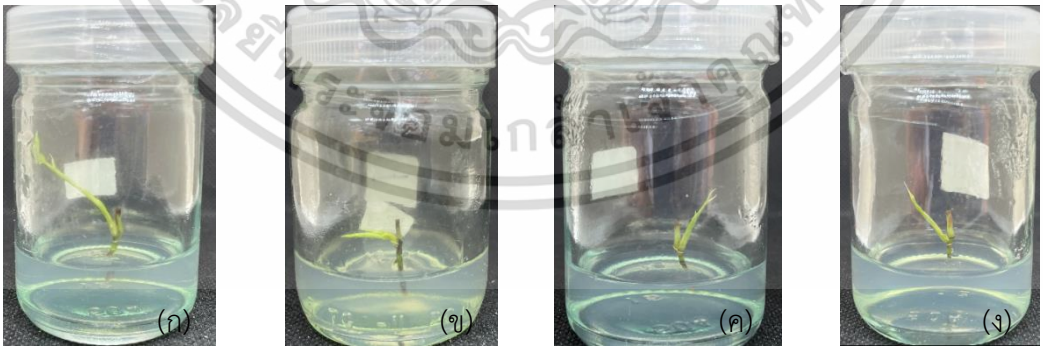
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)		จำนวนยอดเฉลี่ยต่อต้น (ยอด)	จำนวนใบเฉลี่ยต่อยอด (ใบ)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)
Control	0	1.0±0.00	2.25±0.70	1.53±0.75
BA	0.5	0.5±0.57	0.75±0.95	0.66±0.76
	1	0.71±0.48	0.71±0.95	0.59±0.01
	2	1.0±0.00	0.00±0.00	0.47±0.57
	3	0.66±0.51	1.0±0.89	0.70±0.57
TDZ	0.5	1.0±0.00	2.5±0.70	2.20±0.02
	1	0.66±0.57	3.33±0.57	0.94±0.82
	2	1.0±0.00	2.40±0.89	1.08±0.43
	3	0.5±0.54	0.00±0.00	0.63±0.69
*m*T	0.5	1.0±0.00	2.9±0.37	1.66±0.38
	1	1.0±0.00	2.5±0.70	1.77±0.42
	2	1.0±0.00	2.6±0.57	1.38±0.35
	3	1.0±0.00	0.00±0.00	1.58±0.29
IAA	0.5	1.0±0.00	2.5±0.70	1.27±0.68
	1	0.66±0.51	2.0±0.89	1.40±0.69
	2	0.80±0.44	1.6±0.89	0.66±0.76
	3	0.75±0.50	2.0±0.81	0.86±0.76
NAA	0.5	0.90±0.31	1.5±0.70	0.98±0.46
	1	1.0±0.00	1.85±0.89	1.40±0.63
	2	-	-	-
	3	1.0±0.00	2.25±0.5	0.98±0.37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



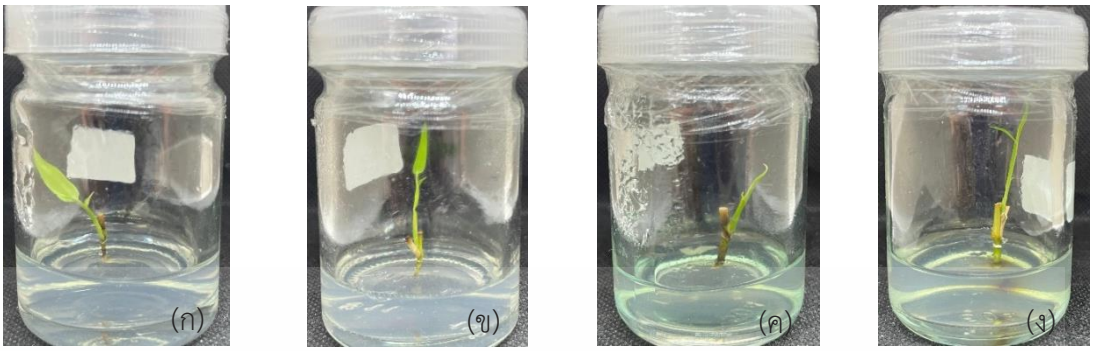
รูปที่ 4.1 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อไผ่หลอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (control) (ก) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ (ก) 2 สัปดาห์ (ข) 3สัปดาห์ (ค) และ 4 สัปดาห์ (ง)

รูปที่ 4.2 ลักษณะของข้อไผ่หลอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 2.0 (ค) และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในสัปดาห์ที่ 4



รูปที่ 4.3 ลักษณะของข้อไผ่หลอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 2.0 (ค) และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในสัปดาห์ที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ลักษณะของข้อไผ่หลอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ *m*T ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ในสัปดาห์ที่ 4

รูปที่ 4.5 ลักษณะของข้อไผ่หลอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ IAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 2.0 (ค) และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในสัปดาห์ที่ 4

รูปที่ 4.6 ลักษณะของข้อไผ่หลอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ในสัปดาห์ที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการนำชิ้นส่วนข้อไผ่หลอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่าใน 4 สัปดาห์ อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลจำนวนยอดเฉลี่ยต่อต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำข้อให้เกิดยอดได้ยาวที่สุด โดยมีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.20±0.02 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างจากสูตรอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ และมีใบจากข้อที่เกิดใหม่ 2.5±0.70 ใบ เมื่อเพาะเลี้ยงต่อเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อไผ่หลอด เพื่อเพิ่มอัตราการรอดชีวิต

5.2.2 ควรมีการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำรากเพิ่มเติม เพื่อที่จะสามารถนำออกปลูกได้

5.2.3 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการใช้อวัยวะส่วนอื่นๆ ของไผ่หลอด เช่น กิ่งแขนง เมล็ด เหง้า และแคลลัส มาชักนำให้เกิดยอดและราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ, ภานุมาศ, ธัญพิสิษฐ์, เยาวพา. 2022. การเพิ่มจำนวนยอดและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของยอดไผ่ซางหม่นที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 50-52

ธัญพิสิษฐ์, สากล. 2558. การศึกษาการเจริญเติบโตของไผ่ที่เกิดจากเมล็ด. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 23 (26), 925-926.

กนกวรรณ ส่งเสริม. 2561. การขยายพันธุ์และปริมาณสารทุติยภูมิของยอดไผ่ซางหม่นในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

วรารัตน์ สุดา. 2021. ผลของ BA และ NAA ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของยอดไผ่บงใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 29(6), 942-944.

วราวุฒิ, วิไลลักษณ์, ภัทรสุดา, อุไรวรรณ, ธนัชพร, บัวหลวง. (2564). ไผ่ทางเลือกสำหรับทดแทนพลาสติกใช้เพียงครั้งเดียวทิ้ง. *วารสารสิ่งแวดล้อม*, 25(1), 9-10.

นันทิกา, โชคพิศิษฐ์. 2562. การเพิ่มจำนวนยอดของไผ่ปักกิ่งโยการเพาะเลี้ยงส่วนข้อ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 6(1), 65-66.

บุญยืน, กัลยา. 2542. การผลิตไผ่ตงจำนวนมากในหลอดทดลอง. *วารสารวิจัย มข*. 5-7.

เยาวพา, นิสา, ธัญพิสิษฐ์. 2553. การเพิ่มจำนวนยอดและชักนำให้เกิดรากของไผ่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. แก่นเกษตร. ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร ณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2545. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อภิศักดิ์ ดวงมณี. 2549. การขยายไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis)* โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. สาขาวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

พงศ์ยุทธ, อภิชาติ, พิทักษ์. 2021. **การขยายพันธุ์พืชด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. (ออนไลน์). สืบค้นเมื่อ 13 มิถุนายน 2566. https://pubhtml5.com/zahj/tvxc/basic/

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Plant Physiology*, 15, 473-497.

Rout, G.R. and Das, P. 1994. Somatic embryogenesis and *in vitro* flowering of 3 species of bamboo. *Plant Cell Reports,* 13, 683–686.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Prutpongde, and Gavinlertvatana 1992. *In vitro* Micropropagation of 54 Species from 15 Genera of Bamboo. *HortScience,* 27(5), 453-454.

Lin Chung-Chin, and Chang Wei-Chin. 2004. Effect of thidiazuron on vegetative tissue-derived somatic embryogenesis and flowering of bamboo *Bambusa edulis*. *Plant cell, Tissue and Organ Culture,* 76, 75-82.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 ตารางสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS (Murashig and Skoog, 1962)

สารเคมี	ปริมาตรที่ใช้ (มิลลิกรัม/ลิตร)
KNO_3	1,900
NA_4NO_3	1,650
$CaCl_2 .2H_2O$	440
$Mg_2PO_4 .7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
$H_3BO_3\ MnSO_4 .4H_2O$	6.2
$ZnSo_4 .7H_2O$	22.3
$KI\ NaMoO_4 .2H_2O$	8.6
$CoCl_2 .6H_2O$	0.83
$CuSO_4 .5H_2O$	0.25
Na_4EDTA	0.025
$FeSO_4 .7H_2O$	37.25
Glycine	27.85
Myo-inositol	2.0
Pyridoxin HCl	100
Nicotinic acid	0.5
Thiamine HCl	0.5
Sucrose	30,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1.ชั่งสารต่าง ๆ ได้แก่ อาหารสังเคราะห์สูตร MS 4.43 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30.0 กรัมต่อลิตร แล้วนำมาละลายน้ำปริมาตรครึ่งหนึ่งของปริมาตรทั้งหมดที่ต้องการเตรียม

2. ปรับปริมาตรอาหารด้วยกระบวกตวงตามปริมาตรที่ต้องการเตรียม

3. แบ่งอาหารใส่บีกเกอร์ตามจำนวนความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องการเตรียม

4.คำนวณปริมาตรของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องการเติมลงในอาหารในแต่ละความเข้มข้นจากสูตรดังนี้

$C_1V_1 = C_2V_2$

C_1 คือ ความเข้มข้นจาก Stock เริ่มต้น

C_2 คือ ความเข้มข้นที่ต้องการเตรียม

V_1 คือ ปริมาตรที่ใช้

V_2 คือ ปริมาตรอาหารทึ่งหมด

เช่น จาก Stock ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร (C_1) ต้องการเตรียม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (C_2) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (V_2)

$C_1V_1 = C_2V_2$

$$\left(\frac{1\text{mg}}{1\text{mL}}\right) V_1 = \left(\frac{0.5\text{mg}}{1{,}000\text{mL}}\right) (1{,}000\text{mL})$$

$$V_1 = \left(\frac{0.5\text{mg}}{1{,}000\text{mL}}\right) (1{,}000\text{mL}) \left(\frac{1\text{mg}}{1\text{mL}}\right)$$

$V_1 = 0.5\ \text{mL} \times 1{,}000 = 500\ \mu\text{L}$

5. ดูดสารควบคุมการเจริญเติบโตจาก Stock แล้วเติมลงในบีกเกอร์ แล้วจึงปรับปริมาตรอาหารด้วยกระบอกตวงตามปริมาณที่ต้องการ

6.นำอาหารไปปรับพีเอชในระหว่าง 5.6 - 5.8

7. เติมวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ลงในบีกเกอร์ แล้วนำไปละลายวุ้นในโครเวฟ 1 – 2 นาที

8. แบ่งใส่ขวดแก้วที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร

9. นำอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

10. นำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อเก็บในห้องสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และสังเกตการปนเปื้อนของอาหารก่อนนำไปใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 21 เดือน มิถุนายน พ.ศ 2566

ข้าพเจ้า นางสาว ชลธิชา ท้วมสุวรรณ์ รหัสประจำตัว 62050481
นาย ไตรรัตน์ ไพจิตร รหัสประจำตัว 62050491
นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชา ชีววิทยา ขอรับรองว่า โครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา เรื่อง
ชื่อภาษาไทย ปัจจัยของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการงอกของไผ่ในสภาวะปลอดเชื้อ
ชื่อภาษาอังกฤษ Influence of Plant Growth Regulators for Regeneration of Bamboo (*Neohouzeaua mekongensis*) by tissue culture
ปีการศึกษา 2565
เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว
โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 9.25%

ลงชื่อ.....ชลธิชา ท้วมสุวรรณ์.....
(นางสาวชลธิชา ท้วมสุวรรณ์)
นักศึกษา

ลงชื่อ.....ไตรรัตน์ ไพจิตร.....
(นายไตรรัตน์ ไพจิตร)
นักศึกษา

ข้าพเจ้า รศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....
(รศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม)
อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้