ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอะโวคาโด (*Persea americana* Miller) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

FACTORS OF AFFECTING *Persea americana* Miller GROWTH USING TISSUES CULTURE

วรรณวิชชา สง่าเมือง

วรรณษา บัวเจริญธาราเวช

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

FACTORS OF AFFECTING *Persea americana* Miller GROWTH USING TISSUES CULTURE

WANWITCHA SA-NGAMUANG

WANNASA BUACHAROENTARAWACH

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

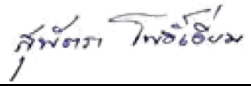
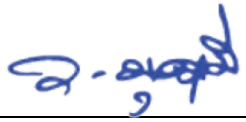
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2023

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอะโวคาโด (*Persea americana* Miller) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Factors of affecting *Persea americana* Miller growth using tissues culture
ชื่อนักศึกษา	นางสาววรรณวิชชา สง่าเมือง รหัสนักศึกษา 63050417 นางสาววรรณษา บัวเจริญธาราเวช รหัสนักศึกษา 63050418
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2566

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอะโวคาโด (*Persea americana* Miller) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชื่อนักศึกษา นางสาววรรณวิชชา สง่าเมือง รหัสนักศึกษา 63050417

นางสาววรรณษา บัวเจริญธาราเวช รหัสนักศึกษา 63050418

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2566

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

การศึกษาปัจจัยที่ผลต่อการเจริญเติบโตของต้นอะโวคาโด (*Persea americana* Miller) ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีจุดประสงค์ในการศึกษากระบวนการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของตาข้าง ศึกษาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อชักนำให้เกิดการสร้างยอดและราก จากการศึกษาพบว่าในการฟอกฆ่าเชื้อของตาข้างที่มีประสิทธิภาพสูงสุดได้รับจากการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อราคาร์เบนดาซิม 5 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ $HgCl_2$ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cefotaxime 0.1 เปอร์เซ็นต์ Antibiotic 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ PPM 0.1 เปอร์เซ็นต์ พบอัตราการปนเปื้อนเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS และ WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วย BAP ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลการเกิดยอดมากที่สุด โดยได้รับจำนวนยอดเฉลี่ย 1.4 ยอดต่อต้น และยังให้ผลการเจริญด้านความยาวของพืชที่มากที่สุด 9.279 ± 4.90 มิลลิเมตร และในการศึกษาการชักนำรากพบว่าไม่เกิดผลของการชักนำรากในการทดลองนี้

คำสำคัญ: อะโวคาโด การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สารควบคุมการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Factors of affecting *Persea americana* Miller growth using tissues culture
Student	Miss Wanwitcha Sa-ngamuang Student ID 63050417
	Miss Wannasa Buacharoentarawach Student ID 63050418
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2566
Adivisor.	Assoc.Prof.Dr. Anurug Poeaim

Abstract

Study of factors affecting the growth of avocado trees (*Persea americana* Miller) by tissue culture. The aim is to study the appropriate disinfection process of the eye. Study of tissue culture formulas and growth regulators to induce shoot and root formation. The study found that the most effective disinfection of the eye was obtained by using the bleaching agent Carbendazim 5 percent, alcohol 75 percent, HgCl2 0.1 percent, along with Cefotaxime 0.1 percent, Antibiotic 0.1 percent, and PPM. 0.1 percent, the contamination rate was only 10 percent. The study results of shoot induction on synthetic MS medium and WPM supplemented with growth regulators BAP and TDZ at different concentrations. It was found that the synthetic WPM formula supplemented with BAP at a concentration of 1.5 milligrams per liter gave the most significant effect on shoot formation with an average number of shoots of 1.4 shoots per plant and had the most excellent effect on plant length growth of 9.279 ± 4.90 mm. In the root induction study, it was found that induction had no effect.

Keywords: *Persea americana* Miller, plant tissue culture, plant growth regulator

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเรื่อง “ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอะโวคาโด *(Persea americana* Miller*)* ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ” ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามจุดประสงค์ที่ได้ตั้งไว้ด้วยดี คณะผู้จัดทำได้รับความกรุณาในการช่วยเหลือ และการให้คำปรึกษาจากผู้มีพระคุณหลายท่าน

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาในการทำโครงงานพิเศษ ผู้ให้คำปรึกษา เสนอแนวทางแก้ไข ให้กำลังใจและประสบการณ์ที่ดีกับคณะผู้จัดทำ ตลอดจนสนับสนุนในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้จนประสบความสำเร็จ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษ และขอขอบพระคุณ ดร.วิมลมาศ บุญมี ที่ร่วมเป็นกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าเพื่อมาเป็นคณะกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษ รวมทั้งชี้แนะแนวทางการแก้ไขปัญหาและช่วยตรวจสอบความถูกต้องเพื่อให้โครงงานพิเศษฉบับนี้สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกสารเคมีและอุปกรณ์ในการทำโครงงานพิเศษ และขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ธุรการ เจ้าหน้าที่อาคารและสถาบันที่คณะวิทยาศาสตร์ และทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวนาม ณ ที่นี้ ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ครอบครัว และญาติมิตร ด้วยความเคารพรักอย่างยิ่งสำหรับคำปรึกษาและกำลังใจที่ดีมาโดยตลอด รวมถึงเพื่อน และพี่ที่ให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือตลอดการทดลองจนกระทั่งโครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จมา ณ โอกาสนี้

วรรณวิชชา สง่าเมือง

วรรณษา บัวเจริญธาราเวช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่จะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 อะโวคาโด	3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอะโวคาโด	3
2.1.1.1 ต้น	3
2.1.1.2 ใบ	3
2.1.1.3 ดอก	4
2.1.1.4 ผล	4
2.1.2 ประโยชน์ของอะโวคาโด	5
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	5
2.2.1 หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	5
2.2.2 องค์ประกอบอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	6
2.3 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช	7
2.4 ประโยชน์การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	7
2.4.1 การขยายพันธุ์พืช	7
2.4.2 การเก็บรักษาพันธุ์พืช	8
2.4.3 การผลิตพืชปราศจากโรค	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.4 งานด้านการสร้างสายพันธุ์..... 8
2.4.5 การคัดเลือกสายพันธุ์..... 8
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 8
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย..... 11
3.1 ตัวอย่างพืชที่ใช้ศึกษา..... 11
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี..... 11
3.2.1 สารเคมี..... 11
3.2.2 เครื่องแก้วและอุปกรณ์..... 12
3.2.3 เครื่องมือ..... 12
3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 13
3.3.1 การศึกษากระบวนการฟอกฆ่าเชื้อตาข้างอะโวคาโดต่ออัตราการปนเปื้อนเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย..... 13
3.3.2 ศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดยอดใหม่..... 13
3.3.3 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมกับการชักนำให้เกิดราก..... 14
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... 16
4.1 ผลการศึกษากระบวนการฟอกฆ่าเชื้อตาข้างอะโวคาโดต่ออัตราการปนเปื้อนเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย..... 16
4.2 ผลศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดยอดใหม่..... 17
4.2.1 ผลการเกิดยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงต้นอะโวคาโด..... 17
4.2.2 ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของพืช..... 21
4.3 ผลของการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก..... 24
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 25
5.1 สรุปผลการวิจัย..... 25
5.2 ข้อเสนอแนะ..... 25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

เอกสารอ้างอิง..... 26
ภาคผนวก..... 28
ภาคผนวก ก..... 29
ภาคผนวก ข..... 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร WPM และ MS.....	15
3.2	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อการชักนำให้เกิดรากในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร WPM.....	15
4.1	แสดงอัตราการปนเปื้อนและอัตราการปลอดเชื้อของพืชจากการฟอกฆ่าเชื้อทั้งหมด 3 วิธีการโดยเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นระยะเวลา 30 วัน.....	16
4.2	แสดงจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนพืชหลังจากเพาะเลี้ยง 45 วัน บนอาหารสูตร MS และสูตร WPM ในความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	18
4.3	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ.....	22
4.4	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ.....	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอะโวคาโด (ก) ต้น (ข) ใบ (ค) ดอก (ง) ผล.....	4
4.2	แสดงลักษณะที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM และ MS ที่ไม่เสริมสารควบคุมการที่ไม่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต.....	19
4.3	แสดงลักษณะการเกิดยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นอะโวคาโดในช่วง 45 วัน ในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP.....	19
4.4	แสดงลักษณะการเกิดยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นอะโวคาโดในช่วง 45 วัน ในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ.....	20
4.5	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของยอดจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ WPM และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP.....	22
4.6	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของยอดจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ WPM และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ.....	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
BAP	6-Benzylaminopurine
TDZ	N-phenyl-N-1,2,3-thiadiazol-5-yl urea
IBA	Indole-3-butyric acid
MS	Murashige and Skoog medium
WPM	Woody Plant Medium
$HgCl_2$	Mercury Chloride
PPM	Plant Preservative Misture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1. ความเป็นมาและความสำคัญ

อะโวคาโด (*Persea americana* Miller) มีชื่อเรียกท้องถิ่นในไทยว่า ลูกเนย จัดเป็นพืชดอกอยู่ในวงศ์ Lauraceae พืชในวงศ์นี้เป็นที่รู้จักในไทยได้แก่ อบเชย กระวาน และเบย์ลอเรล (bay laurel) อะโวคาโดเป็นพืชเมืองดั้งเดิมของชนเผ่า Mesoamerica มากกว่า 10,000 ปี ซึ่งมีถิ่นกำเนิดมาจากทวีปอเมริกากลางทางตอนใต้และมีการกระจายการปลูกอย่างแพร่หลายในหลายปีต่อมา การจำแนกเผ่าตระกูลของอะโวคาโดนั้นได้นำสภาพพื้นที่มาเป็นเกณฑ์ในการแบ่งซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ตระกูล ได้แก่ตระกูลเม็กซิกัน เป็นตระกูลที่มาจากพื้นที่สูงเหมาะกับการปลูกในที่มีอากาศที่หนาวเย็น ตระกูลกัวเตมาลามาจากแหล่งที่มีสภาพอากาศกึ่งร้อนกึ่งหนาวเหมาะกับการปลูกในเขตที่มีความสูงระดับน้ำทะเลต่ำกว่า 1,000 เมตร และตระกูลเวสท์อินเดียนเหมาะแก่การปลูกในพื้นที่ต่ำมีอากาศร้อน ซึ่งประเทศไทยเหมาะแก่การเจริญเติบโตของอะโวคาโดทั้ง 3 ตระกูล การปลูกอะโวคาโดในไทยเริ่มขึ้นโดยชาวมิชชันนารีที่นำมาปลูกที่จังหวัดน่านเป็นที่แรกซึ่งทางภาคเหนือของไทยนั้นให้ผลในการเพาะปลูกได้ดีมีการแพร่กระจายปลูกในหลายที่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งการพาะปลูกอะโวคาโดเป็นที่สนใจต่อเกษตรกรไทยอย่างมากเพราะเป็นพืชที่เจริญเติบโตเร็ว ไม่พลัดใบให้ใบเขียวตลอดทั้งปี ให้ผลที่ดกและอายุยืนมีคุณประโยชน์ทางสารอาหารสูงจึงเป็นสาเหตุหลักของความต้องการทั้งในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศ (ขวัญหทัย, 2567)

อะโวคาโดถือเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูงไม่ว่าจะเป็นเนื้อผลของอะโวคาโดเองที่ประกอบไปด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวประมาณ 4-20% ซึ่งตามแต่ละสายพันธุ์โดยร้อยละ 70 นั้นเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวหรือ Monounsaturated Fatty acid กรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดนี้จะช่วยลดปริมาณ LDL-cholesterolและเพิ่มปริมาณ HDL-cholesterol ในเลือดทำให้ช่วยลดปริมาณไขมันในเส้นเลือดและมีประโยชน์ต่อการป้องกันโรคหัวใจ มีปริมาณโปรตีนสูงน้ำตาลและคาร์โบไฮเดรตที่ต่ำ อุดมไปด้วยแร่ธาตุและสารอาหารที่จำเป็นสำหรับร่างกายไม่ว่าจะเป็นโซเดียม โพแทสเซียม โฟเลต นอกจากผลของอะโวคาโดที่ให้คุณประโยชน์แล้วนั้นยังมีการพัฒนาเพื่อผลิตเป็นน้ำมันอะโวคาโด (Avocado oil) ซึ่งสกัดมาจากเนื้อผลของอะโวคาโดประกอบไปด้วยวิตามินอี กรดไขมัน linoleic และ oleic phytosterol ไขมันที่อยู่ในอะโวคาโดช่วยในการดูดซึมคาโรทีนอยด์ที่ช่วยต่อต้านโรคภัยไข้เจ็บต่างๆได้สามารถใช้ประโยชน์ในการนำไปปรุงอาหารหรือการใช้นวดตามจุดของร่างกายเพื่อผ่อนคลาย (ขวัญหทัย, 2567)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะปลูกอะโวคาโดในไทยพบว่ายังมีปัญหาในด้านการขยายพันธุ์ ซึ่งการนำเมล็ดมาเพาะปลูกมีผลทำให้เกิดการแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงเกิดความไม่แน่นอนในการขยายพันธุ์ในบางต้นพบลักษณะดีกว่าหรือด้อยกว่าสายพันธุ์แม่รวมถึงในด้านการให้ผลผลิตอาจได้ผลไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นวิธีการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นวิธีการขยายพันธุ์เพื่อให้ได้ผลผลิตของต้นอะโวคาโดในจำนวนมากใช้ระยะเวลาสั้นและได้ต้นกล้าที่มีคุณภาพสม่ำเสมอกัน (จิตอาภา, 2563) ดังนั้นโครงงานพิเศษนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโปรโตคอลการขยายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อต้นอะโวคาโดโดยใช้เนื้อเยื่อเจริญในส่วนของตาข้างของต้นอะโวคาโดสายพันธุ์บัคคาเนีย และศึกษาชนิดของอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP TDZ และ IBA ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากเพื่อเป็นประโยชน์ในการขยายพันธุ์ของต้นอะโวคาโดอย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็วในอนาคต

1.2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษากระบวนการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของตาข้างอะโวคาโด

1.2.2 เพื่อศึกษาสูตรของอาหารและสารความคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอด

1.1.3 เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารความคุมการเจริญเติบโต IBA ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก

1.3. ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษากระบวนการฟอกฆ่าเชื้อตาข้างอะโวคาโดที่เหมาะสมเพื่อระบุอัตราการปลอดเชื้อ

1.3.2 ศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ในความเข้มข้นต่างกันที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของต้นอะโวคาโดสายพันธุ์บัคคาเนีย

1.3.3 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ IBA เพื่อระบุความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากของต้นอะโวคาโดสายพันธุ์บัคคาเนีย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงชนิดอาหาร ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงที่หมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากของอะโวคาโดสายพันธุ์บัคคาเนีย

1.4.2 สามารถระบุวิธีที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชได้มีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อะโวคาโด (สำนักงานเกษตรและสหกรณ์ จังหวัดน่าน, 2563)

อะโวคาโดเป็นพืชพื้นเมืองอเมริกาแถบเม็กซิโก เป็นไม้ยืนต้นและไม่ผลัดใบลักษณะลำต้นมีเปลือกสีน้ำตาลอ่อน ผิวขรุขระ ใบสีเขียวสด ดอกขนาดเล็กมีสีเขียวอมเหลือง ต้นโตเต็มวัยจะมีความสูงประมาณ 18 เมตร ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Persea Americana* Mill.

มีลำดับอนุกรมวิธานดังนี้ (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2567)

Kingdom Plantae

Phylum Tracheophyta

Class Magnoliopsida

Oder Laurales

Family Lauraceae

Genus *Persea* Mill

Species *Persea americana* Mill

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาตร์ของอะโวคาโด (มูลนิธิโครงการหลวงและสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง)

2.1.1.1 ต้น อะโวคาโดเป็นไม้ผลยืนต้น ต้นโตเต็มที่สูง 6-8 เมตร เปลือกของลำต้นมีลักษณะขรุขระสีน้ำตาลอ่อน ทรงต้นมีลักษณะแตกต่างกันทั้งทรงต้นตรงและทรงต้นอวบใหญ่หรือจนกระทั่งเป็นทรงพุ่มเตี้ยหรือลำต้นเล็ก (รูปที่ 2.1 ก) เป็นไม้เนื้ออ่อนมีกิ่งเปราะ

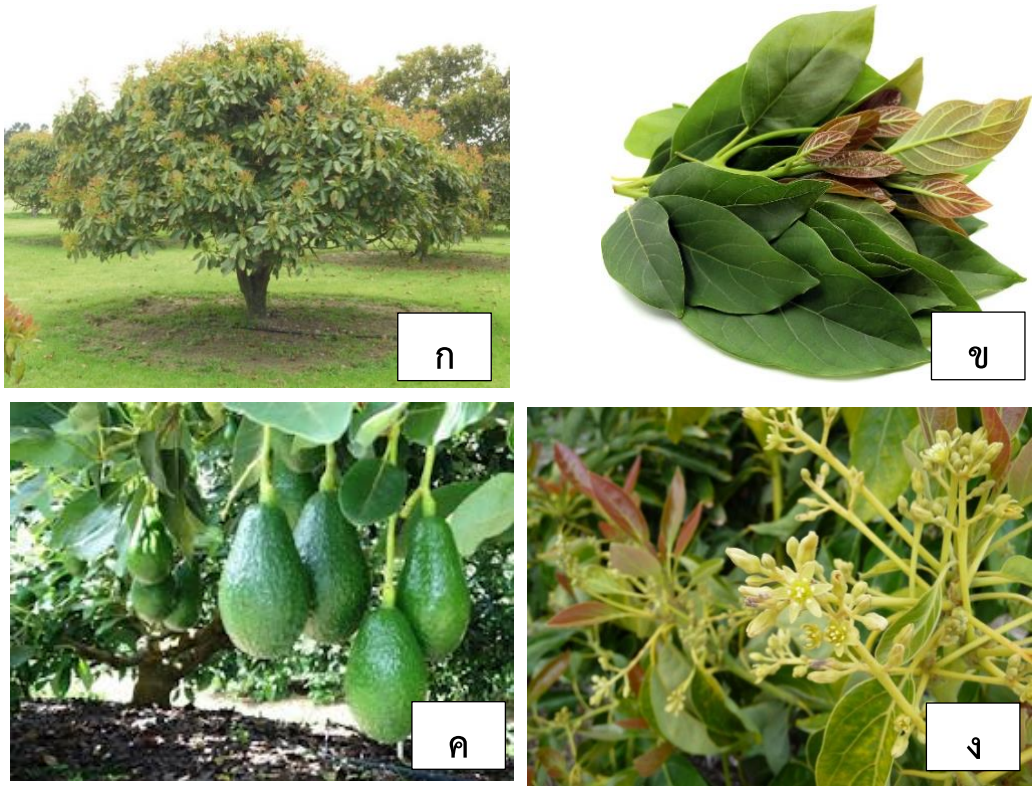
2.1.1.2 ใบ มีลักษณะใบเดี่ยว มีสีเขียวสด เรียงสลับบนกิ่ง ก้านใบสั้น รูปใบยาว ปลายใบเรียวแหลมถึงแหลมป้าน ด้านบนของใบมีสีเขียวเข้มเป็นมันและด้านล่างมีสีที่จางกว่า (รูปที่ 2.1 ข) ซึ่งใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะเรียงกันอยู่อย่างหนาแน่นที่ส่วนปลายของกิ่ง โดยขนาดของใบจะยาว 8-40 เซนติเมตร และกว้างประมาณ 5-18 เซนติเมตร และก้านใบมีความยาว 3-8 เซนติเมตร

2.1.1.3 ดอก ดอกของอะโวคาโดจะออกเป็นช่อตรงปลายกิ่งซึ่งช่อดอกจะมีลักษณะแบบ Panicle คือมีดอกเป็นจำนวนมากแต่ละดอกมีขนาดเล็ก สีเขียวอมเหลือง ก้านชูดอกสั้น ดอกประกอบด้วยกลีบดอกและกลีบรองอย่างละ 3 กลีบ แยกจากกันและมีลักษณะรูปร่างคล้ายกัน ความยาว 4-5 มิลลิเมตร (รูปที่ 2.1 ค)

2.1.1.4 ผล ผลอะโวคาโดเป็นผลแบบเดี่ยวมีรูปร่างหลายลักษณะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ เช่น รูปร่างแบบผลฝรั่ง ผลรูปไข่ ผลกลม หรือผลยาวคล้ายกับมะเขือยาว สีผิวของผลมีทั้งสีเขียว สีเขียวปนเหลืองหรือสีม่วง โดยผิวอาจจะเรียบหรือขรุขระ (รูปที่ 2.1 ง) เปลือกมีความหนา บาง เหนียวหรือเปราะซึ่งแล้วแต่พันธุ์ เนื้อผลมีสีเหลืองอ่อนจนถึงเข้มมี เมล็ดขนาดใหญ่และลักษณะแตกต่างกันไป



รูปที่ 2.1 ลักษณะทางพฤษศาตร์ของอะโวคาโด (ก) ต้น (ข) ใบ (ค) ผล (ง) ดอก

(ที่มา: https://xn--42c6a3cxapo3id.blogspot.com/2016/12/blog-post.html)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ประโยชน์ของอะโวคาโด

เนื้อผลของอะโวคาโดประกอบด้วยไขมันชนิดไม่อิ่มโดยร้อยละ 70 จะเป็นไขมันไม่อิ่มตัวชนิด monounsaturated fatty acid ช่วยลดปริมาณ LDL- cholesterol และเพิ่มปริมาณ HDL-cholesterol มีประโยชน์ในการป้องกันโรคหัวใจ และมีสรรพคุณด้านวิตามินประกอบด้วย วิตามินเอ วิตามินบี และวิตามินซี โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินอีซึ่งเป็นแหล่งของสาร antioxidant ป้องกันร่างกายจากเซลล์มะเร็งต่างๆและโรคหัวใจในผู้ใหญ่ อะโวคาโดมีผลในการลดอัตราการเกิดโรคเบาหวานได้เพราะอะโวคาโดมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำและน้ำตาลหลักในอะโวคาโดคือ D-mannoheptulose ซึ่งเป็นน้ำตาล 7 คาร์บอนที่มีคุณสมบัติช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและยังมีสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิค (polyphenolic antioxidants) ในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของอินซูลินผ่านหลายกลไก เช่น ลดระดับน้ำตาลในเลือดหลังอาหาร (postprandial glucose) และควบคุมการนำพาน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังให้พลังงานสูงแต่น้ำตาลต่ำ โปรตีนสูงและย่อยง่าย อุดมไปด้วยแร่ธาตุที่สำคัญ ได้แก่ โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส และแมงกานีส และมีใยอาหารสูงเป็นประโยชน์ต่อระบบขับถ่าย (ชฎาพร, 2567)

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Plant Tissue Culture) คือการขยายพันธุ์ของพืชโดยการเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชที่ต้องการมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วย แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตซึ่งในการเพาะเลี้ยงดำเนินอยู่ในสภาพที่ปลอดเชื้อและยังควบคุมสภาวะต่างๆทั้งอุณหภูมิ การให้แสงและความชื้น ชิ้นส่วนของพืชที่เพาะเลี้ยงนั้นจะเจริญเติบโตและพัฒนาเช่นเกิดเป็นยอด เกิดเป็นราก หรือแคลลัส (อารยา, 2567)

2.2.1 หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นใช้หลักการของ “Cell totipotency” โดยพืชนั้นมีคุณสมบัติที่เซลล์ทุกเซลล์สามารถเจริญให้เกิดเป็นอวัยวะหรือพัฒนาจนเกิดเป็นต้นกล้าต้นใหม่ได้เมื่ออยู่ในสภาพชักนำที่เหมาะสม ซึ่งจากหลักการนี้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงสามารถนำชิ้นส่วนของพืช (explant) ตั้งแต่ในระดับโปรโตพลาสต์ เซลล์ แคลลัส หรือในส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ (Meristem culture) ต่างๆก็สามารถชักนำให้เกิดพืชต้นใหม่ได้ และเนื่องจากอวัยวะของพืชนั้นประกอบด้วยเนื้อเยื่อและเซลล์ที่มีรูปแบบในการพัฒนาที่แตกต่างกันไปซึ่งถูกกำหนดจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการแม้จากตัวเองพืชเอง ดังนั้นจึงต้องกำหนดปัจจัยในการเพาะเลี้ยงให้เป็นไปตามแนวทางที่ต้องการเช่นชนิดอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต สภาวะในการเพาะเลี้ยง เป็นต้น (ณัฏฐากร, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 องค์ประกอบอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 2 สูตรได้แก่ Murashige and Skoog medium (MS) และ Woody Plant Medium (WPM) มีส่วนประกอบของอาหารดังนี้

2.2.2.1 สารอนินทรีย์ (Inorganic compounds) ได้แก่ ธาตุอาหารหลักคือ ธาตุอาหารที่พืชจำเป็นต้องใช้ในปริมาณมาก เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม กำมะถัน แคลเซียม แมกนีเซียม และธาตุอาหารรองหรือธาตุอาหารที่พืชจำเป็นต้องใช้ในปริมาณน้อย เช่น เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง โมลิบดีนัม โบรอน ไอโอดีน โคบอล คลอรีน

2.2.2.2 สารประกอบอินทรีย์ (Organic compounds) ซึ่งเป็นสารที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน (C) ไนโตรเจน (N) และออกซิเจน (O) ได้แก่วิตามิน (Vitamins) ช่วยในการเสริมสร้างการเจริญของพืชโดยที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้แก่ วิตามิน B1 (Thiamine), วิตามิน B2 (Riboflavin), วิตามิน B6 (pyridoxine), กลุ่มวิตามิน Bรวม (inositol), วิตามิน C (Ascorbic acid) และไนอะซิน (Nicotinic Acid)

2.2.2.3 แหล่งคาร์บอน ชิ้นส่วนพืชในขวดทดลองจำเป็นต้องใช้สารประกอบคาร์บอนและสารให้พลังงานได้แก่ น้ำตาล โดยจะใช้ปริมาณ 20-30 กรัมต่อลิตร ซึ่งนิยมใช้ซูโครสเนื่องจากเห็นผลได้ดี

2.2.2.4 กรดอะมิโน กรดอะมิโนนั้นจะใช้ในกรณีที่มีสารอินทรีย์ไม่เพียงพอเท่านั้น ซึ่งอาจเติมเคซีน ไฮโดรไลเซท (Casein Hydrolysate), ไกลซีน (Glycine), แอล กลูตามีน (L-glutamine) เป็นต้น

2.2.2.5 ฮอร์โมนและสารควบคุมการเจริญเติบโต (Plant hormone, plant growth regulators) ได้แก่ สารในกลุ่มออกซิน (Auxins), สารในกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) เป็นต้นซึ่งจะช่วยในการเจริญเติบโตของพืชโดยสารควบคุมการเจริญของพืชแต่ละชนิดมีผลต่อเนื้อเยื่อแตกต่างกันและจะใช้ในการปริมาณที่น้อยในหน่วยไมโครลิตร (µl) (ทวีศักดิ์ แสงอุดม, 2559)

(1) สารในกลุ่มออกซิน (Auxins) สารออกซินชนิดแรกที่ค้นพบคือ IAA (Indole-3-acetic acid) ซึ่งเป็นสารที่พืชสร้างขึ้นเองจากกลุ่มเซลล์เนื้อเยื่อบริเวณยอดอ่อนโดยมีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยืดตัวของเซลล์ พบมากในส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญ เช่น ตายอด, ปลายราก, ยอดอ่อน, ตา, ผลอ่อน หรือ ในส่วนต่างๆของพืชที่กำลังเจริญเติบโต มีผลในการยับยั้งการเจริญของตาข้างและกระตุ้นการเกิดรากได้ ออกซินชนิดสังเคราะห์ที่มนุษย์ผลิตขึ้นใช้เองมีหลายชนิดที่นิยมใช้คือ NAA (Naphthyl Acetic Acid), IBA (Indole-3-Butyric Acid), 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) สารในกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) แหล่งที่มีการสังเคราะห์ไซโตไคนินในพืชที่สำคัญ คือ รากโดยเฉพาะปลายรากโดยพืชจะลำเลียงไซโตไคนินขึ้นไปด้านบนผ่านทางท่อท่อลำเลียง (Xylem) ไซโตไคนินเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช ชะลอการแก่ชราและกระตุ้นการแตกตาข้าง พบมากในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญและในคัพภะ embryo) ส่วนใหญ่แล้วไซโตไคนินมีการเคลื่อนย้ายน้อย แต่มีคุณสมบัติสำคัญในการดึงสารอาหารต่าง ๆ มายังแหล่งที่มีไซโตไคนินสะสมอยู่ ไซโตไคนินที่พบในพืชได้แก่ ซีอาติน (zeatin) และชนิดสังเคราะห์ที่มนุษย์ผลิตขึ้น เช่น BAP (6-benzylaminopurine), KN (6-furfurylaminopurine)

(3) เอทิลีน (Ethylene) เป็นก๊าซชนิดหนึ่งรวมถึงเป็นฮอร์โมนพืชด้วยเนื่องจากพืชสามารถสร้างขึ้นมาได้ เอทิลีนสร้างมากในส่วนของพืชที่เข้าสู่ระยะชราภาพ เช่น ในผลแก่และใบที่ร่วงหลุด เอทิลีนมีผลเกี่ยวข้องกับการแก่ชรา การสุก การร่วงหลุดของใบ ดอก และผล การงอกของดอกหัวและเมล็ดในพืชบางชนิด

(4) จิบเบอเรลิน (Gibberellins) สารกลุ่มนี้มีผลเกี่ยงข้องกับการยืดตัวของเซลล์ (cell elongation) ช่วยในการขยายขนาดผลกระตุ้นการงอกของเมล็ด กระตุ้นการออกดอกและควบคุมการเกิดเพศในดอกของพืชบางชนิด พืชมีการสังเคราะห์จิบเบอเรลินขึ้นจากส่วนของใบอ่อน ผลอ่อน และต้นอ่อน

(5) กรดแอบไซซิก (Abscisic acid) เป็นสารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นได้ในทุกส่วนของต้นพืช กระตุ้นการหลุดร่วงของใบและผลแก่ ยับยั้งการเจริญเติบโตและการยืดตัวของเซลล์บริเวณตาข้าง รวมไปถึงยับยั้งการงอกของเมล็ด การแตกใบอ่อน และการเปิดออกของปากใบ (Stomata) ส่งผลให้พืชสามารถทนทานต่อสภาพอากาศแห้งจัดหรืออยู่ในภาวะขาดน้ำได้ยาวนานขึ้น

(6) สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ เช่น น้ำมะพร้าว สารสกัดจากยีสต์ น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำคั้นมะเขือเทศ มอลท์สกัด กล้วยหอมบด เป็นแหล่งธาตุอาหารและฮอร์โมนพืชในการชักนำให้พืชสร้างอวัยวะต่างๆ

2.3 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช (Surface sterilization) เป็นวิธีการทำให้ชิ้นส่วนของพืชที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ปลอดเชื้อปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ โดยอาจใช้สารเคมี เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ แอลกอฮอล์ หรือ สารเคมีอื่นๆ นอกจากนั้นอาจใช้ความร้อนซึ่งนิยมใช้กับเมล็ดซึ่งมีส่วนที่แข็งแรงปกป้องเนื้อเยื่อไม่ให้โดนทำลายจากความร้อน (อารีย์, 2545)

2.4 ประโยชน์การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.4.1 การขยายพันธุ์พืช (Micropropagation) การนำเทคโนโลยีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไปใช้ประโยชน์ทางด้านการขยายพันธุ์พืชให้ได้ต้นปลอดโรคเป็นจำนวนมากอย่างรวดเร็ว (rapid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

asexual propagation) สามารถผลิตต้นพันธุ์ได้ตลอดปีซึ่งเมื่อนำไปปลูกจะได้ต้นลักษณะเหมือนเดิมทุกประการและให้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี (อรดี, 2567)

2.4.2 การเก็บรักษาพันธุ์ (Preservation) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำไปใช้สำหรับงานการเก็บรักษาพันธุ์พืช หรือการอนุรักษ์พันธุ์ได้เป็นอย่างดี การเก็บรักษาท่อนพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถช่วยประหยัดค่าใช้จ่าย แรงงาน และพื้นที่ได้มาก และยังสามารถใช้เก็บได้ในระยะยาว โดยเก็บในสภาพอุณหภูมิต่ำที่ -196 องศาเซลเซียส ซึ่งเรียกว่า cryopreservation วิธีนี้ได้รับความนิยมมากขึ้นในปัจจุบันโดยเฉพาะการทำ gene bank

2.4.3 การผลิตพืชปราศจากโรค (Disease-free plant) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิยมใช้สำหรับการผลิตพืชปราศจากโรค โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากไวรัสซึ่งยากแก่การกำจัดให้หมดไปจากชิ้นส่วนพืชโดยไวรัสจะถูกลำเลียงผ่านทางท่อลำเลียงน้ำและอาหาร ชิ้นส่วนพืชในส่วนของปลายยอดและเนื้อเยื่อคัพภะไม่มีโครงสร้างของท่อลำเลียงน้ำและอาหารจึงเป็นส่วนที่ปลอดไวรัส พืชที่ปราศจากโรคนอกจากมีความแข็งแรงและให้ผลผลิตสูงขึ้นแล้วยังเหมาะสำหรับการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชอีกด้วย

2.4.4 งานด้านการสร้างสายพันธุ์ (Breeding) เพื่อใช้ในการสร้างสายพันธุ์ใหม่ ซึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) การสร้างพืชที่มีจำนวน โครโมโซมชุดเดียว (haploid) หรือหลายชุด (polyploid) สร้างพืชลูกผสมทั้งในสกุลเดียวกันและต่างสกุลและยังเป็นเครื่องมือในการสร้างสายพันธุ์แท้ (pure line) ได้อีกด้วย

2.4.5 การคัดเลือกสายพันธุ์ (Selection) การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกสายพันธุ์ทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น การคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนต่อสภาพแวดล้อม เช่น สายพันธุ์ทนเค็ม สายพันธุ์ทนแล้ง สายพันธุ์ทนโรคและแมลงได้อย่างมีประสิทธิภาพและประหยัดทั้งพื้นที่ แรงงาน ตลอดจนเงินทุน

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Gross and Partiner (1984) ได้ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดจากชิ้นส่วนข้อของอะโวคาโด (*Persea americana* Mill) จากต้นที่มีอายุ 10 ปีหรือแก่กว่า เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวและร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาร์จีนีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยควบคุมสภาวะในห้องควบคุมแสงและอุณหภูมิ ให้แสงสว่างที่ 16 ชั่วโมงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาวเย็น และควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่าในการชักนำให้เกิดยอดนั้นเริ่มมียอดที่ 1.5 ยอดต่อต้น ใน 6 สัปดาห์หลังการเริ่มเพาะเลี้ยง ซึ่งผลที่ดีที่สุดของการเกิดจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนพืชได้รับจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเพาะเลี้ยงที่มีอาร์จีนีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และเสริมด้วย BAP และ NAA ความเข้มข้น 2.0 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของจำนวนยอดอาจเกิดจากผลของไซโตไคนิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเติมในความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งจะควบคุมการเพิ่มจำนวนยอด การแบ่งเซลล์ และการเกิดกระบวนการปลี่ยนแปลงสภาพ (differentiation)

Barrera-Guerra (1994) ได้ทำการศึกษาวิจัยการขยายพันธุ์อะโวคาโดในหลอดทดลองโดยใช้สายพันธุ์ *Persea drymifolia* Ness โดยเลือกใช้ชิ้นส่วนพืช 2 ชนิดคือปลายยอดและปลายยอดอ่อน นำปลายยอดมาล้างในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่มีโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 20 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ Tween-20 เป็นเวลา 30 นาที โดยมีการกวนเป็นระยะจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อและนำไปใส่ในน้ำกลั่นที่เติมด้วยเบนเลตเป็นเวลา 30 นาทีและกวนเป็นระยะ เมื่อครบเวลาชิ้นส่วนพืชจะถูกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 20 เปอร์เซ็นต์ อีกครั้งเป็นเวลา 10 นาที และตามด้วยการล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้ออีก 4 ครั้งเป็นขั้นตอนสุดท้าย ชิ้นส่วนพืชถูกตัดจนเหลือประมาณ 4-5 เซนติเมตร ก่อนนำไปลงอาหาร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิดคือ อะดีนีนซัลเฟต 80 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน โดยมีการควบคุมความสว่างอยู่ที่ 16 ชั่วโมงและความมืด 8 ชั่วโมง และปลายยอดอ่อนถูกนำมาทดลองการชักนำให้เกิดรากโดยทำการฟอกฆ่าเชื้อวิธีเดียวกับปลายยอด หลังจากการฆ่าเชื้อนักวิจัยได้ทำการนำเอาชิ้นส่วนพืชปลูกลงในอาหาร MS ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตรที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชสองชนิดคือ IBA มิลลิกรัมต่อลิตร และ KN 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วันโดยมีการควบคุมความสภาวะเช่นเดียวกัน การศึกษาครั้งนี้ได้บทสรุปว่า ปลายยอดอ่อนมีการแตกหน่อและการชักนำรากที่ดีกว่าเมื่อปลูกในอาหารเพาะเลี้ยง MS ที่เสริมด้วย IBA

Hiba et al. (2021) ในการศึกษาครั้งนี้นักวิจัยได้นำชิ้นส่วนพืชสองชนิดคือ ตาข้างและปลายยอด มาทำการฆ่าเชื้อโดยนำมาล้างผ่านน้ำประปาที่ไหลตลอดเวลาเป็นเวลา 5 นาที ล้างฆ่าเชื้อด้วยไฮโปคลอไรต์ 2.5เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาทีจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 3 ครั้งและล้างด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 วินาที และล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้ออีกสามครั้ง จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชไปวางบนอาหารเพาะเลี้ยงโดยในการศึกษาครั้งนี้นักวิจัยได้ใช้อาหารเพาะเลี้ยง 2 ประเภท คือ MS และ WPM ซึ่งอาหารจะถูกเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิดได้แก่ TDZ KN และ BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยผลการทดลองพบว่าการกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงคือ WPM มีประสิทธิภาพในการเกิดยอดใหม่มากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้อาหาร MS นอกจากนี้การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP มีประสิทธิภาพมากกว่า TDZ และ KN ในแง่ของการกระตุ้นการเจริญเติบโตของยอด

Ravindra et al. (2020) ทำการศึกษาการแตกยอดของ *Cryptocarya stocksii* โดยการนำมาเมล็ดมาเพาะให้เกิดยอดแรกเริ่มก่อน ทำการฆ่าเชื้อเมล็ดด้วยสารละลาย $HgCl_2$ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 นาทีแล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อจำนวน 3 ครั้ง เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วยที่ผสม TDZ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 20 วัน จากนั้นนำส่วนของปมใบเลี้ยงที่ได้มาชักนำให้เกิดการแตกยอดด้วยการเพาะเลี้ยงลงในอาหาร MS ที่เสริมด้วย TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA_3 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรและ Activated charcoal (AC) 0.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลการแตกของยอดได้มากที่สุด และทำการทดลองอีกหนึ่งขั้นตอนเพื่อเพิ่มการยืดยาวของยอดโดยพบว่าการให้ความยาวที่ดีที่สุด (53 เปอร์เซ็นต์) ได้มาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย BAP 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ KN 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลความยาวเฉลี่ย 3.6 ± 0.05 เซนติเมตร

Tilahun et al. (2020) งานวิจัยนี้ทำการศึกษาหาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมกับอะโวคาโด 3 สายพันธุ์โดยใช้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญตาข้างและเนื้อเยื่อเจริญตาปลาย ขั้นแรกศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมโดยพบว่าการฆ่าเชื้อด้วย tween-20 ร่วมกับยาฆ่าเชื้อรา 1 เปอร์เซ็นต์ เขย่าเป็นเวลา 5 นาทีจากนั้นฆ่าเชื้อต่อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที และโซเดียไฮโปคลอไรท์ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ นั้นให้ผลการฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุดโดยพบการปนเปื้อนเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ และผลการศึกษาการแตกยอดของต้นอะโวคาโด 3 สายพันธุ์ให้ผลดังนี้ สายพันธุ์อาร์บามินช์ ชาโน มิลล์ ได้ผลดีที่สุดกับสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย IBA 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร สายพันธุ์พันธุ์เทปปีได้ผลดีที่สุดกับสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย BAP 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร และสายพันธุ์นธุ์บูตาจิราได้ผลดีที่สุดกับสูตร MS ที่เสริมด้วย BAP 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร สรุปได้ว่าสูตรอาหารที่มีประสิทธิภาพในการแตกยอดแตกต่างกันไปตามพันธุ์อะโวคาโด ส่วนการชักนำการเกิดรากพบว่า สูตรอาหารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดของพันธุ์อาร์บามินช์ ชาโน มิลล์ และพันธุ์เทปปี คือสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย IBA 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนพันธุ์บูตาจิราคือสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย BAP 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างพืชที่ใช้ศึกษา

อะโวคาโดสายพันธุ์บัคคาเนีย (*Persea Americana* Mill) ได้รับการอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 สารเคมี

3.2.1.1 น้ำยาล้างจาน (Dishwasher)

3.2.1.2 น้ำกลั่น (Distilledwater)

3.2.1.3 น้ำประปา (Tap water)

3.2.1.4 อาหารสังเคราะห์ MS (Murashige and Skoog, 1962)

3.2.1.5 อาหารสังเคระห์ WPM (Woody Plant Medium, 1981)

3.2.1.6 น้ำตาลซูโครส (Sucrose)

3.2.1.7 วุ้น (Agar)

3.2.1.8 สารลดแรงตึงผิว (tween-20)

3.2.1.9 แอลกอฮอลล์ 95 เปอร์เซ็นต์ และ 75 เปอร์เซ็นต์

3.2.1.10 สารเคมีที่ใช้ปรับความเป็นกรดด่าง

3.2.1.10.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH)

3.2.1.10. กรดไฮโดรคลอริค (Hydrochloric acid; HCl)

3.2.1.11 สารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (Carbendazim)

3.2.1.12 สารยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา Plant Preservative Mixture Solution (PPM)

3.2.1.13 สารควบคุมการเจริญเติบโต

3.2.1.13.1 กลุ่มออกซิน (Auxin) ได้แก่ กรดอินโดล-3-บิวทีริก (Indole-3-butyric acid; IBA)

3.2.1.13.2 กลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) ได้แก่ 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีน (6-Benzylaminopurine; BAP) และ ไทเดียซูรอน (N-phenyl-N-1,2,3-thiadiazol-5-ylurea ; TDZ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 เครื่องแก้วและอุปกรณ์

3.2.2.1 ชุดไมโครปิเปต (Micropipettes)

3.2.2.2 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue culture bottle)

3.2.2.3 ไซริงค์แก้ว (Glasssyringe: 50ml)

3.2.2.4 ทิป (Micropipettes tips)

3.2.2.5 พาราฟิล์ม (Parafilm)

3.2.2.6 ถุงมือยาง (Rubber glove)

3.2.2.7 ปากคีบ (Forecep)

3.2.2.8 กรรไกร (Scissors)

3.2.2.9 มีดผ่าตัด (Scalpal)

3.2.2.10 ตะเกียงแอลกอฮอลล์ (Alcohol lamp)

3.2.2.11 ถุงพลาสติก (Plastic bag)

3.2.2.12 จานแก้ว (Plate)

3.2.2.13 ช้อนตักสาร (Spatula)

3.2.2.14 กระบอกตวง (Cylinder)

3.2.2.15 บีกเกอร์ (Beaker)

3.2.2.16 กระดาษทิชชู่ (Tissue paper)

3.2.2.17 ตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส (-20°C Refrigerator)

3.2.2.18 ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส (4°C Refrigerator)

3.2.2.19 ปากกา (Marker)

3.2.2.20 กระดาษ (Label)

3.2.3 เครื่องมือ

3.2.3.1 เครื่องปรับค่า pH (pH meter)

3.2.3.2 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Analytical balance)

3.2.3.3 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

3.2.3.4 เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave)

3.2.3.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

3.2.3.6 ไมโครเวฟ (Microwave oven)

3.2.3.7 เครื่องเขย่า (Shaker)

3.2.3.8 เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (Vernier Calipers)

3.2.3.9 กล้องถ่ายรูป (Camera)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 การศึกษากระบวนการฟอกฆ่าเชื้อตาข้างอะโวคาโดต่ออัตราการปนเปื้อนเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย

ตัดชิ้นส่วนของต้นอะโวคาโดสายพันธุ์บัคคาเนียโดยใช้ส่วนของตาข้าง ความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร นำมาล้างด้วยน้ำยาล้างจานจากนั้นหยด tween-20 2-3 หยด และเปิดน้ำผ่านเป็นเวลา 10 นาที ทำการฟอกฆ่าเชื้อตาข้างด้วยวิธีการฟอกจำนวน 3 วิธี โดยใช้ตาข้างวิธีละ 10 ชิ้น

วิธีการที่ 1 ดัดแปลงวิธีจาก Hiba et al. (2021) เขย่าตาข้างด้วยไฮเตอร์ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเร็วรอบ 225 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 3 ครั้งและล้างด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 วินาที และล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้ออีก 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที

วิธีการที่ 2 ดัดแปลงวิธีจาก Tilahun et al. (2020) เขย่าชิ้นส่วนของตาข้างในแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเร็วรอบ 225 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นย้ายมาใส่ในสารฟอกฆ่าเชื้อไฮเตอร์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 1 ครั้งเป็นเวลา 5 นาที และย้ายใส่ในสารฟอกฆ่าเชื้อราคาร์เบนดาซิม 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที

วิธีการที่ 3 ดัดแปลงวิธีจาก Mahmoud et al. (2016) เขย่าตาข้างในสารฟอกฆ่าเชื้อคาร์เบนดาซิม 5 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเร็วรอบ 225 รอบต่อนาที เป็น เวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 2 ครั้งเป็นเวลา 5 นาที ย้ายใส่แอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ เขย่าต่อเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นย้ายมาใส่ในสารฟอกฆ่าเชื้อที่ประกอบด้วย $HgCl_2$ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cefotaxime 0.1 เปอร์เซ็นต์ Antibiotic 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ PPM 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 2 ครั้งเป็นเวลา 5 นาที

เมื่อเสร็จสิ้นขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อจะนำตาข้างมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MS เป็นระยะเวลา 30 วันในห้องปลอดเชื้อภายใต้สภาวะที่มีการให้แสงสว่างโดยหลอดฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เก็บบันทึกผลอัตราการปนเปื้อนและอัตราการปลอดเชื้อของพืช

3.3.2 ศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดยอดใหม่

นำตาข้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ความเข้มข้น 4.43 กรัมต่อลิตร ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร WPM ความเข้มข้น 2.41 กรัมต่อลิตร ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โดยสูตรอาหารทั้งสองชนิดเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติมโต BAP และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับ pH ให้อยู่ที่ 5.7 เติมผงวุ้นความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และทำการเพาะเลี้ยงตาข้างภายใต้สภาวะที่มีการให้แสงสว่างโดยหลอดฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ตาข้างถูกเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วันและทำการเก็บบันทึกผลความยาว (มิลลิเมตร) และจำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่โดยบันทึกผลทุก 15 วัน

3.3.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารความคุมการเจริญเติบโต IBA ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก

นำยอดจากการเพาะเลี้ยงตามวิธีการ 3.3.2 ที่มีความสูงประมาณ 30-40 มิลลิเมตร ย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร Woody Plant Medium ที่เสริมด้วยสารความคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะเดียวกันกับข้อที่ 3.3.2 เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นเก็บบันทึกผลในการเกิดราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร WPM และ MS

อาหารสังเคราะห์	**ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล)**	
	BAP	**TDZ**
WPM	0	0
	0.5	0.5
	1.0	1.0
	1.5	1.5
	2.0	2.0
MS	0	0
	0.5	0.5
	1.0	1.0
	1.5	1.5
	2.0	2.0

ตารางที่ 3.2 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อการชักนำให้เกิดรากในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร WPM

อาหารสังเคราะห์	**ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA (มก./ล)**
WPM	1.0
	2.0
	3.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษากระบวนการที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อตาข้างอะโวคาโดต่ออัตราการปนเปื้อนเชื้อราและเชื้อแบคเทียเรีย

จากการนำชิ้นส่วนตาข้างของต้นอะโวคาโดสายพันธุ์บัคคาเนียมาทดลองเพื่อศึกษาผลของการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสม ทำการทดลองทั้งหมด 3 วิธีโดยแต่ละวิธีจะใช้ชิ้นส่วนตาข้างทั้งหมด 10 ชิ้น นำชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการฆ่าเชื้อไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นระยะเวลา 30 วัน ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.1 ซึ่งพบว่าวิธีการที่ 1 มีอัตราการปนเปื้อนถึง 90 เปอร์เซ็นต์ วิธีการที่ 2 อัตราการปนเปื้อนลดลงจอยู่ที่ 60 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการที่ 3 พบว่าเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพการฟอกฆ่าเชื้อที่ดีที่สุดโดยพบการปนเปื้อนเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีที่ 3 ที่ใช้คาร์เบนดาซิม 5 เปอร์เซ็นต์ เวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 2 ครั้งเป็นเวลา 5 นาที ย้ายใส่แอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ เขย่าต่อเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นย้ายมาใส่ในสารฟอกฆ่าเชื้อที่ประกอบด้วย $HgCl_2$ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cefotaxime 0.1 เปอร์เซ็นต์ Antibiotic 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ PPM 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 2 ครั้งเป็นเวลา 5 นาที ซึ่งแสดงผลการฟอกฆ่าเชื้อที่ประสิทธิภาพสูงสุดจากทั้งหมด 3 วิธี

ตารางที่ 4.1 แสดงอัตราการปนเปื้อนและอัตราการปลอดเชื้อของตาข้างจากการฟอกฆ่าเชื้อทั้งหมด 3 วิธีโดยเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นระยะเวลา 30 วัน

วิธีการฟอก	จำนวนซ้ำ (ต้น)	จำนวนตาข้างที่ปลอดเชื้อ (ต้น)	อัตราการปนเปื้อน (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการปลอดเชื้อ (เปอร์เซ็นต์)
1	10	1	90	10
2	10	4	60	40
3	10	9	10	90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดยอดใหม่ของตาข้างอะโวคาโด

4.2.1 ผลการเกิดยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงต้นอะโวคาโด

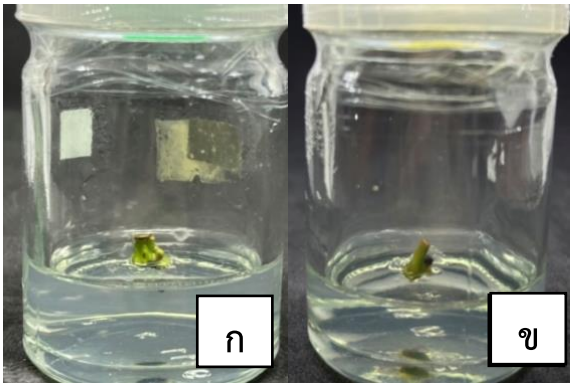
จากกการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของตาข้างอะโวคาโดบนสูตรอาหารสังเคราะห์ MS และ WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชภายใต้สภาวะที่มีการให้แสงสว่างโดยหลอดฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วัน พบว่าไม่มีการเจริญเติบโตในการทดลองที่ไม่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยงทั้ง 2 ชนิดจึงสอดคล้องกับงานวิจัยของ Castro et al. (1995) ที่ระบุว่าอะโวคาโดมีการตอบสนองที่ไม่ดีต่อการเพาะเลี้ยงที่ไม่ได้เสริมฮอร์โมนภายนอก (exogenous hormones) ไม่ว่าจะเป็นชิ้นส่วนพืชชนิดใดก็ตาม และในการศึกษาผลของการเกิดยอดใหม่พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลการเกิดยอดใหม่เฉลี่ยที่ 1.4 ยอดต่อต้น รองลงมาคือจำนวนการเกิดยอดใหม่เฉลี่ยที่ 1.2 ยอดต่อต้นได้รับจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่ความเข้มข้นของ BAP 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ความเข้มข้นของ TDZ 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ในความเข้มข้นของ BAP 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zulfaqar et al. (2009) ที่ระบุว่าการให้สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่น้อยเกินไป (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) หรือสูงเกิดไป (2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะได้จำนวนยอดที่น้อยกว่าความเข้มข้นอื่นๆ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chuenboonngarm et al. (2001) ซึ่งได้ระบุเกี่ยวกับความเข้มข้นของไซโตไคนินว่าในความเข้มข้นของไซโตไคนินที่สูงเกินไปจะทำให้ได้รับจำนวนยอดที่ลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

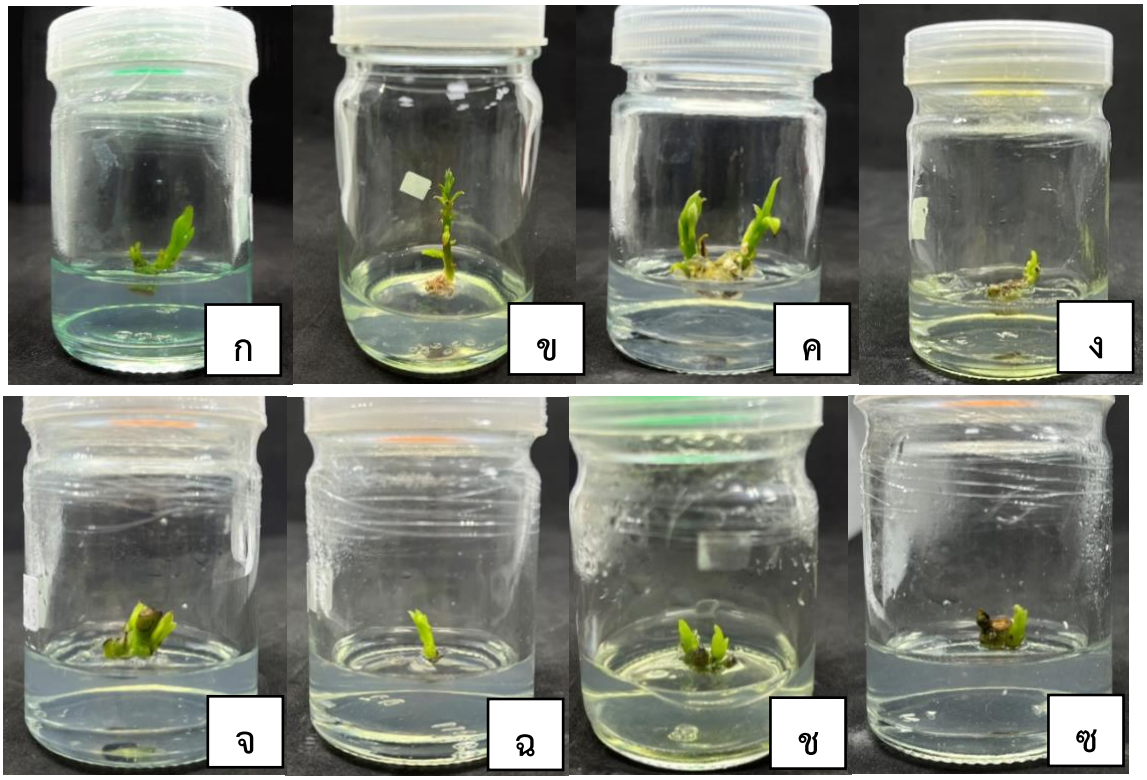
ตารางที่ 4.2. แสดงอัตราเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนพืชหลังจากเพาะเลี้ยง 45 วัน บนอาหารสูตร MS และสูตร WPM ในความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

อาหารสังเคราะห์	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล)		จำนวนซ้ำ	จำนวนยอดที่เกิดใหม่ (ยอด/ซ้ำ)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ต้น)
WPM	BAP	0	5	0	0.00
		0.5	5	6	1.20
		1.0	5	5	1.00
		1.5	5	7	1.40
		2.0	5	5	1.00
	TDZ	0	5	0	0.00
		0.5	5	5	1.00
		1.0	5	6	1.20
		1.5	5	6	1.20
		2.0	5	5	1.00
MS	BAP	0	5	0	0.00
		0.5	5	5	1.00
		1.0	5	5	1.00
		1.5	5	6	1.20
		2.0	5	5	1.00
	TDZ	0	5	0	0.00
		0.5	5	5	1.00
		1.0	5	5	1.00
		1.5	5	5	1.00
		2.0	5	5	1.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM (ก) และ MS (ข) ที่ไม่เสริมสารควบคุมการที่ไม่เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control)



รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะการเกิดยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นอะโวคาโดในช่วง 45 วัน ในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP

(ก) WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ข) WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ค) WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ง) WPM ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

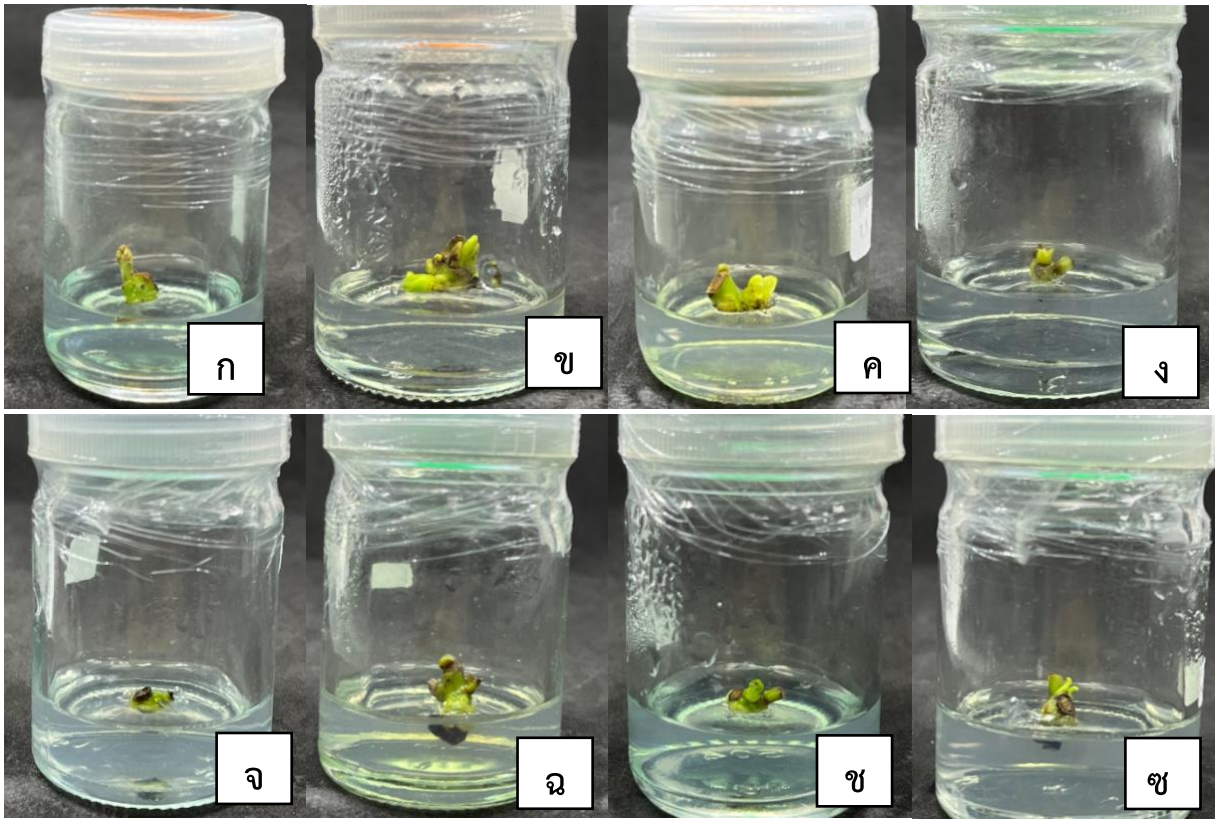
(จ) MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ฉ) MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ช) MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ซ) MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะการเกิดยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นอะโวคาโดในช่วง 45 วัน ในอาหารสังเคราะห์สูตร WPM และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ

(ก) WPM ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ข) WPM ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ค) WPM ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ง) WPM ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

(จ) MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ฉ) MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ช) MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ซ) MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

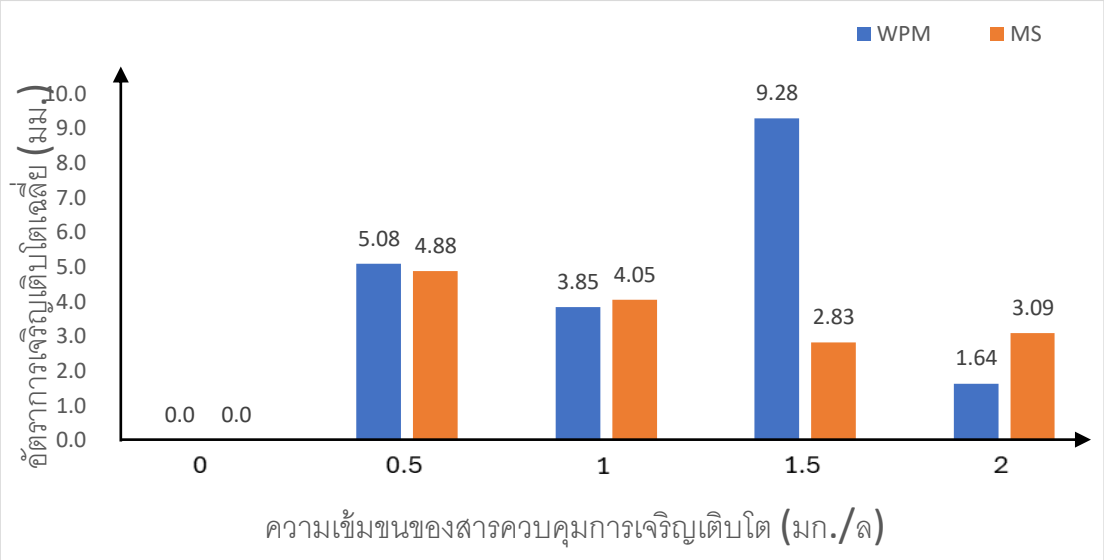
4.2.2 ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของพืช

จากการนำตาข้างมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร WPM ที่ถูกเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชภายใต้สภาวะที่มีการให้แสงสว่างโดยหลอดฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วัน พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร WPM มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตมากกว่าการใช้อาหารสังเคราะห์ MS นอกจากนี้การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP มีประสิทธิภาพมากกว่า TDZ ในแง่ของการกระตุ้นการเจริญเติบโต ซึ่ง WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดโดยมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยอยู่ที่ 9.279 ± 4.90 มิลลิเมตร ในขณะที่อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ให้ผลดีที่สุดอยู่ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญเติบโตอยู่ที่ 4.881 ± 1.70 มิลลิเมตร และ WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ให้ผลการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดอยู่ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยอยู่ที่ 2.751 ± 1.05 มิลลิเมตร และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยอยู่ที่ 2.424 ± 0.46 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ผลการทดลองจึงสอดคล้องกับการวิจัยของ Hiba et al. (2021) ที่ได้ทำการศึกษานำชิ้นส่วนของพืชบริเวณตาข้างมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง 2 ประเภท คือ อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS และ WPM ซึ่งอาหารเพาะเลี้ยงจะถูกเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิดได้แก่ TDZ KN และ BAP ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยผลการทดลองพบว่าการกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงคือ WPM มีประสิทธิภาพในการเกิดยอดใหม่ที่ดีกว่าการใช้อาหารเพาะเลี้ยง MS นอกจากนี้การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP มีประสิทธิภาพมากกว่า TDZ และ KN ในแง่ของการกระตุ้นการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

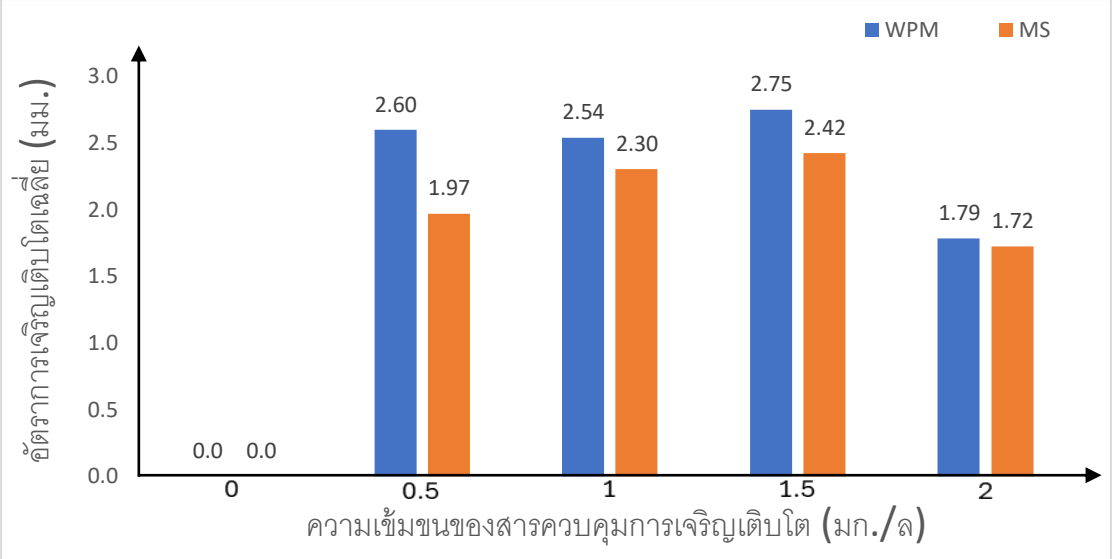
ตารางที่ 4.3 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของยอดที่ได้เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ

อาหารสังเคราะห์	สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล)		อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (มม.)
WPM	BAP	0	0
		0.5	5.08 ± 2.86
		1.0	3.84 ± 1.76
		1.5	9.27 ± 4.90
		2.0	1.63 ± 0.81
	TDZ	0	0
		0.5	2.59 ± 2.00
		1.0	2.54 ± 1.39
		1.5	2.75 ± 1.05
		2.0	1.78 ± 1.19



รูปที่ 4.5 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของยอดที่ได้เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ WPM และ MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของยอดที่ได้เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ WPM และอาหารสังเคราะห์ MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ

ตารางที่ 4.4 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของยอดที่ได้เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS ทีเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ

อาหารสังเคราะห์	**สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล)**		**อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (มม.)**
MS	BAP	0	0
		0.5	4.88 ± 1.70
		1.0	4.04 ± 1.98
		1.5	2.82 ± 1.38
		2.0	3.08 ± 1.23
	TDZ	0	0
		0.5	1.97 ± 0.77
		1.0	2.30 ± 0.88
		1.5	2.42 ± 0.46
		2.0	1.72 ± 0.94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของการศึกษาสารความคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมกับการชักนำให้เกิดราก

จากการนำตาข้างที่ถูกเพาะเลี้ยงครบ 45 วัน ภายใต้สภาวะที่มีการให้แสงสว่างโดยหลอดฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ได้ทำการยอดที่มีความสูงประมาณ 30-40 มิลลิเมตร ย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะเดิมระยะเวลา 30 วัน ผลการศึกษาพบว่าไม่มีการเกิดราก เนื่องจากมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น ยอดเดี่ยวที่ได้จากการชักนำยอดนั้นไม่แข็งแรงพอต่อการชักนำราก ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่อาจมากเกินไปต่อสายพันธุ์บัคคาเนีย อาหารเพาะเลี้ยงและชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อสายพันธุ์ของอะโวคาโด ฯลฯ อ้างอิงจากงานวิจัยของ Tilahun et al. (2020) ที่ได้ทำการศึกษาการชักนำรากของอะโวคาโด 3 สายพันธุ์พบว่าสูตรอาหารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดของพันธุ์อาร์บามินช์ ชาโน มิลล์ และพันธุ์เทปปีคือสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย IBA ความเข้มข้น 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนพันธุ์บูตาจิราคือสูตรอาหาร MS ที่เสริมด้วย BAP ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เห็นได้ชัดว่าสายพันธุ์อะโวคาโด ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการชักนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอะโวคาโดสายพันธุ์บัคคาเนีย (*Persea americana* Miller) ทำการศึกษาการเจริญเติบโตด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำชิ้นส่วนพืชบริเวณตาข้างมาทำการฟอกฆ่าเชื้อซึ่งกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพการปลอดเชื้อสูงสุด คือ ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคาร์เบนดาซิม 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 2 ครั้งเป็นเวลา 5 นาที ย้ายใส่แอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อที่ประกอบด้วย $HgCl_2$ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cefotaxime 0.1 เปอร์เซ็นต์ Antibiotic 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ PPM 0.1เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 2 ครั้งเป็นเวลา 5 นาที และผลในด้านการเจริญของยอดที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS และ WPM ที่ถูกเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ เป็นระยะเวลา 45 วัน เนื้อเยื่อพืชมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยดีที่สุดในด้านจำนวนยอดและความยาวยอดบนอาหารสังเคราะห์ WPM ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่การเจริญเติบโตบนอาหารสังเคราะห์ MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากของอะโวคาโดสายพันธุ์บัคคาเนีย
2. ศึกษาศึกษาชนิดอาหารและสารควบคุมชนิดอื่น เช่น IAA เพิ่มเติมซึ่งอาจเหมาะสมต่อการชักนำรากของอะโวคาโดสายพันธุ์บัคคาเนีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ขวัญหทัย และคณะ. 2567. อะโวคาโด อาหารเพื่อสุขภาพ Avocado: The Health Food. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก https://www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/52/04-plant/kwanhatai/plant_00.html

จิตอาภา จิจุบาล. 2563. การจัดการเทคโนโลยีการผลิตอะโวคาโดอย่างยั่งยืน. เอกสารวิชาการ. สถาบันวิจัย พืชสวน. กรมวิชาการเกษตร.

ณัชมนและคณะ. 2563. การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากวัชพืชต่อการงอกรากและการเจริญของพืช. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก https://www.nstda.or.th/sims/login/index.php?class=AbstractProposalView&id=8218

ณัฏฐากร เสมสันทัด. 2552. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพันธ์ไม้ป่า. คู่มืออบรมหลักสูตร. สำนักวิจัยและพัฒนาป่าไม้ กรมป่าไม้.

ทวีศักดิ์ แสงอุดม. 2559. สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช. พิมพ์ครั้งที่1. สถาบันวิจัยพืชสวน, กรุงเทพฯ. Post Tech.

สถาบันวิจัยพืชสวน. 2567. อะโวคาโด [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก https://www.doa.go.th/hort/?page_id=53124

อรดี สหวัชรินทร์. 2567. ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก https://web.ku.ac.th/nk40/nk//data/08/nk1p8k8.htm

อารยา หงษ์เพชร. 2545. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. วารสารกรมวิทยาศาสตร์. ปีที่ 50 (ฉบับที่ 160) กันยายน พ.ศ. 2545.

Ahmad, E. M., El-Fadl, A., Reda E., and Mohamed R. A. 2022. *In Vitro* propagation of avocado (*Persea americana* mill.) 72(1): 73-87.

Barrera-Guerra. 1994. *In vitro* propagation of avocado (*Perseadrymifolia* Ness.) 20162567: 63-69.

Gross and Partiner. 1984. Comparative analysis of antioxidant and fatty acid composition in avocado (*Persea americana* Mill.) fruits: Exploring regional and commercial varieties. 442: 138403.

Hiba Qasrawi. 2021. *In vitro* Regeneration of Avocado (*Persea Americana*) West Indian Rootstock cv.lula Via Tissue Culture. 10(1): 11-21.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lloyd G & McCown B (1981) Commercially feasible micro-propagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot-tip culture. Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc. (1980) 30: 421–427

Mahmoud, S., and Al-Ani, K. 2016. effect of different sterilization methods on Contamination and Viability of nodal segments of *Cestrum nocturnum*L. 2349:0365 . 4-9.

Murashige T and Skoog. 1962 A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant. 15:473-497

Ravindra. 2020. *In vitro* propagation of *Cryptocarya stocksii* Meisn. A vulnerable tree from India. 41-42: 131-140.

Tilahun Rabuma 2020. optimization of efficient protocol for *in vitro* mass propagation of selected accessions of avocado (*Persea americana* mill). by auxiliary and apical buds culture. 71-72 :75-87.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 ตารางสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS (Murashige and Skoog, 1962)

	สารเคมี	ปริมาตร(มก./ล)
ธาตุอาหารหลัก		
	NH_4NO_3	1,650
	KNO_3	1,990
	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370
	KH_2PO_4	170
ธาตุอาหารรอง		
	H_3BO_3	6.2
	$MnSO_4.7H_2O$	6.9
	$ZnSO_4 \cdot 5H_2O$	8.6
	KI	0.33
	$NA_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.25
สารประกอบอนินทรีย์		
	Myo-Inosital	100
	Nicotinic acid	0.5
	Pyridoxine-HC	0.5
	Glycine	2.0
	Thiamine-HCl	0.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ตารางองค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร woody plant basal medium (WPM) (Lloyd and McCown, 1981)

	สารเคมี	ปริมาตร (มก./ล)
ธาตุอาหารหลัก		
	$CaCl_2.2H_2O$	72.5
	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	386
	K_2SO_4	990
	KH_2PO_4	170
	$MgSO_4.7H_2O$	180.7
	NH_4NO_3	400
ธาตุอาหารรอง		
	$CuSO_4.5H_2O$	0.25
	$FeSO_4.7H_2O$	27.85
	H_3BO_3	6.2
	$MnSO_4.7H_2O$	22.3
	$Na_2EDTA.2H_2O$	37.3
	$Na_2 MoO_4.2H_2O$	0.25
	$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
สารประกอบอนินทรีย์		
	Glycine	2
	Myo-inositol	100
	Nicotinic acid	0.5
	Pyridoxine-HCL	0.5
	Thiamine-HCL	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. ชั่งอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 4.43 กรัมต่อลิตร หรืออาหารสังเคราะห์สูตร woody plant basal medium ความเข้มข้น 2.41 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร และละลายสารด้วยน้ำโดยใช้ปริมาตรเพียงครึ่งหนึ่งของปริมาตรทั้งหมด
2. ปรับปริมาตรอาหารให้ได้ตามปริมาตรที่ต้องการและใส่แบ่งบีกเกอร์ตามจำนวนของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องการเตรียม
3. คำนวณปริมาตรสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องดูดมาจาก stock เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องการ และดูดสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารตามปริมาตรที่คำนวณได้ โดยคำนวณได้จากสูตรดังต่อไปนี้

   $$C_1V_1=C_2V_2$$

   C_1 คือ ความเข้มข้นของ stock เริ่มต้น

   C_2 คือ ความเข้มข้นที่ต้องการเตรียม

   V_1 คือ ปริมาตรที่ใช้

   V_2 คือ ปริมาตรของอาหารทั้งหมด
4. ปรับค่า pH ของอาหารให้อยู่ระหว่าง 5.7-5.8 โดยใช้ HCL และ NaOH
5. เติมผงวุ้นและนำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 2 นาที
6. แบ่งอาหารใส่ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปริมาตรขวดละ 10-15 มิลลิลิตร
7. นำอาหารเพาะเลี้ยวเนื้อเยื่อที่บรรจุใส่ขวดแล้วไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 17 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2567

ข้าพเจ้า นางสาววรรณวิชชา สง่าเมือง รหัสประจำตัว 63050417

นางสาววรรณษา บัวเจริญธาราเวช รหัสประจำตัว 63050418

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพภาควิชาชีววิทยา

ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอะโวคาโด (*Persea americana* Miller)

ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชื่อภาษาอังกฤษ Factors of affecting Persea americana Miller growth using tissues culture

ปีการศึกษา 2566

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 4.16 %

ลงชื่อ.....วรรณวิชชา..... ลงชื่อ.....วรรณษา บัวเจริญธาราเวช.....

(วรรณวิชชา สง่าเมือง) (วรรณษา บัวเจริญธาราเวช)

นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า รศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาจารย์ที่ปรึกษา