หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. อุปกรณ์

1.1 พันธุ์หน่อไม้ฝรั่งซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Modified Vacin and Went ได้จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรดี สหวัชรินทร์ พันธุ์หน่อไม้ฝรั่งนี้ได้ทำการเพาะเลี้ยงตาจากหน่อที่มีขนาดใหญ่จากตลาดวโรรส เชียงใหม่

1.2 Flask 250 มิลลิลิตร Vial ขนาด 25 x 95 มิลลิเมตร (8 drams) ใช้เลี้ยงข้อของหน่อไม้ฝรั่ง

1.3 อาหาร

1.3.1 สูตร Vacin and Went (Vacin and Went, 1949)

Tricalcium phosphate	$Ca_3(PO_4)_2$	200 mg/l
Potassium nitrate	KNO_3	525 "
Monopotassium acid phosphate	KH_2PO_4	250 "
Magnesium sulfate	$MgSO_4.7H_2O$	250 "
Ammonium sulfate	$(NH_4)_2SO_4$	500 "
Ferric tartrate	$Fe_2(C_4H_4O_6).2H_2O$	28 "
Manganese sulfate	$MnSO_4.H_2O$	5.7 "
Sucrose		20,000 "
Coconut water		150 cc
pH		4.8-5.0

อาหารสูตร Modified Vacin and Went (MVW) ได้จากการเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซนต์

1.3.2 สูตร Murashige and Skoog (Murashige and Skoog, 1962)

Ammonium nitrate	NH_4NO_3	1650	mg/l
Potassium nitrate	KNO_3	1900	"
Monopotassium acid phosphate	KH_2PO_4	170	"
Calcium chloride	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440	"
Boric acid	H_3BO_3	6.2	"
Manganese sulfate	$MnSO_4 \cdot H_2O$	22.3	"
Zinc sulfate	$ZnSO_4 \cdot H_2O$	8.6	"
Potassium Iodide	KI	0.83	"
Sodium molybdate	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25	"
Copper sulfate	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025	"
Cobalt chloride	$CoCl_2 6H_2O$	0.025	"
Magnesium sulfate	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370	"
Disodium ethylene diaminetetra acetic acid	$C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$	37.3	"
Ferrous sulfate	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.8	"
Glycine		2	"
Nicotinic acid		0.5	"
Pyridoxine (B_6)		0.5	"
Thiamine (B_1)		0.1	"
Sucrose		30,000	"
Agar		6,000	"
pH		5.6	

อาหารสูตร Modified Murashige and Skoog (MMS)ได้จากการเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซนต์

1.4 Growth substance ได้แก่ Indole butyric acid (IBA)และ 6-furfurylamino purine (kinetin)

1.5 เครื่องมือผ่าตัด

1.6 Rotary shaker หมุน154 รอบต่อนาที

1.7 ตู้ถ่ายเชื้อ

1.8 ชั้นวางหลอดทดลองได้รับแสงจากหลอด fluorescent Phillips TL 40 w/ 54 ที่มีความเข้ม 2500 lux เป็นเวลา 15 ชั่วโมงต่อวัน มืด 9 ชั่วโมงต่อวัน อยู่ในห้องที่มีอุณหภูมิ 23-25°C และความชื้นสัมพัทธ์ 34.5 เปอร์เซนต์

1.9 กล้องถ่ายรูป

2. <u>วิธีการทดลอง</u>

2.1 การเพิ่มจำนวนหน่อไม้ฝรั่งเพื่อใช้ในการทดลอง

ย้ายหน่อไม้ฝรั่งที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MVW (ภาพที่ 1) ซึ่งอยู่บน rotary shaker ไปเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS ซึ่งเป็น control โดยใช้ flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่อาหารวุ้น 50 มิลลิลิตร ให้แสงจากหลอด fluorescent ในความเข้ม 2500 lux เป็นเวลา 15 ชั่วโมง เลี้ยงไว้เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ภาพที่ 2)

2.2 การเตรียมข้อของหน่อไม้ฝรั่ง

นำเอาหน่อไม้ฝรั่งที่เลี้ยงบน MMS มาตัดในตู้ถ่ายเชื้อโดยเลือกเฉพาะข้อที่ 2 ที่ห่างจากปลายยอดเท่า ๆ กันให้มีความยาวประมาณ 0.5-0.8 มิลลิเมตร นำไปเลี้ยงในอาหารวุ้น (ภาพที่ 3)

2.6 การศึกษาอิทธิพลของ IBA ต่อการเจริญเติบโตของต้นและราก

นำข้อของหน่อไม้ฝรั่งมาเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS โดยมี IBA ในความเข้มข้น 0, 5, 10,25 และ 20 ppm ตามลำดับ ทำ treatment ละ 20ซ้ำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ และทำการทดลอง 2 ครั้ง

2.7 การศึกษาอิทธิพลของ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของต้นและราก

นำข้อของหน่อไม้ฝรั่งมาเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS โดยมี kinetin ในความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.25, 2.5 และ 5 ppm ตามลำดับ ทำ treatment ละ 20 ซ้ำเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และทำการทดลอง 2 ครั้ง

2.8 การศึกษาอิทธิพลของ IBA และ kinetin ต่อการเจริญเติบโตของต้นและราก

นำข้อของหน่อไม้ฝรั่งมาเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS ที่มี combination ของ IBA และ kinetin ดังต่อไปนี้ IBA ในความเข้มข้น 0, 0.25, 5, 10,20ppm และ kinetin ในความเข้มข้น 0, 1.25, 2.5, 5,10ppm ตามลำดับ มีทั้งหมด 20 treatment ดังนี้

kinetin (ppm) / IBA (ppm)	0	1.25	2.5	5	10
0	0:0	0:1.25	0:2.5	0:5	0:10
0.25	0.25:0	0.25:1.25	0.25:2.5	:5	0.25:10
5	5:0	5:1.25	5:2.5	:5	5:10
10	10:0	10:1.25	10:2.5	:5	10:10
20	20:0	20:1.25	20:2.5	:5	20:10

ทำ treatment ละ 20 ซ้ำ และทำการทดลอง 2 ครั้ง

2.9 การศึกษา organogensis จากข้อของหน่อไม้ฝรั่ง หลังจากเลี้ยงไว้เป็นเวลา 8 สัปดาห์

2.10 การย้ายข้อของหน่อไม้ฝรั่งไปปลูกในดิน

นำข้อที่เกิดต้นและรากที่เลี้ยงในอาหารวุ้น ย้ายไปปลูกในดิน

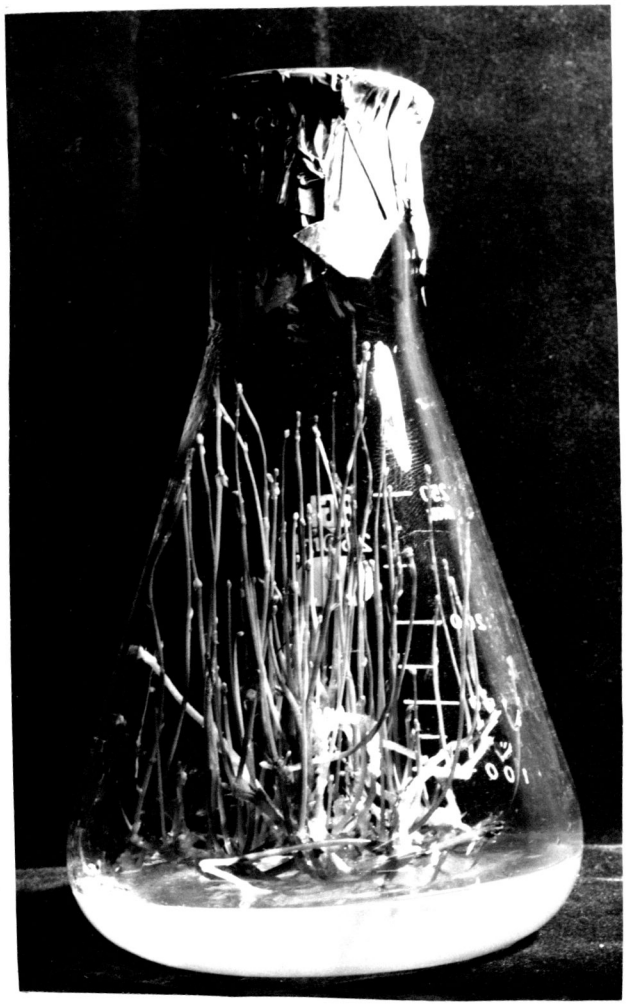
3. <u>วิธีเก็บผลการทดลอง</u>

เมื่อเลี้ยงข้อของหน่อไม้ฝรั่งในหลอดแก้วเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แล้วจึงนำมานับจำนวนของต้นและรากที่เกิดขึ้น และวัดความยาวของต้นและรากเป็นมิลลิเมตร ถ่ายรูปในบางการทดลอง คิดหาค่าเฉลี่ยทางสถิติ

หอสมุดกลาง
จุฬาลงกรณมหาวิทย

ภาพที่ 1 หน่อไม้ฝรั่งที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Modified Vacin and Went X 2

001384



ภาพที่ 2 หน่อไม้ฝรั่งที่เลี้ยงในอาหารวุ้น สูตร Modified Murashige and Skoog เป็นเวลา 4 สัปดาห์ X 1

ภาพที่ 3 ข้อของหน่อไม้ฝรั่งที่นำไปเลี้ยงในอาหารวุ้นเพื่อศึกษาอิทธิพลของออกซิน และไซโตไคนินต่อการเกิดรากและต้น X 2.5