รายงานการวิจัย

เรื่อง

การขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำอเมซอนใบแดง *Echinodorus barthii* เพื่อการส่งออก โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Micropropagation of aquarium plant *Echinodorus barthii* for export

โดย

ผศ.ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

รศ.ดร. อิทธิสุนทร นันทกิจ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นางมณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ

สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด กรมประมง

ได้รับทุนโครงการวิจัยเพื่อการพัฒนาอุดมศึกษา

และแก้ไขปัญหาเศรษฐกิจ ประจำปี 2544

จากสำนักงานปลัดทบวงมหาวิทยาลัย

RCH
QK
A95
.A4
ร๑๐๑๙

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน 54632

วัน,เดือน,ปี 24 มิ.ย. 2548

b11246457

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	II
บทคัดย่อ	1
Abstract	1
คำนำ	2
วัตถุประสงค์	3
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ	4
ผลการทดลอง	6
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	12
เอกสารอ้างอิง	14
ภาคผนวก	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	วิธีการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่ออเมซอนใบแดง	4
2	การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ kinetin ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออเมซอนแดง	6
3	อัตราการรอดของเนื้อเยื่อตายอดอเมซอนใบแดงที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่าง ๆ	7

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	พรรณไม้น้ำอเมซอนใบแดง *Echinodorus barthii* (Double Red)	3
2	เครื่องเขย่าเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ	5
3	เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 1 สัปดาห์	8
4	เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 3 สัปดาห์	8
5	เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่เลี้ยงในอาหารที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 4 สัปดาห์	9
6	เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่เลี้ยงในอาหารที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 8 สัปดาห์	9
7	ต้นอ่อนใหม่ที่ได้ นำไปแยกเลี้ยงในขวดใหม่ อายุประมาณ 2 สัปดาห์	10
8	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ kinetin ที่ชักนำให้เกิดต้นอ่อนของเนื้อเยื่ออเมซอนแดง	11
9	อเมซอนใบแดงที่แข็งแรงสมบูรณ์นำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำอเมซอนใบแดง *Echinodorus barthii* เพื่อการส่งออกโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Micropropagation of aquarium plant *Echinodorus barthii* for export

นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และอิทธิสุนทร นันทกิจ

บทคัดย่อ

การทดลองขยายพันธุ์อเมซอนใบแดงโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อที่ได้ผลดีที่สุด คือ การฟอกฆ่าเชื้อตายอดของอเมซอนใบแดง โดยแช่ในคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นจึงฟอกด้วยคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วแช่ในเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนตายอดที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาตัดส่วนปลายยอดไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0, 0.1, 0.2 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายสุดของตายอดอเมซอนใบแดงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เนื้อเยื่อสามารถเกิดต้นอ่อนได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) และเมื่อเลี้ยงต่อไปอีก 4 สัปดาห์จะเกิดรากและต้นใหม่เพิ่มขึ้น 8-10 ต้น สำหรับอาหารสังเคราะห์ที่เติม NAA พบว่าปริมาณ NAA ที่เพิ่มขึ้นในอาหารมีผลทำให้การเกิดต้นอ่อนของเนื้อเยื่ออเมซอนแดงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)

คำสำคัญ : อเมซอนใบแดง, การเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ, การขยายพันธุ์อเมซอนใบแดง

Abstract

The propagation of *Echinodorus barthii* through tissue culture technique was studied. The effective surface sterilization for the apical shoots of *E. barthii* was chlorox solution at 10 % for 10 minutes and then washed 3 times in sterile water followed by 10 minutes in 5 % chlorox solution and afterwards washed 3 times in sterile water. Mercuric chloride was used for surface sterilization at 0.05 % for 10 minutes and then wash 3 times in sterile water. Shoot tips culturing of *E. barthii* by the combinations of NAA at 0, 0.1, 0.2, 0.3 mg/L and kinetin at 0, 1, 2, 3 mg/L supplemented in MS media. The best result for shoot proliferation was the tip culture in the addition of kinetin 1 mg/L in MS liquid medium ($P<0.01$) . And a large amount of NAA in media decreased shoot proliferation of *E. barthii* ($P<0.01$).

Keywords : *Echinodorus barthii*, double red, aquatic plant tissue culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ในปัจจุบันตลาดพรรณไม้น้ำสวยงามได้มีการขยายตัวมากขึ้นเนื่องจากพรรณไม้น้ำสวยงามที่ใช้ประดับตกแต่งในตู้ปลา และตู้พรรณไม้น้ำเป็นที่นิยมทั้งในและต่างประเทศ ทำให้มูลค่าการส่งออกสูงนับสิบล้านบาทต่อปี และยังมีแนวโน้มที่จะขยายตัวมากขึ้น พรรณไม้น้ำที่นิยมเลี้ยงไว้ในตู้จะมีหลากหลายชนิด รูปแบบต่าง ๆ กัน ชนิดที่นิยมกันมากมักจะเป็นพรรณไม้น้ำที่มีสีสันสวยงาม และมีความทนทานสามารถปลูกประดับอยู่ในตู้ได้เป็นเวลานาน อเมซอนใบแดง *Echinodorus barthii* เป็นเป็นพรรณไม้น้ำลูกผสม (Hybrid) ที่จัดอยู่ในวงศ์ Alismataceae มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้และอเมริกากลาง (Unnikirishnan, 2002) เป็นพรรณไม้น้ำสวยงามอีกชนิดหนึ่งที่มีรูปร่างและสีสันสวยสด (ภาพที่ 1) นิยมใช้ประดับตกแต่งในตู้ปลาและตู้พรรณไม้น้ำเป็นอันดับต้น ๆ โดยปลูกไว้บริเวณด้านหลังภายในตู้ มีลักษณะเด่น คือ ใบอ่อน 5-8 ใบเป็นสีแดงเข้ม หรือน้ำตาล (Simon, 1998) ความยาวของใบ 14 เซนติเมตร และความกว้างของใบ 4 เซนติเมตร (Unnikirishnan, 2002) พรรณไม้น้ำอเมซอนใบแดงจะเจริญเติบโตได้ดีหากมีการเติมคาร์บอนไดออกไซด์และมีการตัดแต่งเป็นครั้งคราว ถ้าเลี้ยงไว้ในบริเวณที่มีธาตุอาหารพอเพียง และความเข้มของแสงสูงพอใบจะมีสีแดงเข้มสวยงาม จึงมีชื่อที่ใช้เรียกในทางการค้าว่า "Double Red" (Windelov,1999) จากลักษณะเด่นดังกล่าวเหล่านี้เองทำให้พรรณไม้น้ำอเมซอนใบแดงเป็นที่นิยมและมีความต้องการของตลาดค่อนข้างสูง แต่มีข้อจำกัดคืออเมซอนใบแดงขยายพันธุ์ค่อนข้างยาก และการนำมาเพาะเลี้ยงยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควรต้องใช้เวลาเลี้ยงนาน เนื่องจากอเมซอนใบแดงขยายพันธุ์ด้วยดอกและการแตกหน่อ แต่ไม่ค่อยออกดอกและแตกหน่อช้ามากในแต่ละปี

การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการนำส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชที่สะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยแร่ธาตุ วิตามิน และสารเร่งการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ และมีการควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง (ไพบูลย์, 2524 และ อรดี, 2526) นอกจากเนื้อเยื่อเริ่มต้นและสูตรอาหารที่เหมาะสมแล้ว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ประสพความสำเร็จยังเกี่ยวข้องกับชนิดและความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตด้วยเป็นอย่างมาก ซึ่งสารเร่งการเจริญเติบโตหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator) ที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ฮอร์โมน 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม auxins ซึ่งเป็นกลุ่มฮอร์โมนที่กระตุ้นการขยายตัวของเซลล์พืชและช่วยให้เกิดราก ได้แก่ α-napthaleneacetic acid (NAA) ซึ่งเป็นชนิดนิยมใช้กันมาก 3-indoleacetic acid (IAA) 3-indolebutyric acid (IBA) และ 2,4–dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) เป็นต้น และกลุ่ม cytokinins ทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญของใบ ยับยั้งการเจริญเติบโตของราก และเร่งชิ้นส่วนพืชให้เกิดยอด ได้แก่ 6-benzylaminopurine (BA) ซึ่งเป็นชนิดที่นิยมใช้ และ 6-furfurylaminopurine (kinetin) เป็นต้น อัตราส่วนของ auxins และ cytokinins มีผลต่อการเจริญพัฒนาของเนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยง โดยอัตราส่วนที่เหมาะสมจะทำให้เนื้อเยื่อมีการพัฒนาเป็นต้นและรากได้อย่างปกติ Miller and Skoog (1953) รายงานว่าอัตราส่วนของ auxins และ cytokinins ที่สูงกว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมจะมีผลให้เนื้อเยื่อเจริญเป็นรากและแคลลัส (callus) ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์จำนวนมากเกาะรวมกันอยู่โดยยังไม่มีหน้าที่เฉพาะเจาะจง แต่ถ้าอัตราส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของ auxins และ cytokinins ต่ำกว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมแล้วเนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นยอด อย่างไรก็ตาม อัตราส่วนของ auxins และ cytokinins ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดยังมีความแตกต่างกันออกไป

ดังนั้นการศึกษาถึงชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต ตลอดจนอัตราส่วนที่เหมาะสมในกระตุ้นให้เกิดต้นอ่อน โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสังเคราะห์ น่าจะเป็นวิธีการขยายพันธุ์อเมซอนใบแดงให้สามารถเพิ่มจำนวนมาก และเจริญเติบโตได้ดีภายในระยะเวลาที่สั้นลงก็จะสามารถสนับสนุนและส่งเสริมอาชีพเพาะเลี้ยงพรรณไม้น้ำของไทย ตลอดจนธุรกิจการส่งออกพรรณไม้น้ำได้มากขึ้นเป็นการเพิ่มมูลค่าการส่งออกของประเทศต่อไปได้

ภาพที่ 1 พรรณไม้น้ำอเมซอนใบแดง *Echinodorus barthii* (Double Red)

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาชนิด ปริมาณ และระยะเวลาการใช้น้ำยาฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อเนื้อเยื่ออเมซอนใบแดงที่ได้ผลดีที่สุด
2. ศึกษาชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ kinetin ที่เหมาะสมในอาหารสังเคราะห์ เพื่อชักนำให้เกิดต้นอเมซอนใบแดงจำนวนมากในระยะเวลาสั้น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง

การทดลองที่ 1 ทดลองหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่ออเมซอนใบแดง

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Complete Randomized Design) โดยแบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง (treatment) (ตารางที่ 1) ดังนี้

1. แช่ในคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที แล้วแช่ในคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที และแช่ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์นาน 30 วินาที

2. แช่ในคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที แล้วแช่ในคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที และแช่ในเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์นาน 2 นาที

3. แช่ในคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที แล้วแช่ในคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที และแช่ในเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์นาน 5 นาที

4. แช่ในคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที แล้วแช่ในคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที และแช่ในเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์นาน 5 นาที

5. แช่ในคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที แล้วแช่ในคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที และแช่ในเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์นาน 10 นาที

เมื่อครบระยะเวลา 1 เดือน นับจำนวนชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่รอดตายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ และนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละวิธีการตามวิธี LSD (Least significant Difference)

ตารางที่ 1 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่ออเมซอนใบแดง

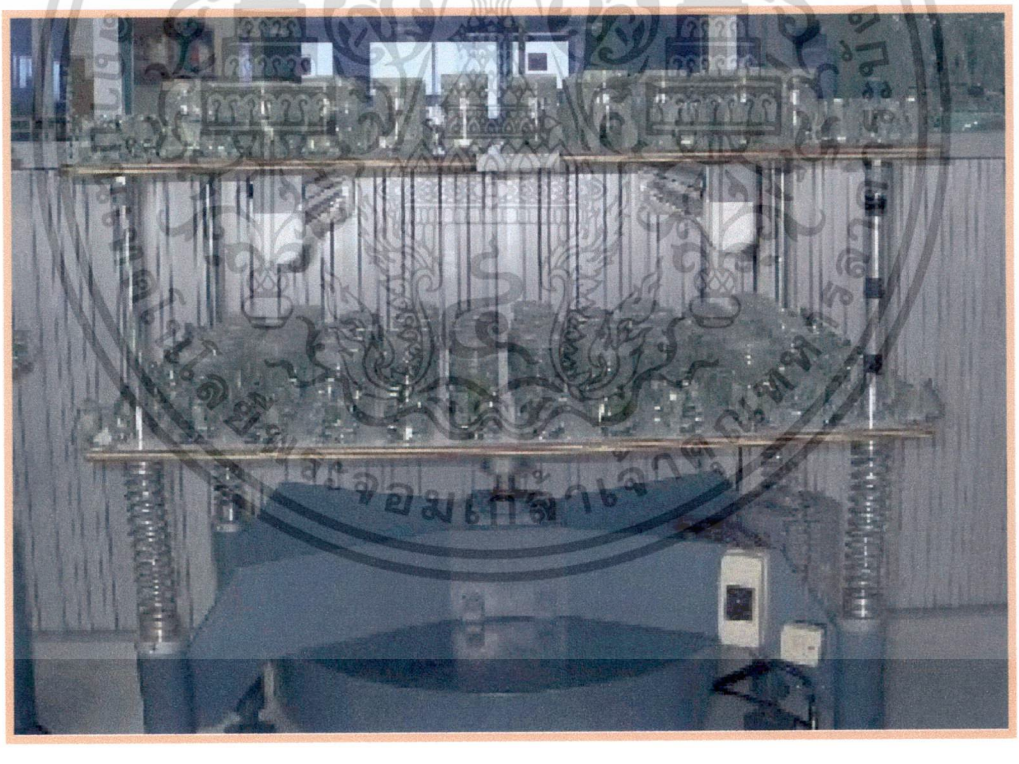
สารฟอกฆ่าเชื้อ	วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ				
	1	2	3	4	5
1. คลอรอกซ์ 10% นาน 10 นาที	✓	✓	✓	✓	✓
2. คลอรอกซ์ 5% นาน 10 นาที	✓	✓	✓	✓	✓
3. แอลกอฮอล์ 70% นาน 30 วินาที	✓				
4. เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% นาน 2 นาที		✓			
5. เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% นาน 5 นาที			✓		
6. เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.05% นาน 5 นาที				✓	
7. เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.05% นาน 10 นาที					✓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 ทดลองหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ kinetin ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วางแผนการทดลองแบบ two-factor factorial design โดยศึกษา 2 ปัจจัยคือ สารควบคุมการเจริญเติบโต α-napthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้นต่างๆ 4 ระดับ ได้แก่ 0, 0.1, 0.2, 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต kinetin ความเข้มข้นต่างๆ 4 ระดับ ได้แก่ 0, 1, 2, 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในแต่ละความเข้มข้น(treatment) แบ่งออกเป็น 10 ซ้ำ(replication) (ตารางที่ 1)

หาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ kinetin ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรMS (Murashige & Skoog, 1962) ที่สามารถกระตุ้นให้เกิดต้นอ่อนอเมซอนใบแดงจำนวนมาก โดยเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดจากตายอดที่ปลอดเชื้อในอาหารเหลวที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ kinetin ชุดการทดลองต่างๆ แล้วนำขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อไปวางบนเครื่องเขย่า 120 รอบต่อนาที (ภาพที่ 2) ในห้องที่ปรับอุณหภูมิคงที่ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่างวันละ12 ชั่วโมง และเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์ จากนั้นสังเกตและบันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนต้นอ่อนที่เกิดขึ้นใหม่ และบันทึกการเจริญเติบโต ความแข็งแรงสมบูรณ์ของต้นอ่อนที่ได้ นำค่าเฉลี่ยมาเปรียบเทียบกันระหว่างชุดการทดลอง



ภาพที่ 2 เครื่องเขย่าเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ kinetin ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออเมซอนแดง

kinetin	NAA (mg/L)			
(mg/L)	0	0.1	0.2	0.3
0	0,0	0.1,0	0.2,0	0.3,0
1	0,1	0.1,1	0.2,1	0.3,1
2	0,2	0.1,2	0.2,2	0.3,2
3	0,3	0.1,3	0.2,3	0.3,3

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) ด้วยโปรแกรม Statgraphic Version 7

สถานที่จัดทำโครงการ

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยและพัฒนาสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

โรงเรือนของภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาของโครงการ

ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2544 ถึงเดือนกันยายน 2545

ผลการทดลอง

1. การทดลองหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่ออเมซอนใบแดง

ผลจากการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อตายอดของอเมซอนแดงด้วยวิธีการต่าง ๆ นั้น พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์หรือเชื้อราอยู่มาก วิธีการที่ได้ผลควรใช้น้ำยาเมอร์คิวริกคลอไรด์ร่วมด้วยซึ่งต้องปรับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่ให้เหมาะสม หากความเข้มข้นของเมอคิวริกคลอไรด์สูงหรือใช้ระยะเวลาในการฟอกนานจะทำให้เนื้อเยื่อตาย แต่หากไม่ใช้น้ำยาเมอร์คิวริกคลอไรด์การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวก็จะไม่ได้เนื้อเยื่อที่ปลอดเชื้อ

จากการทดสอบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อตายอดของอเมซอนใบแดงทั้ง 5 วิธี พบว่าวิธีที่ปลอดเชื้อมากที่สุดคือ วิธีการแช่ในคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที แล้วนำไปแช่ในคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที จากนั้นจึงนำไปฟอกในเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที แล้วนำเนื้อเยื่อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS พบว่าในระยะเวลา 1 เดือนได้เนื้อเยื่อที่ปลอดจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ 90.00±2.10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) ส่วนการฟอกด้วยวิธีอื่น ๆ พบมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์หรือเชื้อราอยู่มากจนเนื้อเยื่อไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

ตารางที่ 3 อัตราการรอดของเนื้อเยื่อตายอดอเมซอนใบแดงที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่าง ๆ

สารฟอกฆ่าเชื้อ	วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ				
	1	2	3	4	5
1. คลอรอกซ์ 10% นาน 10 นาที	✓	✓	✓	✓	✓
2. คลอรอกซ์ 5% นาน 10 นาที	✓	✓	✓	✓	✓
3. แอลกอฮอล์ 70% นาน 30 วินาที	✓				
4. เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% นาน 2 นาที		✓			
5. เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% นาน 5 นาที			✓		
6. เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.05% นาน 5 นาที				✓	
7. เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.05% นาน 10 นาที					✓
อัตราการรอดของเนื้อเยื่อ (เปอร์เซ็นต์)	0±0[a]	0±0[a]	0±0[a]	90.00±2.10[b]	0±0[a]

2. การทดลองหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ kinetin ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

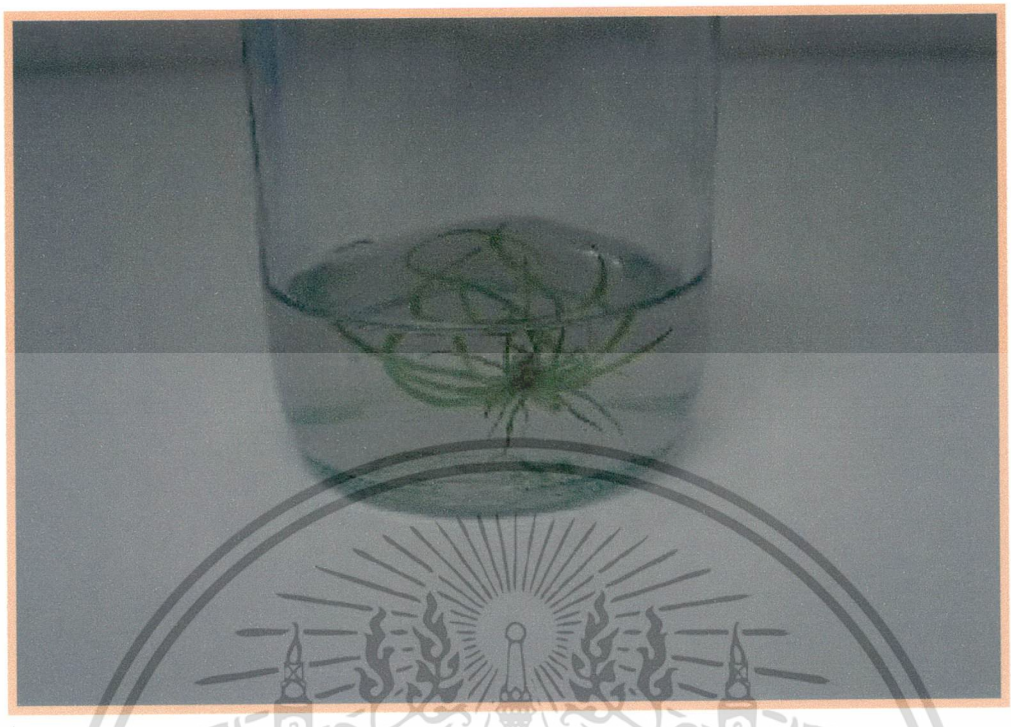
สำหรับการทดลองอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ kinetin ร่วมกันในอัตราส่วนต่างๆ กันพบว่า อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดต้นใหม่จากเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดของอเมซอนใบแดง โดยในสัปดาห์แรกเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่เลี้ยงไว้จะขยายขนาดเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3) ต่อมาในสัปดาห์ที่ 2 จึงเริ่มแทงยอดใหม่ขึ้นมา 1 ยอด จากนั้นจึงเจริญเติบโตสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 3 ของการเลี้ยง(ภาพที่ 4) และเมื่อเลี้ยงไปครบ 1 เดือนจะมีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นพร้อมทั้งมีรากงอกออกมา (ภาพที่ 5) จากนั้นเนื้อเยื่อมีการพัฒนาเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นทั้งรากและการเกิดยอดใหม่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 6-7 ของการเลี้ยง และเมื่ออายุครบ 2 เดือนพบว่ามีต้นอ่อนเพิ่มขึ้น 8-10 ต้น (ภาพที่ 6) และเมื่อนำต้นอ่อนที่ได้ไปแยกเลี้ยงประมาณ 2 สัปดาห์ ต้นอ่อนใหม่นี้จะเจริญเติบโตได้ดีเป็นต้นอเมซอนแดงที่สมบูรณ์แข็งแรง พร้อมนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกได้ (ภาพที่ 7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

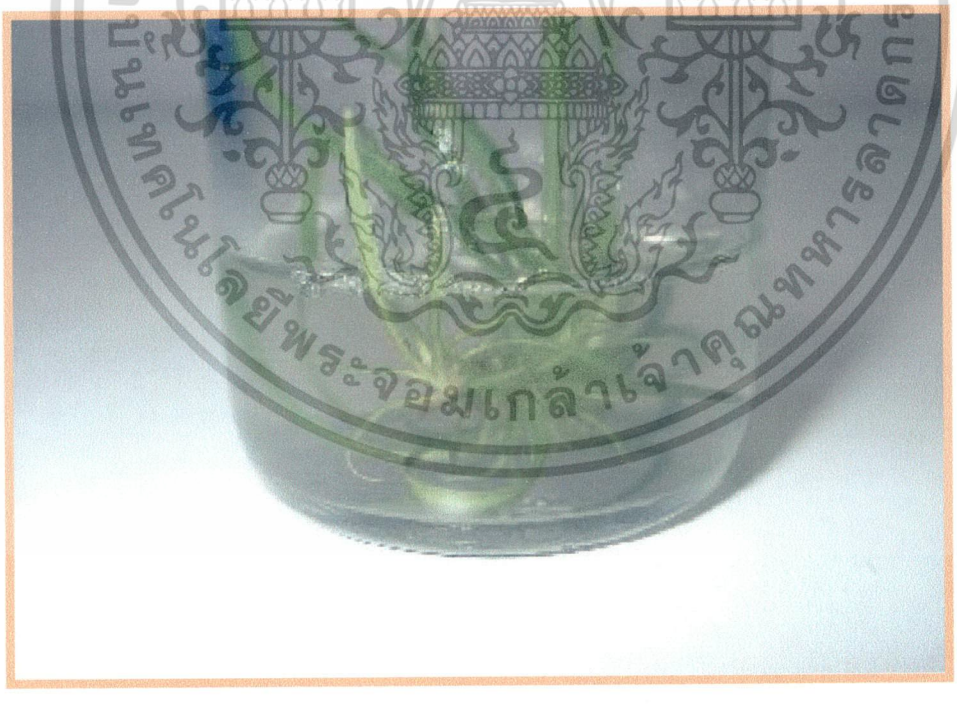
ภาพที่ 3 เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 1 สัปดาห์

ภาพที่ 4 เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 3 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่เลี้ยงในอาหารที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 4 สัปดาห์



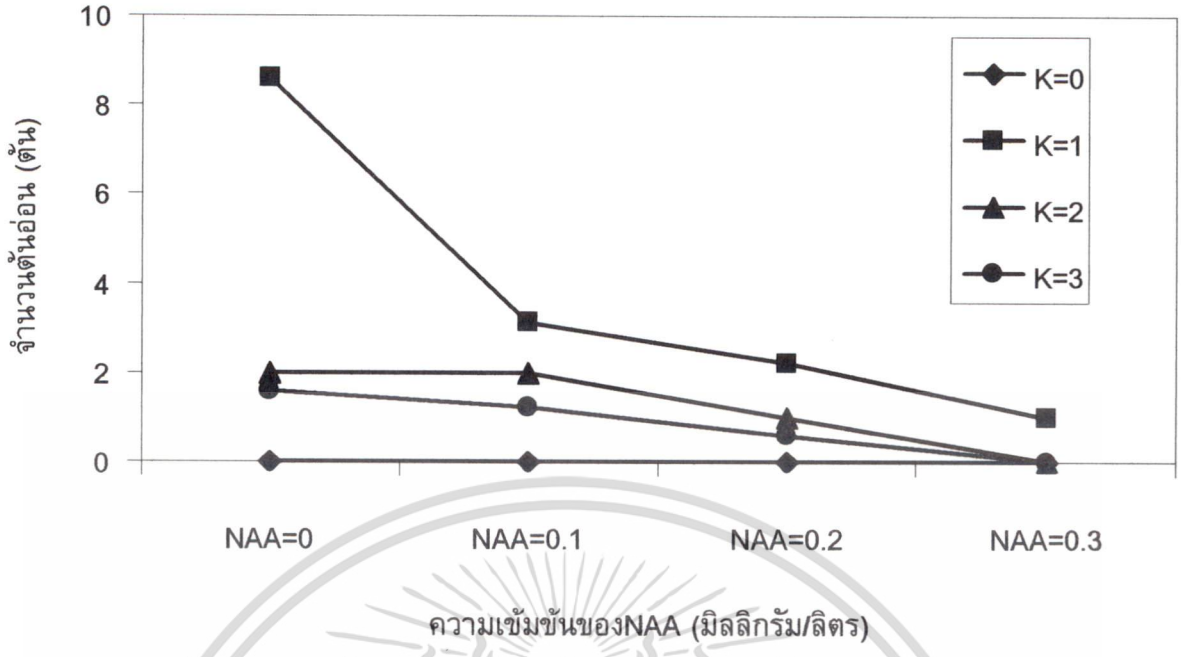
ภาพที่ 6 เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่เลี้ยงในอาหารที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 7 ต้นอ่อนใหม่ที่ได้ นำไปแยกเลี้ยงในขวดใหม่ อายุประมาณ 2 สัปดาห์

จำนวนต้นอ่อนที่ได้จากอาหารสังเคราะห์ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ kinetin ชุดการทดลองต่าง ๆ พบว่าปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เพิ่มขึ้นมีผลให้จำนวนต้นอ่อนที่เกิดขึ้นใหม่น้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) และการเลี้ยงเนื้อเยื่อออเมซอนแดงในอาหารสังเคราะห์ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต kinetin จะไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนใหม่ได้ (ภาพที่ 8) สำหรับอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เนื้อเยื่อตายอดออเมซอนแดงเกิดต้นอ่อนใหม่ได้ดีที่สุดคืออาหารสังเคราะห์สูตรMS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว เมื่อนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก ก็สามารถเจริญเติบโตได้ดี (ภาพที่ 9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ kinetin ที่ชักนำให้เกิดต้นอ่อนของเนื้อเยื่ออเมซอนแดง

ภาพที่ 9 อเมซอนใบแดงที่แข็งแรงสมบูรณ์นำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำอเมซอนใบแดง จะมีปัญหาในการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อมากกว่าพืชบกโดยทั่วไปเนื่องจากอเมซอนใบแดงเป็นพรรณไม้น้ำสวยงามที่อาศัยอยู่บริเวณที่ชื้นแฉะ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเข้าไปอยู่ในท่อลำเลียงน้ำและอาหารภายในลำต้นพรรณไม้น้ำได้มากขึ้น ซึ่งโดยปกติลำต้นพืชอาจมีจุลินทรีย์อยู่ภายในเนื้อเยื่ออยู่แล้ว (Hartman & Zetter, 1972) ดังนั้นการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้คลอรอกซ์เพียงอย่างเดียวในระดับความเข้มข้นต่างๆ จึงไม่ได้ผล ในการทดลองนี้ใช้เมอคิวริกคลอไรด์มาฟอกฆ่าเชื้อซ้ำอีกเพื่อให้ได้เนื้อเยื่อตายอดที่ปลอดเชื้อ มีรายงานการใช้เมอคิวริกคลอไรด์ฆ่าเชื้อโรคในเนื้อไม้ ผัก และต้นอ่อนของมันฝรั่งได้(The Merck Index,1989) ส่วนการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำนั้นต้องปรับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่ให้เหมาะสม เพราะหากความเข้มข้นของเมอคิวริกคลอไรด์สูง หรือใช้ระยะเวลาในการฟอกนานจะทำให้เนื้อเยื่อตาย สอดคล้องกับรายงานการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อหน้าวัวของ Leffering et.al (1976) ที่พบว่าฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อส่วนใบของหน้าวัวนาน 20 นาที พบว่าเนื้อเยื่อจะเสียหายน้อยกว่าการฟอกนานถึง 30 นาที สำหรับการฆ่าเชื้อที่ผิวของพรรณไม้น้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ จากรายงานของมณีรัตน์ (2540) พบว่าวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียสที่ได้ผลดีโดยให้อัตรารอดสูงที่สุดคือ การใช้คลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ หยดสารเปียกใบ 2 หยด นาน 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 2 นาที ต่อจากนั้นนำไปแช่ในเมอคิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วอีก 3 ครั้งๆละ 2 นาที จึงนำไปปลูก แต่จากการทดลองฟอกเนื้อเยื่ออเมซอนใบแดงด้วยวิธีดังกล่าว โดยฟอกด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการทำความสะอาดด้วยคลอรอกซ์ พบว่าเนื้อเยื่อจะตายเนื่องจากความเข้มข้นของเมอคิวริกคลอไรด์สูงเกินไปสำหรับเนื้อเยื่อของอเมซอนใบแดง ซึ่งจากการทดลองพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อของอเมซอนใบแดงโดยใช้เมอคิวริกคลอไรด์ มีความเข้มข้นที่เหมาะสมเพียง 0.05 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที อาจเป็นเพราะเนื้อเยื่อของอเมซอนใบแดงบอบบางกว่าเนื้อเยื่อของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส

สำหรับสูตรอาหาร MS ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออเมซอนใบแดงนั้น จากการทดลองพบว่าอาหารเหลวที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถให้ต้นอ่อนเพิ่มขึ้น 8-10 ต้นภายในเวลา 8 สัปดาห์ ในขณะที่สูตรอาหารอื่น ๆ ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนใหม่ หรือเพิ่มจำนวนต้นใหม่ได้เพียง 1-2 ต้นเท่านั้น แสดงว่าการเกิดต้นอ่อนของอเมซอนใบแดงต้องการ kinetin เพียงอย่างเดียว ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่ม cytokinin โดยไม่จำเป็นต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของ auxin เช่นเดียวกับรายงานของมณีรัตน์และอรุณี (2542) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบพายศรีลังกาที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่ม cytokinin คือ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนที่มีรากสมบูรณ์ได้ ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของใบพายศรีลังกาโดยใช้ BA ความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว ก็สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนใหม่จำนวนมาก (Kane et al.,1999) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวของ Keller et al.(1986) ในอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6-8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัปดาห์ ได้แคลลัสที่เจริญไปเป็นต้นและราก นอกจากนี้อาจเป็นไปได้ว่าการใช้อาหารเหลวจะทำให้เนื้อเยื่ออเมซอนใบแดงสามารถดูดซับน้ำและสารอาหารได้ดีกว่า และความชื้นในขวดอาหารสูงเหมาะกับพรรณไม้น้ำซึ่งอาศัยอยู่บริเวณที่มีความชื้นสูงตามธรรมชาติ เนื้อเยื่ออเมซอนใบแดงจึงเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว

ดังนั้นการเลี้ยงเนื้อเยื่ออเมซอนแดงที่ได้ผลดีที่สุดคือ การเลี้ยงเนื้อเยื่อตายอดของอเมซอนแดงในอาหารเหลวที่เติม kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่ควรใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมด้วยเนื่องจากมีผลให้การเกิดต้นอ่อนลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Unnikrishnan, S.K. 2002. The AquariumPlant Handbook. Oriental Aquarium (S) Pre Ltd., Singapore. 184p.

Windelov, H. 1999. Tropica Aquarium Plants. Oasis Litho Graphics Pte Ltd. Singapore.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Murashige and Skoog (1962)

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัม/ลิตร)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3	6.2
$MnSO_4.H_2O$	6.9
$ZnSO_4.H_2O$	6.14
KI	0.83
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Na_2EDTA	37.25
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine	0.5
Thiamine	0.1
Myo-inositol	100
Surcose	30,000
pH 5.6	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

54632