รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ในการเพิ่มผลผลิตพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส

Temporary immersion bioreactor for micropropagation of *Anubias* spp.

รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

ผศ. สมเกียรติ สีสนอง

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2558

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ในการเพิ่มผลผลิตพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส

Temporary immersion bioreactor for micropropagation of *Anubias* spp.

RCH
ห139ก
2558

รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์
ผศ. สมเกียรติ สีสนอง

.b 12881004
.i

สาขาหมู่
เลขทะเบียน 149082
วัน.เดือน.ปี -4 ธ.ค. 2561

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร
ประจำปีงบประมาณ 2558
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ การใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวในการเพิ่มผลผลิตพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส

Temporary immersion bioreactor for micropropagation of *Anubias* spp.

แหล่งเงิน เงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2558

จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 198,000 บาท

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2557 ถึง กันยายน 2558

ชื่อ-สกุล และพร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัด

รศ.ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ E-mail : nongnuch.la@kmitl.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง

ผศ. สมเกียรติ สีสนอง E-mail : ksesomki@yahoo.com

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

โทร. 0-2329-8517 โทรสาร 0-2329-8517

บทคัดย่อ

พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส *Anubias* spp. เป็นพรรณไม้น้ำชนิดหนึ่งที่มีสีสันสวยงามและลักษณะเด่นเฉพาะตัว ปัจจุบันจึงเป็นที่ต้องการของตลาดพรรณไม้น้ำมาก จนทำให้อนูเบียสมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีมูลค่าการส่งออกสูงเป็นอันดับต้นๆ ของประเทศ แต่ในธรรมชาติเป็นพรรณไม้น้ำที่ขยายพันธุ์ได้ช้า ส่งผลทำให้มีราคาแพงและปริมาณไม่เพียงพอต่อการส่งออก จึงทำให้เกิดการศึกษาการเพิ่มจำนวนต้นพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส 2 ชนิด ได้แก่ *Anubias barteri* 'Broad leaf' และ *Anubias* sp. "White" ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบไบโอรีแอคเตอร์ โดยทำการศึกษาจำนวนครั้งในการให้อาหาร (3, 6, 12 ครั้ง/วัน) และศึกษาระยะการออกรากเปรียบเทียบกับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบดั้งเดิม (เพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง) พบว่าระบบไบโอรีแอคเตอร์สามารถทำให้อนูเบียสทั้ง 2 ชนิด มีจำนวนต้นอ่อนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในรูปแบบดั้งเดิม โดยการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน สามารถทำให้เกิดต้นอ่อนเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 1.92±0.43 และ 3.00±0.54 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระยะการออกรากระหว่างทั้ง 2 ระบบ พบว่าการเกิดจำนวนรากของต้นอนูเบียส *Anubias barteri* 'Broad leaf' (8.53±0.84) และ *Anubias* sp. "White" (7.60±0.93) ในระบบไบโอรีแอคเตอร์ มีจำนวนน้อยกว่าระบบอาหารกึ่งแข็ง (9.85±0.48) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำโดยใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง

สำหรับการเพิ่มผลผลิตพรรณไม้น้ำในเชิงพาณิชย์ เนื่องจากเจริญเติบโตได้รวดเร็วและมีจำนวนต้นพันธุ์มากกว่า ในระยะเวลาที่น้อยกว่าระบบการเพาะเลี้ยงแบบเดิม จึงมีประโยชน์อย่างสูงต่อการขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำเศรษฐกิจเพื่อการส่งออก

Research Title : Temporary immersion bioreactor for micropropagation of *Anubias* spp.

Researcher : Assoc. Prof. Nongnuch Laohavisuti

Department of Animal Production Technology and Fisheries

Assist. Prof. Somkiat Seesanong

Department of Plant Production Technology

Faculty : Faculty of Agricultural Technology

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Ladkrabang, Bangkok

Abstract

Anubias spp. is aquatic plants that are colorful and characterized. Nowadays, anubias has important economic and highest export value of country, but in the natural habitat propagated more slowly. As a result, anubias has expensive and insufficient for export. The study on propagation of two aquatic plants of *Anubias barteri* "Board leaf" and *Anubias* sp. "White" through tissue culture by bioreactor system. These experiments were conduct to find out the determine the optimum feeding time (3,6,12 time/day) and phase of rooting compared with traditional tissue culture (culture in semi-solid medium) After 6 weeks, the result showed that bioreactor system could significantly increase the shoot number of both anubias than traditional tissue culture. Feeding six times a day showed the both anubias were increase of shoot was 1.92±0.43 and 3.00±0.54 respectively. The compare phase of rooting between two culture system, showed that the roots number of *Anubias barteri* "Board leaf" (8.53±0.84) and *Anubias* sp. "White" (7.60±0.93) in bioreactor system were fewer than both anubias on semi-solid medium (9.85±0.48). Plant tissue culture used by bioreactor system was another alternative for increasing productivity in commercial aquatic plants due to rapid growth and number greater in less time than traditional tissue culture. Bioreactor system was highly beneficial to the economy propagated aquatic plant for export.

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	14
ผลการทดลองและวิจารณ์	18
สรุป	30
เอกสารอ้างอิง	31

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลชนิดของระบบในการเพาะเลี้ยง ที่ส่งผลต่อ จำนวนต้นอ่อนที่เพิ่มมากขึ้น และการเจริญเติบโต ของ *L. frutescens* หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 6 สัปดาห์	4
2	ผลของชนิดของระบบในการเพาะเลี้ยง ที่ส่งผลต่อ จำนวนต้นอ่อนที่เพิ่มมากขึ้น และการเจริญเติบโต ของ *L. frutescens* หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 6 สัปดาห์	7
3	ผลของการเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็ง และ ระบบ temporary immersion (T.I.S.) ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนของ *S. tuberosum* L. 2 ชนิด	8
4	ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorophytum borivilianum* ในระบบ temporary immersion bioreactor	11
5	ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ของ *Beta vulgaris L.* ในระบบ temporary immersion bioreactor	12
6	ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ *Anubias barteri* var. 'broad leaf'	19
7	ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ *Anubias* sp. " White"	19
8	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์	25
9	ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนต้นอ่อนของต้น *Anubias barteri* var. 'broad leaf' ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์	27
10	ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนต้นอ่อนของต้น *Anubias* sp. " White" ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์	27

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
11	ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนใบของต้น *Anubias barteri* var. 'broad leaf' ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์	28
12	ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนใบของต้น *Anubias* sp. " White" ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์	28
13	ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อความสูงของต้น *Anubias barteri* var. 'broad leaf' ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์	29
14	ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อความสูงของต้น *Anubias* sp. " White" ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์	29

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ผลการระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน (อาหารแข็ง, อาหารเหลว, ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว) ส่งผลต่อการเจริญเติบโต (น้ำหนักสด, น้ำหนักแห้ง)	4
2	แสดงชีวมวลของต้นอ่อน *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort) จากการเจริญเติบโตในระบบที่แตกต่างกัน	5
3	แสดงวิธีการเพาะเลี้ยงที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และการเพิ่มจำนวนต้นอ่อน *H. canadensis* L.	6
4	แสดงผลการระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันส่งผลต่อการเจริญเติบโต (ความสูงต้นอ่อน, จำนวนใบ) และการพัฒนาของ *C. cujete*	7
5	แสดงอัตราการเพิ่มขึ้น และ ปัจจัยที่กำหนดลักษณะทางกายวิภาค ของการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน *Musa* spp.ใน temporary immersion bioreactor (TIB) และในอาหารกึ่งแข็ง	9
6	แสดงผลของความถี่ในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ที่ส่งผลต่อ อัตราการเพิ่มขึ้นของต้น *Rhodiola crenulata*	10
7	แสดงผลของความถี่ในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ที่ส่งผลต่อ น้ำหนักแห้ง ของ *Datura stramonium*	11
8	แสดงผลของความถี่ในการให้อาหารในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ temporary immersion bioreactor ที่ส่งต่อน้ำหนักแห้งของต้น *Rhodiola crenulata*	13
9	แสดงผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนใบของต้น *Anubias barteri* var. 'broad leaf' ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์	20
10	แสดงผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนใบของต้น *Anubias* sp. " White" ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์	20

สารบัญภาพ (ต่อ)

11	แสดงลักษณะพรรณไม้น้ำ *Anubias barteri* var. 'broad leaf' เมื่อเริ่มต้นการทดลอง	21
12	แสดงลักษณะพรรณไม้น้ำ *Anubias barteri* var. 'broad leaf' เมื่อสิ้นสุดการทดลอง	22
13	แสดงลักษณะพรรณไม้น้ำ *Anubias* sp. " White" เมื่อเริ่มต้นการทดลอง	23
14	แสดงลักษณะพรรณไม้น้ำ *Anubias* sp. " White" เมื่อสิ้นสุดการทดลอง	24
15	แสดงเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์	26
16	แสดงเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง	26

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุนเงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร ประจำปีงบประมาณ 2558

บทที่ 1
คำนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ตลาดพรรณไม้น้ำสวยงามในปัจจุบันนั้นได้มีการขยายตัวมากขึ้น ทำให้มูลค่าการส่งออกสูงนับร้อยล้านบาทต่อปี และยังมีแนวโน้มที่จะขยายตัวมากขึ้นเรื่อยๆ ในต่างประเทศทั้งญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และประเทศในแถบยุโรปนิยมจัดตู้พรรณไม้น้ำที่ตกแต่งด้วยพรรณไม้น้ำชนิดต่างๆ หลากหลายรูปแบบและสีสัน คล้ายกับการจัดสวน พรรณไม้น้ำที่นิยมจะมีหลากหลายชนิด รูปแบบต่างๆ กัน พรรณไม้น้ำที่นิยมกันมากมักจะเป็นพรรณไม้น้ำที่มีสีสันสวยงาม และมีความทนทานสามารถปลูกประดับอยู่ในตู้ได้เป็นเวลานาน พรรณไม้น้ำกลุ่มอนูเบียส *Anubias* spp. เป็นพรรณไม้น้ำสวยงามอีกชนิดหนึ่งที่มีสีสันสวยงาม นิยมใช้ประดับตกแต่งในตู้ปลาและตู้พรรณไม้น้ำเป็นอันดับต้นๆ แต่มีข้อจำกัด คือ อนูเบียสขยายพันธุ์ค่อนข้างยาก การนำมาเพาะเลี้ยงยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร เนื่องจากอนูเบียสขยายพันธุ์ด้วยการแตกหน่อ โดยแตกหน่อช้ามากในแต่ละปี จึงทำให้มีราคาแพงและปริมาณไม่เพียงพอต่อการส่งออก ซึ่งปัจจุบันสามารถผลิตต้นพันธุ์อนูเบียสโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สำเร็จแล้ว เนื่องจากสามารถกำหนดปริมาณการผลิตและคุณภาพของผลผลิตได้ ลดปัญหาเรื่องโรคและแมลงศัตรูรบกวน เช่น ไส้เดือนฝอย ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออกพรรณไม้น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศแถบยุโรป ซึ่งอาจทำลายสินค้าทั้งหมด และลดความน่าเชื่อถือของผลผลิตอนูเบียสจากประเทศไทยได้ แม้ว่าในปัจจุบันสามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียสได้สำเร็จแล้วก็ตาม แต่มีปริมาณต้นพันธุ์ที่ยังน้อยมาก ดังนั้นการเพาะขยายพันธุ์อนูเบียสที่ขยายพันธุ์ได้ช้า และเป็นพรรณไม้น้ำมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ โดยทำการศึกษาการนำเทคโนโลยีใหม่เข้ามาช่วยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ ได้แก่ ระบบไบโอรีแอคเตอร์ จะทำให้พรรณไม้น้ำเจริญเติบโตได้เร็วกว่า เพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ได้มากในระยะเวลาที่น้อยกว่าระบบการเลี้ยงแบบเดิม ช่วยลดต้นทุนการผลิต และสามารถควบคุมคุณภาพพรรณไม้น้ำอนูเบียสส่งออกให้ได้มาตรฐาน เพื่อช่วยฟื้นฟูเศรษฐกิจของประเทศ ทั้งยังสามารถส่งเสริมให้เป็นอาชีพหลักหรืออาชีพเสริมเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงพรรณไม้น้ำ ตลอดจนพัฒนาธุรกิจการส่งออกพรรณไม้น้ำให้ยั่งยืนต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาจำนวนครั้งของการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นอนูเบียส

2. เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอนูเบียสที่ใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์

3. เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอนูเบียสที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งกับต้นอนูเบียสที่ได้ระบบไบโอรีแอคเตอร์

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

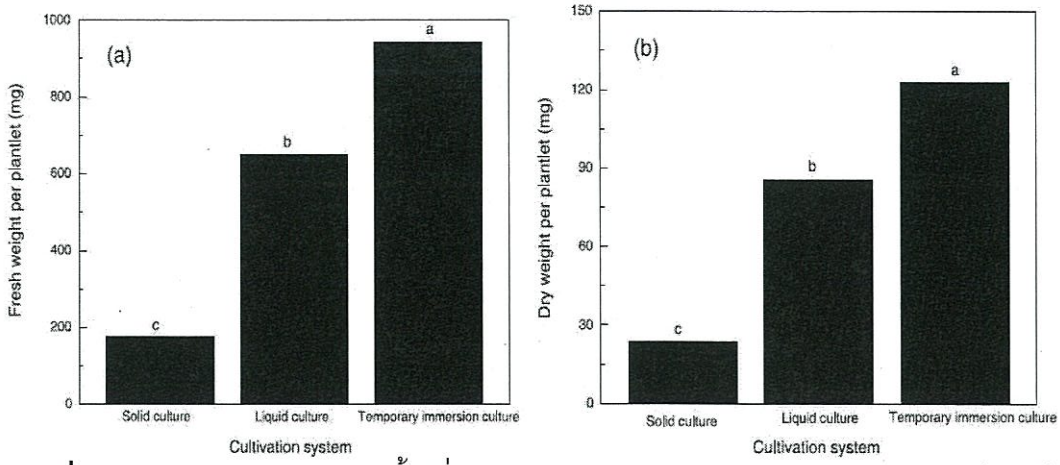
2.1 ลักษณะทั่วไปของพรรณไม้น้ำ *Anubias* spp.

พรรณไม้น้ำ *Anubias* sp. จัดอยู่ในวงศ์ Aracace จัดเป็นพืชมีดอก ใบเลี้ยงเดี่ยวมีขนาดเล็กจนถึงปานกลาง ลำต้นเป็นเหง้าใต้ดิน (rhizome)(Cook, 1996; ปรัชญา, 2537) ใบมีสีเขียวแตกออกจากโคนต้นเป็นกอ (rosettes)(กาญจนรี, 2546) ใบรูปไข่ (ovate) ไปจนถึงใบรูปหอก (lanceolate) โคนใบเป็นรูปมน (auriculate) หรือรูปหัวใจ (cordate) มีกาบใบหุ้มก้านใบ ก้านใบและใบมีสีเขียวเข้มเหนียวแข็งแรง ดอกมีขนาดเล็ก ออกเป็นช่อแบบสแปดิกส์ (spadix) ช่อดอกมีขนาดยาวหรือสั้นกว่ากาบประดับ ไม่มีกลีบดอก ดอกตัวผู้มีเกสร 5-6 อัน ดอกตัวเมียมี 1 คาร์เพล รังไข่มี 2-3 ช่อง มีกาบประดับสีขาวจนถึงสีเขียว

ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

1.ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชชนิดที่ไม่มีลำต้นใต้ดินในด้านน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

Murch *et al.* (2004) ทำการศึกษา ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช solid culture, liquid culture,temporary immersion bioreactor ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ของ *Crescentia cujete* จากการศึกษาพบว่าเพาะเลี้ยงในระบบ temporary immersion bioreactor นั้นทำให้มีปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด (ภาพที่ 1) เนื่องจากระบบไบโอรีแอคเตอร์นั้น เป็นระบบที่มีการหมุนเวียนอากาศภายในภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยง ต้นพันธุ์จึงสามารถนำก๊าซมีประโยชน์ที่เข้าไปในระบบไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ และในตัวระบบนั้นจะอาศัยการทำงานของปั๊มพ์ลมดันอาหารขึ้นไป สัมผัสกับต้นพันธุ์ทำให้ต้นพันธุ์ได้รับปริมาณสารอาหารได้อย่างเต็มที่อีกด้วย



ภาพที่ 1 ผลการระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน (อาหารแข็ง, อาหารเหลว, ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว) ส่งผลต่อการเจริญเติบโต (น้ำหนักสด, น้ำหนักแห้ง)

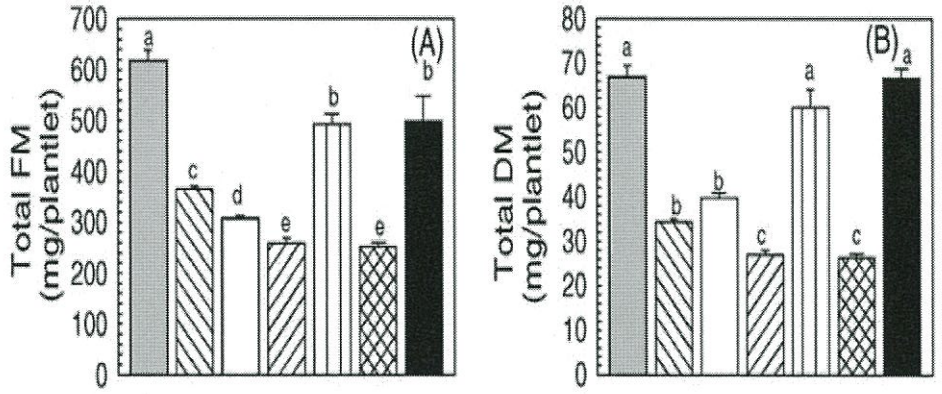
ตารางที่ 1 แสดงผลชนิดของระบบในการเพาะเลี้ยง ที่ส่งผลต่อ จำนวนต้นอ่อนที่เพิ่มมากขึ้น และการเจริญเติบโต ของ *L. frutescens* หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 6 สัปดาห์

Culture type[a]	No. of shoots per explant	Shoot length (mm)	Fresh weight per explant (mg)	Dry weight per explant (mg)	Hyperhydricity
Solid culture	7.8 b[b]	24.7 b	104.2 c	10.3 c	0 c
Bioreactor culture					
Temporary immersion	12.9 a	36.2 a	3109.0 a	351.8 a	50 b
Continuous immersion	9.0 b	20.0 b	1648.8 b	146.2 b	80 a

ที่มา: Shaik *et al.* (2010)

Shaik *et al.* (2010) ศึกษาระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช solid culture in box, temporary immersion bioreactor, continuous immersion bioreactor ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ของ *Lessertia (Sutherlandia) frutescens L* .จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ temporary immersion bioreactor ทำให้มีปริมาณน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด (ตารางที่ 1) เนื่องจากในระบบ temporary immersion bioreactor สามารถควบคุมระยะเวลาและจำนวนครั้งในการให้อาหารแก่พืชได้ จึงสามารถลดความเสียหายในการเกิดอาการฉ่ำน้ำของต้นพันธุ์ได้

Zobayed *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในระบบ temporary immersion bioreactor, Erlenmeyer flask ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ของ *Hypericum perforatum* จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ temporary immersion bioreactor นั้นทำให้มีปริมาณน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด (ภาพที่ 2)

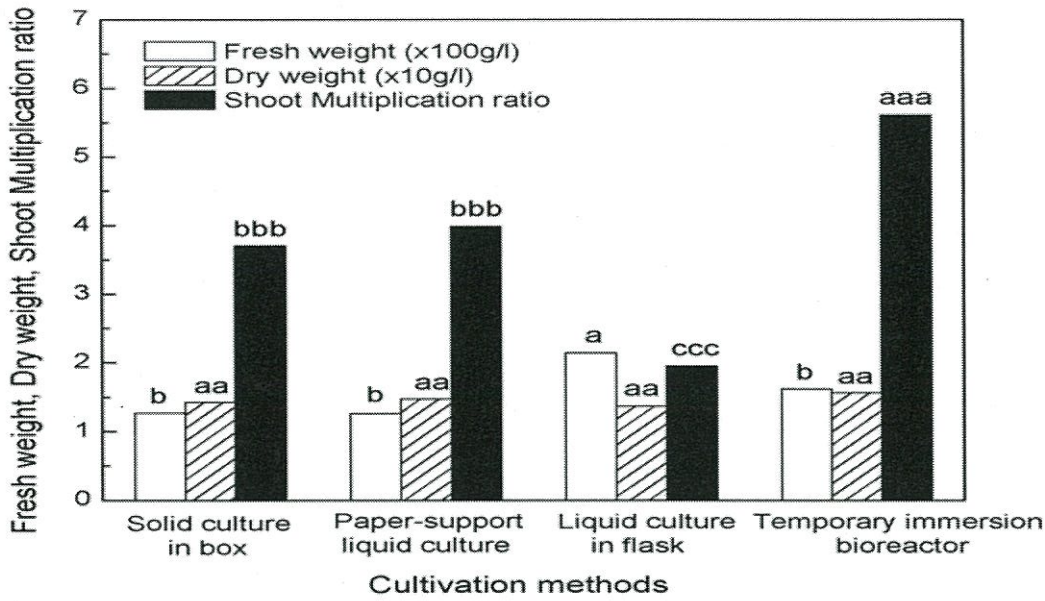


ภาพที่ 2 แสดงชีวมวลของต้นอ่อน *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort) จากการเจริญเติบโตในระบบที่แตกต่างกัน

ที่มา: Zobayed *et al.* (2004)

2.ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชชนิดที่มีลำต้นใต้ดินในด้านน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

He *et al.* (2007) ศึกษา ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช solid culture in box, paper – support liquid culture, liquid culture in flask, temporary immersion bioreactor ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ของ *Hydrastis. canadensis* จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ liquid culture นั้นทำให้มีปริมาณน้ำหนักสดมากที่สุด แต่น้ำหนักแห้งนั้นไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง (ภาพที่ 3) เนื่องจาก มีความเป็นไปได้ว่าพืชชนิดนี้เป็นพืชบก เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวซึ่งมีสถานะเป็นของเหลว อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยา ทำให้สามารถเก็บของเหลวในเนื้อพืชได้เพิ่มมากขึ้น

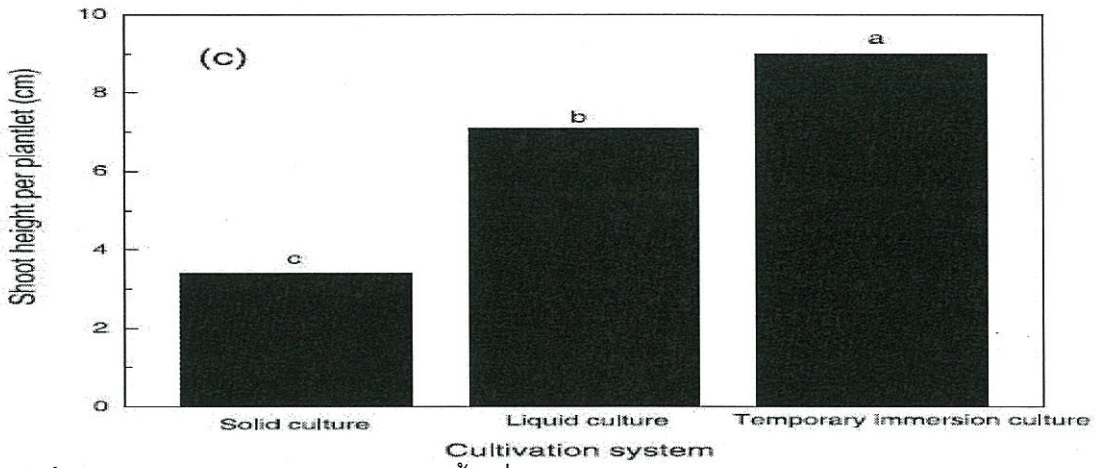


ภาพที่ 3 แสดงวิธีการเพาะเลี้ยงที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และการเพิ่มจำนวนต้นอ่อน *H. canadensis* L.

ที่มา: He *et al.* (2007)

3.การเจริญเติบโต(ความสูงต้นอ่อน และจำนวนต้นอ่อน) ในการเพาะเลี้ยงระบบแตกต่างกันในพืชไม่มีลำต้นใต้ดิน

Murch *et al.* (2004) จากการศึกษา ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช solid culture, liquid culture, temporary immersion bioreactor ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ของ *Crescentia cujete* จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ temporary immersion bioreactor นั้นทำให้มีปริมาณความสูงของต้นอ่อนมากที่สุด (ภาพที่ 4) เนื่องจากระบบไบโอรีแอคเตอร์นั้น เป็นระบบที่มีการหมุนเวียนอากาศภายในภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยง ต้นพันธุ์จึงสามารถนำก๊าซมีประโยชน์ที่เข้าไปในระบบไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ และในตัวระบบนั้นจะอาศัยการทำงานของปั๊มพ์ลมดันอาหารขึ้นไป สัมผัสกับต้นพันธุ์ทุกชิ้นเนื้อเยื่อ ทำให้ต้นพันธุ์ได้รับปริมาณสารอาหารได้อย่างเต็มที่



ภาพที่ 4 แสดงผลการระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันส่งผลต่อการเจริญเติบโต (ความสูงต้นอ่อน, จำนวนใบ) และการพัฒนาของ *C. cujete*

ที่มา: Murch *et al.* (2004)

ตารางที่ 2 ผลของชนิดของระบบในการเพาะเลี้ยง ที่ส่งผลต่อ จำนวนต้นอ่อนที่เพิ่มมากขึ้น และการเจริญเติบโต ของ *L. frutescens* หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 6 สัปดาห์

Culture type[a]	No. of shoots per explant	Shoot length (mm)	Fresh weight per explant (mg)	Dry weight per explant (mg)	Hyperhydricity
Solid culture	7.8 b[b]	24.7 b	104.2 c	10.3 c	0 c
Bioreactor culture					
Temporary immersion	12.9 a	36.2 a	3109.0 a	351.8 a	50 b
Continuous immersion	9.0 b	20.0 b	1648.8 b	146.2 b	80 a

ที่มา: Shaik *et al.* (2010)

Shaik *et al.* (2010) ทำการศึกษา ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช solid culture, temporary Immersion bioreactor, continuous immersion bioreactor ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ของ*Lessertia (Sutherlandia) frutescens L* . จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ temporary immersion bioreactor ทำให้มีปริมาณความสูงต้นอ่อน และจำนวนต้นอ่อนมากที่สุด (ตารางที่ 2)

4.การเจริญเติบโต(ความสูงต้นอ่อน และจำนวนต้นอ่อน) ในการเพาะเลี้ยงระบบแตกต่างกันในพืชชนิดมีลำต้นใต้ดิน

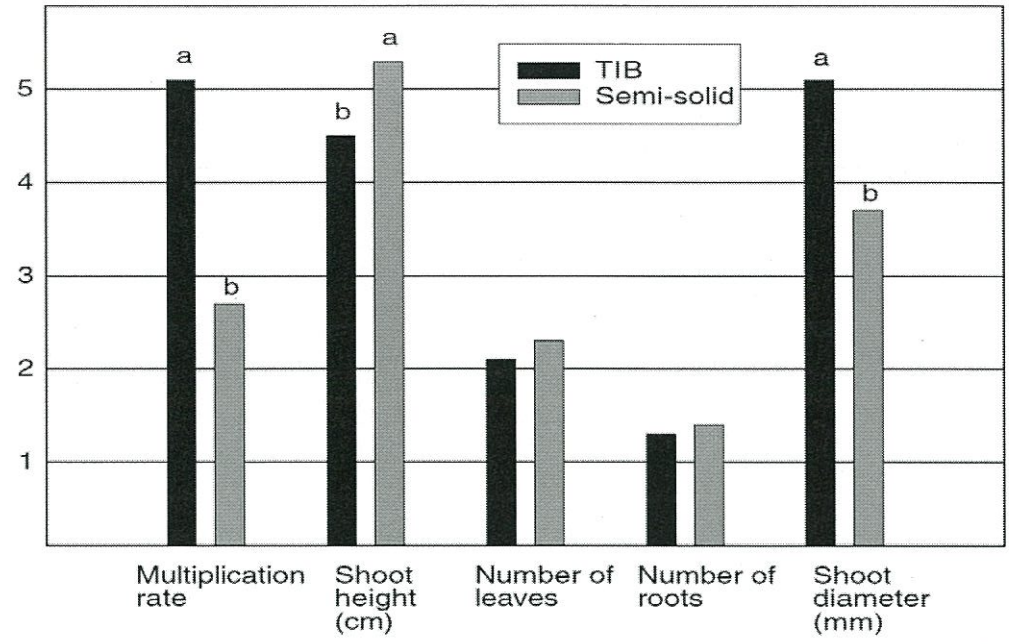
ตารางที่ 3 ผลของการเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็ง และ ระบบ temporary immersion (T.I.S.) ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนของ *S. tuberosum* L. 2 ชนิด

	cv. Desiree		cv. Atlantic	
	Solid culture (x±SE)	T.I.S. (x±SE)	Solid culture (x±SE)	T.I.S. (x±SE)
Shoot length (cm)	6.5±0.1 b	22.5±0.4 a	6.6±0.1 b	19.5±0.2 a
No. of internodes	4.5±0.2 b	11.5±0.2 a	4.5±0.2 b	9.5±0.1 a

ที่มา: Jiménez *et al.* (1999)

Jiménez *et al.* (1999) ทำการศึกษา ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช solid culture, temporary immersion bioreactorที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ของ *Solanum tuberosum* 2 ชนิด จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ temporary immersion bioreactor ทำให้ มีปริมาณความสูงต้นอ่อน และจำนวนต้นอ่อนมากที่สุด (ตารางที่ 3)

Roels *et al.* (2005) ทำการศึกษา ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช semi-solid culture, temporary immersion bioreactor ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ของ *Musa* spp. จากการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ semi – solid culture นั้นทำให้มีปริมาณความสูงของต้นอ่อนมากที่สุด แต่อัตราการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เพิ่มขึ้นในระบบ temporary immersion bioreactor นั้นมีอัตราการเพิ่มขึ้นมากที่สุด แสดงให้เห็นว่า ระบบที่ทำให้ต้นพันธุ์เพิ่มขึ้นได้มาที่สุดคือ ระบบ temporary immersion bioreactor(ภาพที่ 5) ซึ่งในการทดลองของพืชแต่ละชนิด จะมีสูตรอาหารที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันไป จึงทำให้พืชมีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกัน และอาจส่งผลต่อความยาวของพืชได้อีกด้วย

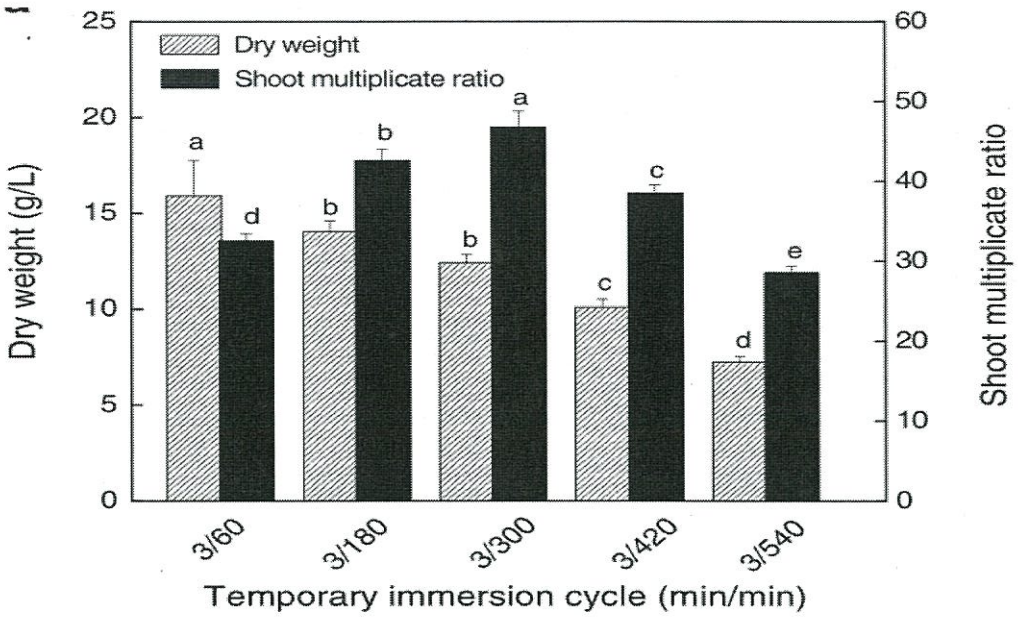


ภาพที่ 5 แสดงอัตราการเพิ่มขึ้น และ ปัจจัยที่กำหนดลักษณะทางกายวิภาค ของการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน *Musa* spp.ใน temporary immersion bioreactor (TIB) และในอาหารกึ่งแข็ง

ที่มา: Roels *et al.* (2005)

ความถี่ในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในระบบไบโอรีแอคเตอร์ จมชั่วคราว

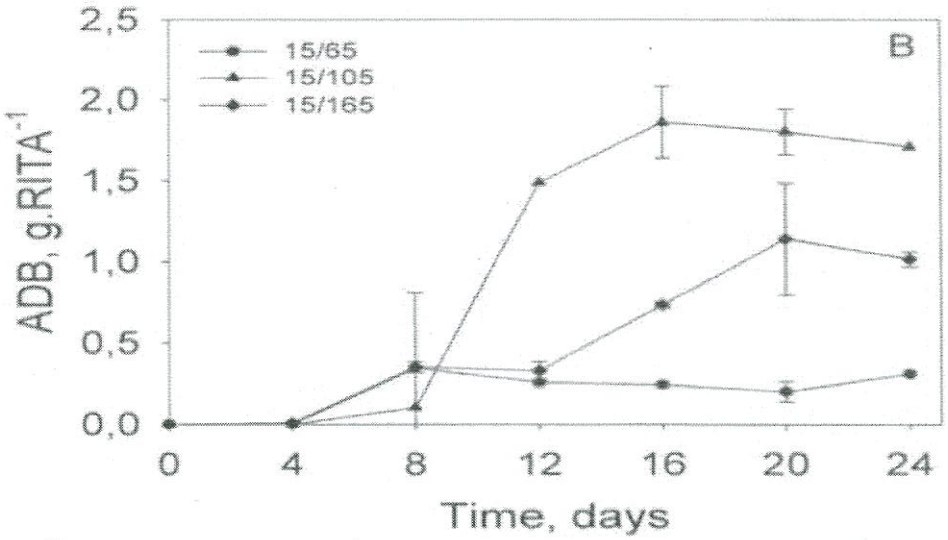
Zhao *et al.* (2012) ทำการศึกษา จำนวนครั้งในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว 3/60, 3/180, 3/300,3/420, 3/540 min/min ที่ส่งผลต่อ *Rhodiola crenulata* พบว่า ที่การให้อาหาร 3/300 min/min ทำให้เกิดจำนวนต้นอ่อนมากที่สุด (ภาพที่ 6) เนื่องจากในพืชแต่ละชนิดนั้นจำเป็นต้องได้รับปริมาณสารอาหารที่แตกต่างกันออกไป ถ้าได้ในปริมาณที่น้อยเกินไปอาจส่งผลในด้านการ คืออาจทำให้มีการเจริญเติบโตได้ไม่เต็มที่มากนัก



ภาพที่ 6 แสดงผลของความถี่ในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ที่ส่งผลต่ออัตราการเพิ่มขึ้นของต้น *Rhodiola crenulata*

ที่มา: Zhao *et al.* (2012)

Georgiev *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษา จำนวนครั้งในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์ แบบจมชั่วคราว 15/65, 15/105, 15/165 min/min ที่ส่งผลต่อ *Datura stramonium* พบว่าที่การให้อาหาร 15/105 min/min มีปริมาณน้ำหนักแห้งสูงที่สุด (ภาพที่ 7) ลักษณะการตอบสนองของพืชแต่ละชนิดกับจำนวนครั้งในการให้อาหารนั้นจะแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด ในกรณีนี้พืชที่มีลักษณะไม่มีลำต้นใต้ดิน เพราะฉะนั้นลักษณะทางสรีระวิทยาไม่จำเป็นในการสะสมสารอาหารไว้ในลำต้นใต้ดินก็สามารถ เจริญเติบโตได้ดี จึงไม่จำเป็นที่จะต้องได้รับอาหารจำนวนครั้งมากนัก ก็สามารถเจริญเติบโตได้ดี



ภาพที่ 7 แสดงผลของความถี่ในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ที่ส่งผลต่อน้ำหนักแห้ง ของ *Datura stramonium*

ที่มา: Georgiev *et al.* (2006)

ตารางที่ 4 ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ*Chlorophytum borivilianum* ในระบบ temporary immersion bioreactor

Immersion frequency	Mean no. of microtubers ± SD²	Mean length of microtubers (mm) ± SD	Mean growth index ± SD	% hyperhydricity
15 min every 75 min	8 ± 0.54c	43 ± 1.9b	10 ± 0.71c	0.0
15 min every 60 min	16 ± 0.5a	52 ± 2.9a	16 ± 0.71a	0.0
15 min every 45 min	13 ± 0.53b	55 ± 3.8a	13 ± 0.55b	10.0

ที่มา: Ashraf *et al.* (2013)

Ashraf *et al.* (2013) ทำการศึกษา จำนวนครั้งในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว 15/45, 15/60, 15/75 min/min พบว่า ที่การให้อาหาร 15/60 min/min มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด (ตารางที่ 4)

3.ความถี่ในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชชนิดที่มีลำต้นใต้ดินในด้านการเจริญเติบโต

ตารางที่ 5 ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ของ *Beta vulgaris L.* ในระบบ temporary immersion bioreactor

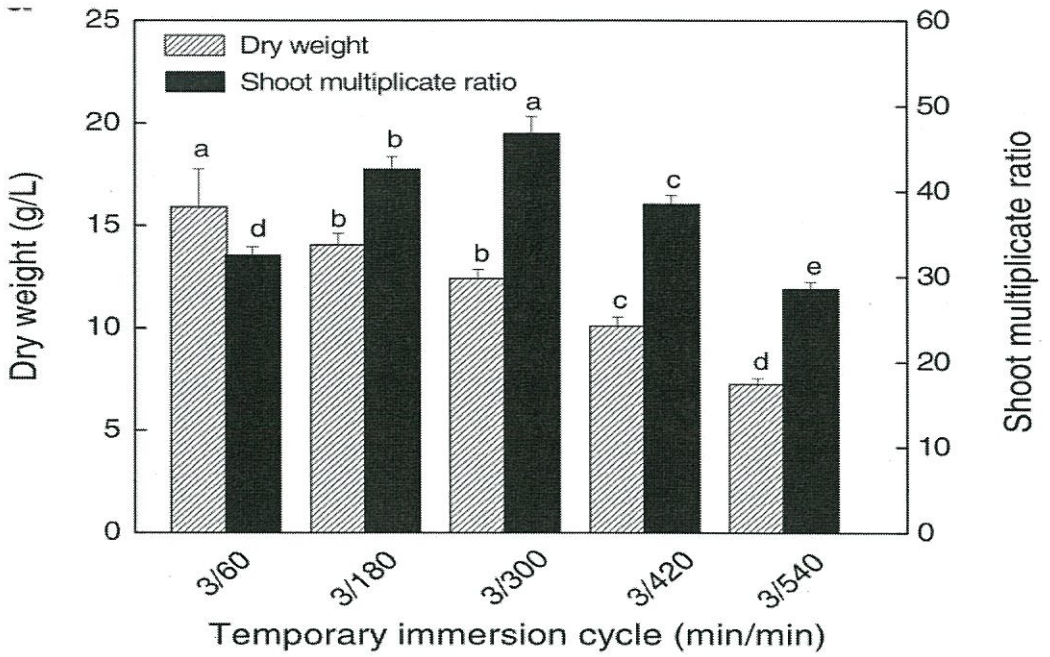
Cultivation system, immersion frequency (flooding/stand-by)	Growth index[a]
RITA®, 15/45	14.7
RITA®, 15/60	14.3
RITA®, 15/75	16.6
RITA®, 15/90	9.0
Flasks, continuously immersion (Pavlov et al. [8])	11.8

[a] Growth Index is calculated on a base of inoculums and final dry weights.

ที่มา: Pavlov *et al.* (2005)

Pavlov *et al.* (2005) ทำการศึกษา จำนวนครั้งในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว 15/45, 15/60, 15/75, 15/90 min/minพบว่า ที่การให้อาหาร 15/75 min/min มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด (ตารางที่ 5) ลักษณะการตอบสนองของพืชแต่ละชนิดกับจำนวนครั้งในการให้อาหารนั้นจะแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด ในกรณีนี้พืชที่มีลักษณะมีลำต้นใต้ดินเพราะฉะนั้นลักษณะทางสรีระวิทยาจำเป็นในการสะสมสารอาหารไว้ในลำต้นใต้ดิน เพราะฉะนั้นจำเป็นที่จะต้องได้รับอาหารจำนวนครั้งมากกว่าพืชชนิดอื่น จึงสามารถเจริญเติบโตได้ดี

Zhao *et al.* (2012) จากการศึกษา จำนวนครั้งในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว 3/60, 3/180, 3/300, 3/420, 3/540 min/min ที่ส่งผลต่อ *Rhodiola crenulata* พบว่า ที่การให้อาหาร 3/60 min/min มีปริมาณ น้ำหนักแห้งสูงที่สุด (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 แสดงผลของความถี่ในการให้อาหารในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ temporary immersion bioreactor ที่ส่งต่อน้ำหนักแห้งของต้น *Rhodiola crenulata*

ที่มา: Zhao *et al.* (2012)

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์

3.1 เตรียมเนื้อเยื่อ white Anubias ก่อนการทำการทดลอง

3.1.1 ขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

3.1.2 กระบอกตวงขนาด 1000 ml , 500 ml

3.1.3 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

3.1.4 บีกเกอร์ขนาด 500 ml, 100 ml

3.1.5 แท่งแก้วคนสาร

3.1.6 หลอดหยดสาร

3.1.7 ช้อนตักสาร

3.1.8 ไมโครปิเปตขนาด 1000 µl

2. เตรียมระบบไบโอรีแอคเตอร์

2.1 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

2.2 ปั๊มพ์ลม

2.3 สายซิลิโคน

2.4 ข้อต่อกระจายลม

2.5 ซิลิโคน

3.2 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยมีจำนวนครั้งในการให้อาหารของระบบไบโอรีแอคเตอร์ เป็นปัจจัยในการศึกษา แบ่งการทดลองเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

ชุดการทดลองที่ 1	ระบบอาหารกึ่งแข็ง (ชุดควบคุม)
ชุดการทดลองที่ 2	ระบบไบโอรีแอคเตอร์ ให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที
ชุดการทดลองที่ 3	ระบบไบโอรีแอคเตอร์ ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที
ชุดการทดลองที่ 4	ระบบไบโอรีแอคเตอร์ ให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที

3.3 วิธีการทดลอง

1. ทำการขยายต้นพันธุ์พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียสโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตามวิธีของมณีรัตน์ (2540)

1.1 นำต้นอนูเบียสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาเพาะเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลว สูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ร่วมด้วยฮอร์โมน BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Adenine sulfate 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนจำนวน 5 ต้น ในระบบอาหารกึ่งแข็งปริมาตร 150 มิลลิลิตร ส่วนระบบไบโอรีแอคเตอร์เลี้ยงต้นพันธุ์จำนวน 10 ต้น ในอาหารเหลวปริมาตร 300 มิลลิลิตร

1.2 จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีการให้แสง 2,500 ลักซ์ ช่วงการให้แสงวันละ 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

1.3 บันทึกการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อทุกๆ สัปดาห์ในแต่ละชุดการทดลอง โดยนับจำนวนต้นต่อชิ้นส่วน จำนวนต้นอ่อนที่เกิดใหม่ต่อชิ้นส่วน จำนวนใบต่อชิ้นส่วน วัดความสูงต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวราก ชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

2. เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์

2.1 วางแผนการทดลองแบบ One sample T-test โดยศึกษาการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียสที่เพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์

2.2 นำต้นพันธุ์อนูเบียสจากการขยายพันธุ์ในการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการเพาะเลี้ยง 2 วิธี คือ การเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์ ในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยทำการเพาะเลี้ยงต้นอนูเบียสจำนวน 5 ต้น ในระบบอาหารกึ่งแข็งปริมาตร 150 มิลลิลิตร ส่วนระบบไบโอรีแอคเตอร์เลี้ยงต้นพันธุ์จำนวน 10 ต้น ในอาหารเหลวปริมาตร 300 มิลลิลิตร

2.3 จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีการให้แสง 2,500 ลักซ์ ช่วงการให้แสงวันละ 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

2.4 บันทึกการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อทุกๆ สัปดาห์ในแต่ละชุดการทดลอง โดยนับจำนวนต้นต่อชิ้นส่วน จำนวนใบต่อชิ้นส่วน วัดความสูงต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวราก ชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

3. เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอนูเบียสที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งเปรียบเทียบกับระบบไบโอรีแอคเตอร์

3.1 วางแผนการทดลองแบบ (Completely Randomized Design, CRD) โดยศึกษาลักษณะต้นอนูเบียสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบอาหารกึ่งแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อนำออกปลูกในระบบการปลูกพืชไร้ดิน

3.2 เตรียมระบบปลูกพืชไร้ดินแบบ DFT (Deep Flow Technique)

3.3 สุ่มต้นอนูเบียสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง และระบบไบโอรีแอคเตอร์ ชุดการทดลองละ 150 ต้น ตัดรากและใบออกบางส่วนเพื่อป้องกันการเน่าของราก พันด้วยใยหิน (rock wool) ใส่ลงถ้วยปลูก นำไปอนุบาลในกระบะที่คลุมด้วยพลาสติกใสเพื่อควบคุมความชื้น หลังจากนั้นเปิดพลาสติกคลุมออกเมื่อพรรณไม้น้ำสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความชื้นปกติ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.4 คัดเลือกต้นอนูเบียสที่มีขนาดใกล้เคียงกัน มาใช้ทดลองในระบบ DFT ที่มีสารละลายธาตุอาหาร โดยปรับสารละลายเริ่มต้นที่ระดับความเข้มข้น 0.75 มิลลิซีเมนต์ต่อเซนติเมตร และทุกๆ สัปดาห์ ทำการเติมสารละลายธาตุอาหารและค่อยๆ ปรับระดับความเข้มข้นจนถึงระดับ 1.5 มิลลิซีเมนต์ต่อเซนติเมตร

3.5 สังเกตและบันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่ จำนวนต้นอ่อน จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ ความหนาใบ และความสูงต้น เป็นระยะเวลานาน 16 สัปดาห์

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. นำข้อมูลการเจริญเติบโต การวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืช มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของชุดการทดลองทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test จากโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS v.16.0 for windows

3. นำข้อมูลการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกหลายทาง (Factorial design) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของชุดการทดลองทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test จากโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS v.16.0 for windows

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ ห้องปฏิบัติการโภชนาการ และโรงเรือนปลูกพรรณไม้น้ำ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

เดือนมิถุนายน 2558 - เดือนสิงหาคม 2559

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 อิทธิพลของจำนวนครั้งของการให้อาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส ในระบบไบโอรีแอคเตอร์

จากการศึกษาอิทธิพลของจำนวนครั้งของการให้อาหารในการเพิ่มปริมารณต้นพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส ที่เหมาะสมในระบบไบโอรีแอคเตอร์ โดยกำหนดจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ 3, 6 และ 12 ครั้งต่อวัน ระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ในชุดการทดลองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ ที่มีจำนวนครั้งในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ โดย *Anubias barteri* var. 'broad leaf' นั้นมีจำนวนต้นเฉลี่ย มากที่สุดเท่ากับ 1.92±0.43 ส่วนความสูงเฉลี่ย จำนวนใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยมากที่สุดในชุดควบคุม เท่ากับ 17.67±0.87, 4.25±0.46, 1.17±0.12 และ 0.11±0.01 ตามลำดับ มีปริมาณมากกว่าในชุดการทดลองที่ทำการทดลองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ (ตารางที่ 6, ภาพที่ 9) และ *Anubias* sp. " White" นั้นมี จำนวนต้น, จำนวนใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ย มีปริมาณมากที่สุดเท่ากับ 3.00±0.54, 2.50±0.58, 0.29±0.04 และ 0.06±0.01ตามลำดับ ส่วนปริมาณความสูงเฉลี่ยมากที่สุดในชุดควบคุม เท่ากับ 17.67±0.87 (ตารางที่ 7, ภาพที่ 10) เนื่องจากระบบไบโอรีแอคเตอร์นั้น เป็นระบบที่มีการหมุนเวียนอากาศภายในภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยงต้นพันธุ์จึงสามารถนำก๊าซมีประโยชน์ที่เข้าไปในระบบไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ และในตัวระบบนั้นจะอาศัยการทำงานของปั๊มพ์ลมดันอาหารขึ้นไป สัมผัสกับต้นพันธุ์ทำให้ต้นพันธุ์ได้รับปริมาณสารอาหารได้อย่างเต็มที่อีกด้วย ในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์นั้น จำนวนครั้งที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชมีความสำคัญอย่างยิ่งถ้าได้รับปริมาณอาหารเหลวในระบบการทดลองมากเกินไปอาจเกิดอาการฉ่ำน้ำของต้นพันธุ์ และทำให้ต้นพันธุ์เสียหายได้

ตารางที่ 6 ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ *Anubias barteri* var. 'broad leaf'

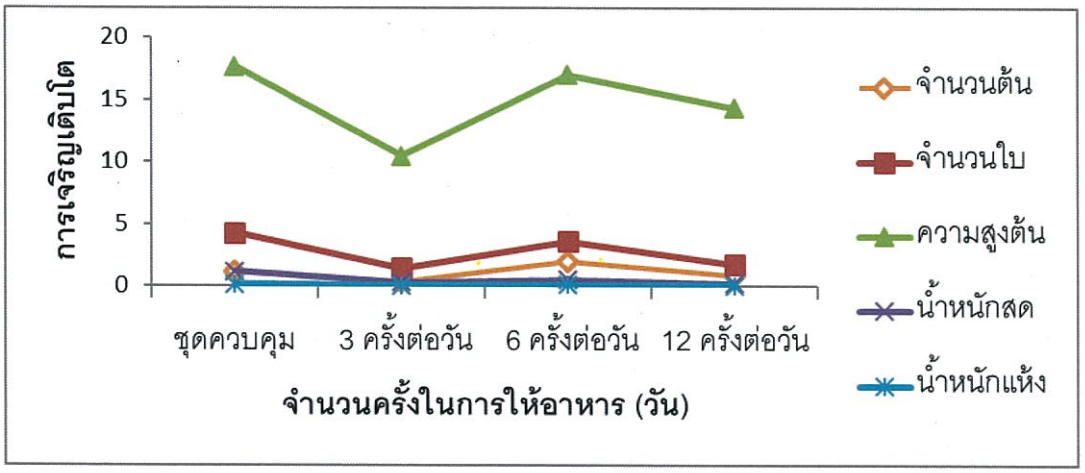
ชุดการทดลอง	ความสูง	จำนวนต้น	จำนวนใบ	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
ชุดควบคุม	17.67±0.87^{a}	1.13±0.21^{b}	4.25±0.46^{a}	1.17±0.12^{a}	0.11±0.01^{a}
3 ครั้งต่อวัน	10.46±0.60^{c}	0.29±0.19^{b}	1.42±0.38^{b}	0.30±0.02^{bc}	0.04±0.00^{bc}
6 ครั้งต่อวัน	17.01±1.16^{ab}	1.92±0.43^{a}	3.58±0.36^{a}	0.49±0.06^{b}	0.05±0.00^{b}
12 ครั้งต่อวัน	14.31±1.11^{b}	0.83±0.28^{a}	1.75±0.35^{b}	0.19±0.02^{c}	0.02±0.00^{c}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

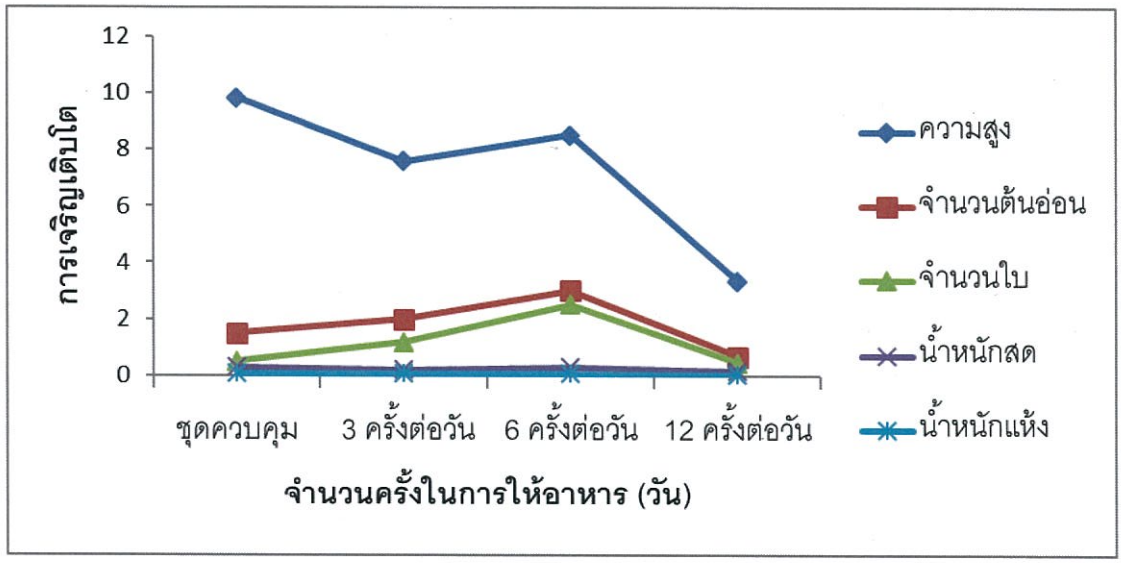
ตารางที่ 7 ผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ *Anubias* sp. " White"

ชุดการทดลอง	ความสูง	จำนวนต้น	จำนวนใบ	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
ชุดควบคุม	9.85±0.48^{a}	1.50±0.30^{bc}	0.50±0.18^{b}	0.29±0.05^{a}	0.05±0.01^{a}
3 ครั้งต่อวัน	7.60±0.93^{b}	2.00±0.49^{ab}	1.17±0.56^{b}	0.20±0.03^{ab}	0.05±0.01^{a}
6 ครั้งต่อวัน	8.53±0.84^{ab}	3.00±0.54^{a}	2.50±0.58^{a}	0.29±0.04^{a}	0.06±0.01^{a}
12 ครั้งต่อวัน	3.36±0.38^{c}	0.67±0.22^{c}	0.44±0.22^{b}	0.16±0.01^{b}	0.02±0.00^{b}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

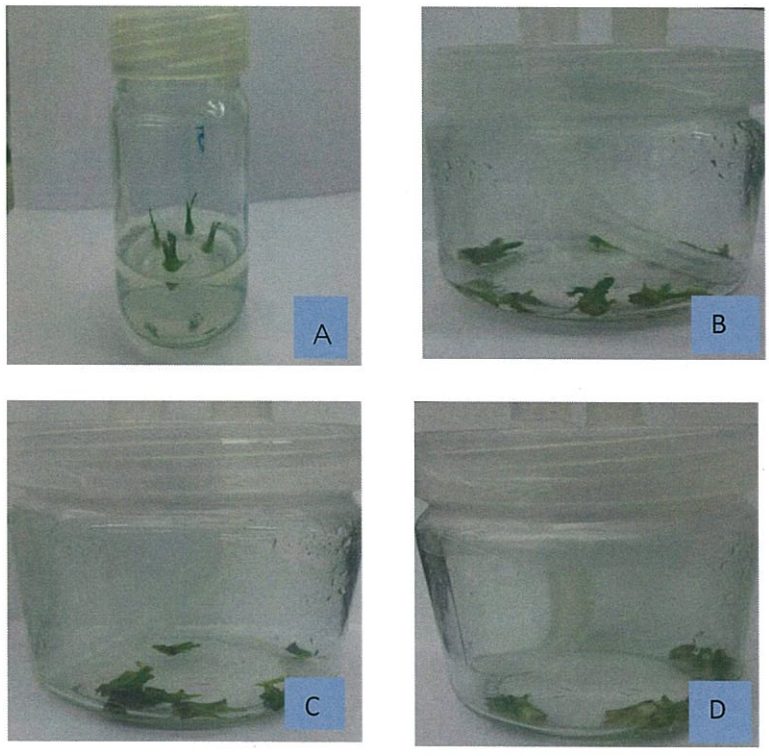


ภาพที่ 9 แสดงผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนใบของต้น *Anubias barteri* var. 'broad leaf' ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์

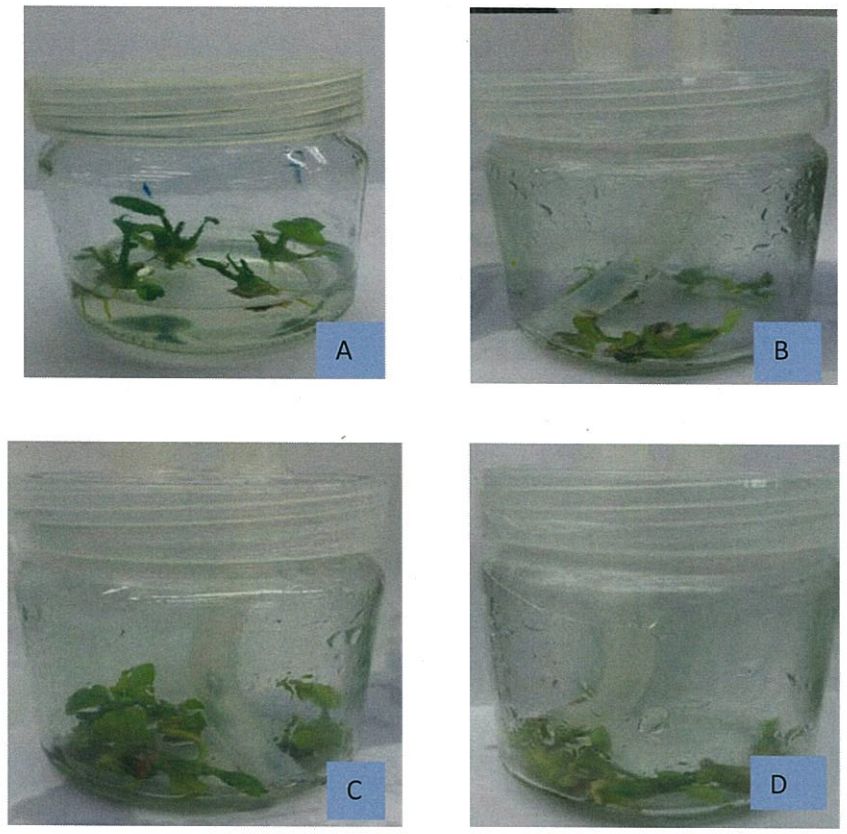


ภาพที่ 10 แสดงผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนใบของต้น *Anubias* sp. " White" ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์

A

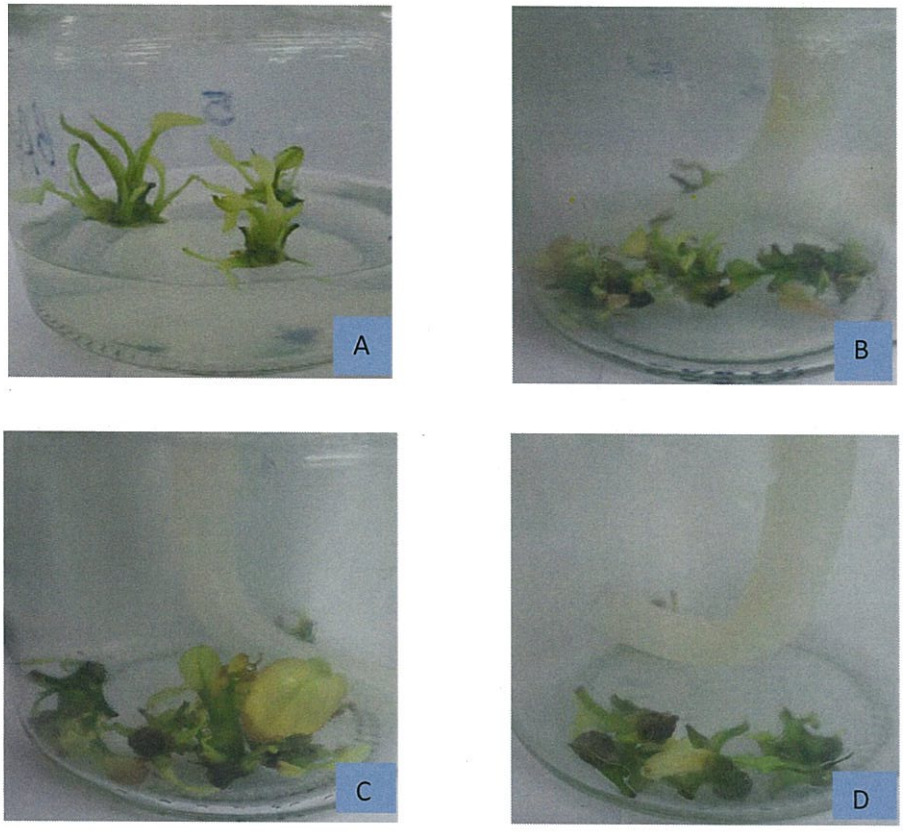


ภาพที่ 11 แสดงลักษณะพรรณไม้น้ำ *Anubias barteri* var. 'broad leaf' เมื่อเริ่มต้นการทดลอง A. พรรณไม้น้ำการทดลองชุดควบคุม B. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน C. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน D. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน



ภาพที่ 12 แสดงลักษณะพรรณไม้น้ำ *Anubias barteri* var. 'broad leaf' เมื่อสิ้นสุดการทดลอง A. พรรณไม้น้ำการทดลองชุดควบคุม B. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน C. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน D.พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน

ภาพที่ 13 แสดงลักษณะพรรณไม้น้ำ *Anubias* sp. " White" เมื่อเริ่มต้นการทดลอง A. พรรณไม้น้ำการทดลองชุดควบคุม B. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน C. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน D. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน



ภาพที่ 14 แสดงลักษณะพรรณไม้น้ำ *Anubias* sp. " White" เมื่อสิ้นสุดการทดลอง A. พรรณไม้น้ำการทดลองชุดควบคุม B. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน C. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน D. พรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน

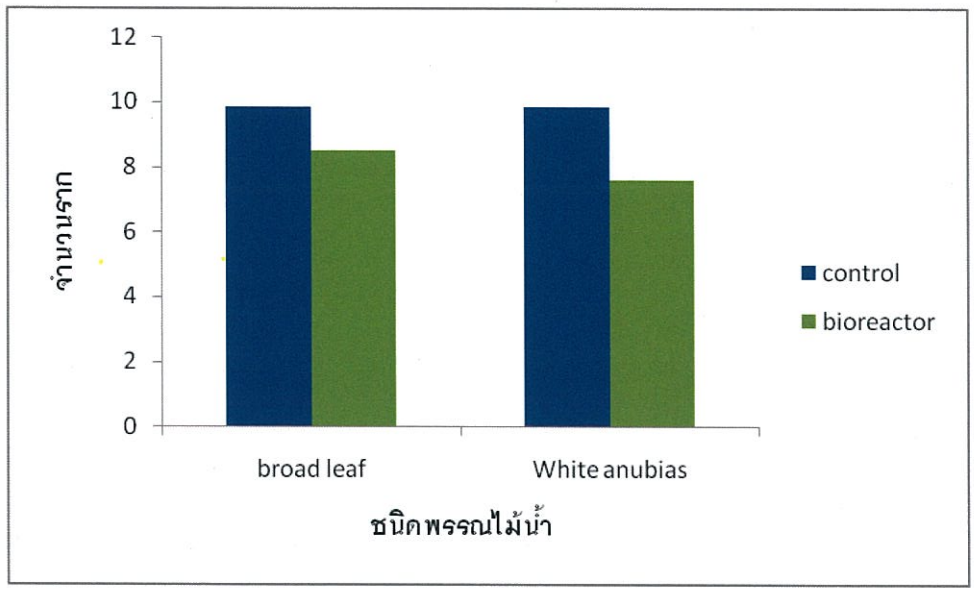
4.2 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์

จากการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ พบว่า ในชุดการทดลองด้วยระบบอาหารกึ่งแข็งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เนื่องจากในระบบการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งนั้น ลักษณะจะมีวุ้นเป็นองค์ประกอบซึ่งเมื่อแข็งตัวนั้นจะยึดหยุ่นได้ดีและเหมาะกับการยึดเกาะของรากพรรณไม้น้ำเป็นอย่างยิ่ง ทำให้มีจำนวนรากมากกว่าและมีระยะการออกรากเกิดขึ้นเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์

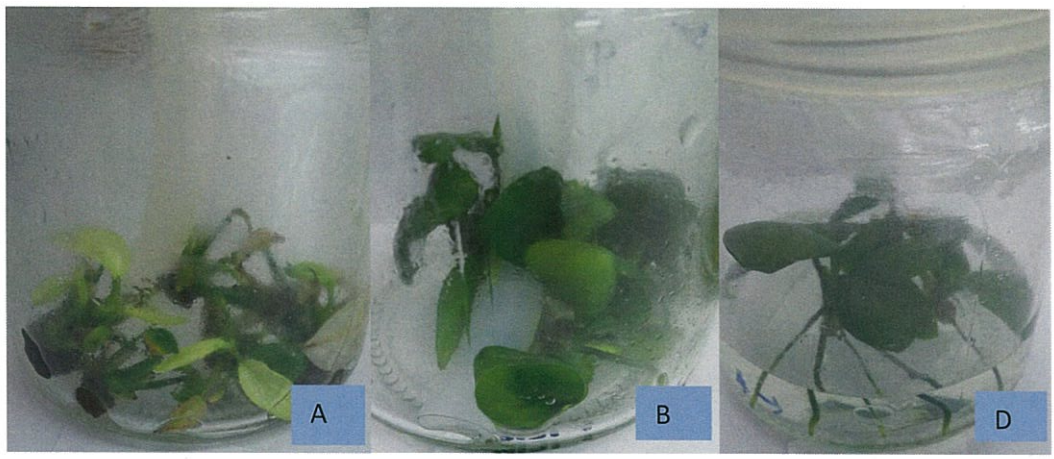
ตารางที่ 8 แสดงเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์

treatment	*Anubias* sp. " White"	*Anubias barteri* var. 'broad leaf'
control	9.85±0.48[a]	9.85±0.48[a]
bioreactor	7.60±0.93[b]	8.53±0.84[b]

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอนบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 15 แสดงเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์



ภาพที่ 16 แสดงเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง A. พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส *Anubias* sp. " White"ในระบบไบโอรีแอคเตอร์ B. พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส *Anubias barteri* var. 'broad leaf' ในระบบไบโอรีแอคเตอร์ C. พรรณไม้สกุลอนูเบียสในระบบกรเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง

ตารางที่ 9 แสดงผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนต้นอ่อนของต้น *Anubias barteri* var. 'broad leaf' ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์

	ชุดควบคุม	3 ครั้งต่อวัน	6 ครั้งต่อวัน	12 ครั้งต่อวัน
สัปดาห์				
0	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}
1	0.08 ± 0.08^{a}	0.08 ± 0.08^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.04 ± 0.04^{a}
2	0.92 ± 0.16^{a}	0.29 ± 0.15^{b}	0.46 ± 0.15^{b}	0.21 ± 0.08^{b}
3	1.00 ± 0.17^{a}	0.29 ± 0.15^{b}	0.71 ± 0.19^{ab}	0.58 ± 0.19^{ab}
4	1.00 ± 0.17^{a}	0.29 ± 0.15^{b}	1.04 ± 0.19^{a}	0.83 ± 0.22^{a}
5	1.13 ± 0.16^{ab}	0.29 ± 0.15^{c}	1.42 ± 0.20^{a}	0.83 ± 0.22^{b}
6	1.13 ± 0.16^{b}	0.29 ± 0.15^{c}	1.92 ± 0.34^{a}	0.83 ± 0.22^{bc}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอนบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 10 แสดงผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนต้นอ่อนของต้น *Anubias* sp. " White" ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์

	ชุดควบคุม	3 ครั้งต่อวัน	6 ครั้งต่อวัน	12 ครั้งต่อวัน
สัปดาห์				
0	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}
1	0.00 ± 0.00^{a}	0.06 ± 0.06^{a}	0.06 ± 0.06^{a}	0.06 ± 0.06^{a}
2	0.06 ± 0.06^{b}	0.50 ± 0.23^{ab}	0.61 ± 0.16^{a}	0.28 ± 0.11^{ab}
3	0.61 ± 0.23^{a}	1.06 ± 0.29^{a}	1.22 ± 0.26^{a}	0.50 ± 0.19^{a}
4	0.72 ± 0.24^{b}	1.56 ± 0.37^{a}	1.89 ± 0.30^{a}	0.67 ± 0.20^{b}
5	1.39 ± 0.30^{ab}	1.61 ± 0.40^{ab}	2.33 ± 0.44^{a}	0.67 ± 0.20^{b}
6	1.50 ± 0.27^{bc}	2.00 ± 0.45^{ab}	3.00 ± 0.49^{a}	0.67 ± 0.20^{b}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอนบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 11 แสดงผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนใบของต้น*Anubias barteri* var. 'broad leaf' ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์

	ชุดควบคุม	3 ครั้งต่อวัน	6 ครั้งต่อวัน	12 ครั้งต่อวัน
สัปดาห์				
0	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}
1	0.71±0.19^{a}	0.38±0.13^{a}	0.17±0.08^{a}	0.83±0.41^{a}
2	1.96±0.24^{a}	0.75±0.18^{b}	0.92±0.13^{b}	0.79±0.13^{b}
3	2.79±0.35^{a}	0.83±0.20^{c}	1.71±0.19^{b}	1.42±0.24^{bc}
4	3.38±0.35^{a}	1.25±0.26^{c}	2.42±0.19^{b}	1.79±0.27^{bc}
5	3.50±0.35^{a}	1.38±0.29^{b}	3.04±0.18^{a}	1.75±0.28^{b}
6	4.25±0.37^{a}	1.42±0.30^{b}	3.58±0.29^{a}	1.75±0.28^{b}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอนบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 12 แสดงผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อจำนวนใบของต้น *Anubias* sp. " White" ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์

	ชุดควบคุม	3 ครั้งต่อวัน	6 ครั้งต่อวัน	12 ครั้งต่อวัน
สัปดาห์				
0	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}
1	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}
2	0.06±0.06^{b}	0.00±0.00^{b}	0.61±0.16^{a}	0.00±0.00^{b}
3	0.22±0.10^{b}	0.06±0.06^{b}	0.44±0.15^{a}	0.17±0.09^{b}
4	0.39±0.12^{b}	0.22±0.10^{b}	1.00±0.23^{a}	0.22±0.10^{b}
5	0.50±0.15^{b}	0.50±0.23^{b}	1.22±0.31^{a}	0.39±0.18^{b}
6	0.50±0.17^{b}	1.17±0.51^{b}	2.50±0.53^{a}	0.44±0.20^{b}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอนบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 13 แสดงผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อความสูงของต้น *Anubias barteri* var. 'broad leaf' ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์

	ชุดควบคุม	3 ครั้งต่อวัน	6 ครั้งต่อวัน	12 ครั้งต่อวัน
สัปดาห์				
0	7.84±0.13^{a}	7.87±0.30^{a}	7.86±0.10^{a}	7.76±0.17^{a}
1	14.19±0.64^{a}	11.82±0.60^{a}	11.94±0.52^{a}	12.11±0.52^{a}
2	19.03±0.90^{a}	15.14±0.60^{b}	15.36±0.86^{b}	15.22±0.81^{b}
3	22.04±0.88^{a}	16.70±0.67^{b}	19.44±1.07^{a}	19.53±0.88^{a}
4	23.06±0.89^{a}	17.63±0.66^{b}	21.61±0.97^{a}	21.38±0.93^{a}
5	24.26±0.87^{a}	18.29±0.67^{b}	23.54±0.98^{a}	21.93±1.04^{a}
6	25.50±0.88^{a}	18.34±0.67^{c}	24.87±1.15^{a}	22.07±1.04^{b}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอนบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 14 แสดงผลของจำนวนครั้งในการให้อาหารในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ส่งผลต่อความสูงของต้น *Anubias* sp. " White" ในระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์

	ชุดควบคุม	3 ครั้งต่อวัน	6 ครั้งต่อวัน	12 ครั้งต่อวัน
สัปดาห์				
0	8.99±0.16^{a}	8.87±0.69^{a}	10.36±0.69^{a}	9.11±0.38^{a}
1	9.53±0.21^{b}	9.66±0.88^{b}	11.71±0.83^{a}	10.48±0.43^{ab}
2	10.51±0.37^{a}	11.97±1.02^{a}	12.28±0.84^{a}	11.25±0.48^{a}
3	11.93±0.54^{a}	12.34±1.05^{a}	13.13±0.91^{a}	11.59±0.52^{a}
4	15.90±0.55^{a}	13.84±1.27^{ab}	14.35±0.95^{ab}	12.05±0.57^{b}
5	17.11±0.49^{a}	15.43±1.41^{a}	16.55±1.13^{a}	12.39±0.57^{b}
6	18.84±0.47^{a}	16.47±1.46^{a}	18.89±1.34^{a}	12.47±0.58^{b}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอนบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

จากกรศึกษาจำนวนครั้งในการให้อาหารพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส 0 ครั้ง, 3 ครั้ง, 6 ครั้ง, 12 ครั้ง ระยะเวลา 6 สัปดาห์ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. จำนวนครั้งในการให้อาหารที่ 6 ครั้งต่อวันสามารถทำให้มีการเจริญเติบโตมากที่สุดทั้งในเรื่องของจำนวนต้นอ่อน ความสูงต้น และจำนวนใบ

2.ระยะการออกราก ในการเพาะเลี้ยงในระบบเดิมนั้นทำให้มีระยะการออกรากมากกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์

เอกสารอ้างอิง

กาญจนรี พงษ์ฉวี. 2547. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียส. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42: สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร, กรุงเทพมหานคร. หน้า 45-52.

ณฐกร ประดิษฐ์สรรพ์. 2548. พรรณไม้น้ำสวยงาม. มหาวิทยาลัยศิลปากร,เพชรบุรี. 73 หน้า

นพมณี โทปุญญานนท์, ปวีณา นวมเจริญ, วิภาดา ทองทักษิณ, สุปัน ไม้ดัดจันทร์, รังสิมา อัมพวัน, ทิพย์สุดา ปุกมณี, และพรศักดิ์ บุญมณี .2547. การพัฒนาระบบผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำ ด้วยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว. ใน รายงานการวิจัยของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติประจำปีงบประมาณ 2547. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

นพมณี โทปุญญานนท์, รังสิมา อัมพวัน, และพรศักดิ์ บุญมณี 2549. วธ : สนับสนุนผลงานวิจัยไม้ดอกเพื่อการส่งออก. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ

พวงผกา คมสัน. 2546. ขั้นตอนการส่งออกพันธุ์ไม้น้ำและการขอใบรับรองปลอดโรคศัตรูพืช. ใน : เอกสารประกอบการฝึกอบรมการใช้เทคโนโลยีชีวภาพในการผลิตพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก, สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ, กรมประมง, กรุงเทพมหานคร. หน้า 120-134.

มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ. 2540. ชนิดและปริมาณน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุล Anubias. เอกสารวิชาการฉบับที่ 186. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 18 หน้า.

มัทยา อุ่นใจ. 2553. การจัดการระบบการผลิตต้นปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด ในระดับอุตสาหกรรมโดยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 86 หน้า.

ส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 2553. ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว นวัตกรรมการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบใหม่. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

Allgayer, R. and J. Teton. 1986. Aquarium Plants. Worlds LockLtd., London.

Alrard, D., F. Cote and C. Teisson 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 32: 55-60.

Belnal, A., P. Machado and A. D. Arencibia. 2008. Priming and bioprinming intergrated into the sugarcane micropropagation technology by temporary immersion bioreactors (TIBS). Sugar Tech. 10(1): 42-47.

Berthouly, M. and H. Etienne. 2005. Temporary immersion system: A new concept. pp. 165-196. In Hvoslef–Eide, A. K. and W. Preil. (eds.) Liquid culture system for in vitro plant propagation. Dordrecht: Springer

Cook, C.D.K. 1996. Aquatic Plant Book. SPB Academic Publishing, Amsterdam.

Escalona, M., J. C. Lorenza and C. G. Borroto. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion system. Plant Cell Reports 18: 743-745.

Etienne, H. and M. Berthouly. 2002. Temporary immersion system in plant micropropagation. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 69(3): 215-231.

Hempfling, T. and W. Preil. 2005. Application of a temporary immersion system in mass propagation of Phalaenopsis. *In* Liquid Culture System for *in vitro* Plant Propagation. pp. 231-242.

Karppinen, T. K., E. Virtanen and A. M. PIRTTILA. 2010. Novel bioreactor technology for mass propagation of potato microtubers. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 101: 245-249.

Lorenza, J. C., B. L. Gonzalez, M. Escalona, C. Teisson, P. Espinosa and C. Barooto. 1998. Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion system. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 54: 197-200.

Muhlberg, H. 1982. The Complete Guide to Water Plant. EP. Publication Ltd., London. 392 pp.

Rataj, K. and T.J. Horeman. 1977. Aquarium Plant: Their Identification, Cultivation and Ecology. T.F.H Publ. Inc., West Sylvania. 448 pp.

Roels, S., C. Noceda, M. Escalona, J. Sandoval, M. J. Canal, R. Rodriguez and P. Debergh. 2006. The effect of headspace renewal in a temporary immersion bioreactor on plantain (*Musa* AAB) shoot proliferation and quality. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 84: 155-163.

Topoonyanont, N., S. Jaikanta and P. Boonmanee. 2011. *Curcuma alismaticfolia* Gagnep microprooagation in twin-flasks temporary immersion bioreactor. Acta Horticulturae. 886: 267-272.

Topoonyanont, N., S. Chongsang and P. Nuanljaroen. 2005. Microprooagation scheme of *Curcuma alismaticfolia* Gagnep. Acta Horticulturae. 673: 715-712.

T149082