ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)
Effect of BA and NAA in growth of Anubias (*Anubias nana*)

ชื่อนักศึกษา นางสาวภัทรพร มงคลานนท์
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นงนุช เลาหะวิสุทธิ์)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 4 เดือน พฤ. พ.ศ. 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20548

หอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)

Effect of BA and NAA in growth of Anubias (*Anubias nana*)

T099249

โดย

นางสาวภัทรพร มงคลานนท์

วพก.
ส136ผ
2547

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)

Effect of BA and NAA in growth of Anubias (*Anubias nana*)

การศึกษาปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต 6 – Benzylaminopurine (BA) และ ∝ - Napthaleneactic (NAA) ในอาหารสังเคราะห์สูตรพื้นฐาน (MS) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนของพรรณไม้น้ำสกุลอนูบียส (*Anubias nana*) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดที่นำมาทำการทดลองเลี้ยงในอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพียงอย่างเดียว ในระดับความเข้มข้นที่ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้มากที่สุดโดยเฉลี่ยประมาณ 4.2±0.66 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และจำนวนต้นอ่อนในชุดการทดลองอื่นๆ ที่มีการเติม NAA ร่วมกับ BA นั้นพบว่าในชุดการทดลองที่มี NAA ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ปริมาณ NAA ที่ระดับ 0 – 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน (2.96±0.21, 3.04±0.14 และ 3.04±0.23 ต้น ตามลำดับ) แต่เมื่อ NAA ที่ระดับ 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนต้นอ่อนที่เกิดขึ้นลดลง (2.48±0.16 และ 1.56±0.12 ต้น ตามลำดับ) และในทุดการทดลองที่มีการเติม BA ในปริมาณที่เพิ่มขั้นที่ระดับ 0 – มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีผลทำให้เกิดจำนวนต้นอ่อนเพิ่มมากขึ้น (2.4 ±0.24, 2.4±0.24, 2.6±0.24, 3.2±0.37 และ 4.2±0.66 ต้น ตามลำดับ) ส่วนจำนวนราก ในชุดการทดลองที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดรากมากที่สุด คือ 51.4±1.98 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ในการทดลองที่มีการเพิ่มปริมาณ BA จากระดับ 0 – 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้จำนวนรากลดลง (12.8±1.07, 18 ±0.89, 12.6±1.57, 7.4±0.75 และ 4.8 ±0.58 ราก ตามลำดับ) และการเติม NAA ที่ระดับ 0 – 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดรากเพิ่มมากขึ้น (11.12±1.03, 17.68±1.74, 23.68±1.74 และ 33.44±2.05 ราก ตามลำดับ) ส่วน NAA ที่ระดับ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดรากลดลง (15.24±1.07 ราก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาของข้าพเจ้าเป็นอย่างยิ่ง ที่กรุณาให้โอกาส และให้ความไว้วางใจให้ทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ พร้อมทั้งให้คำแนะนำและให้คำปรึกษา รวมทั้งแนวทางในการดำเนินการทดลอง และการแก้ไขปัญหาจนปัญหาพิเศษนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ และ คุณสุดา โสภารักษ์ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในเรื่องของการให้สารเคมีต่างๆ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณ พี่วรางคณา กาซัม และพี่มัลลิกา มิตรน้อย ที่คอยแนะนำเทคนิคต่างๆ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ รวมทั้งให้คำปรึกษาในคราวที่เกิดปัญหา

ขอขอบคุณ คุณเพื่อนๆ และน้องๆ ประมงที่เข้ามาช่วยทำการทดลองตลอดระยะเวลาการทดลอง รวมไปถึงการให้ข้อเสนอแนะในการนำเสนอผลงาน

และสุดท้ายขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยถามความก้าวหน้าของการทำปัญหาพิเศษ เพื่อเป็นการให้กำลังใจ มีความตั้งใจในการทำงานเพื่อทำให้ท่านมีความภูมิใจในตัวของข้าพเจ้า

นางสาวภัทรพร มงคลานนท์

เมษายน 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	8
ผลการทดลองและวิจารณ์	11
สรุปและข้อเสนอแนะ	18
เอกสารอ้างอิง	19
ภาคผนวก	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ตัวอย่างสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน	4
2	ตัวอย่างสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน	5
3	จำนวนต้นอ่อนที่เกิดจากชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ในอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	11
4	จำนวนรากที่เกิดจากชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ในอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	15

ตารางผนวกที่		หน้า
1	สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ Murashige และ Skoog (1962); MS	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)	2
2	จำนวนต้นอ่อนของชิ้นเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร	13
3	จำนวนต้นอ่อนเฉลี่ยของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ที่เกิดจากการชักนำ	14
4	จำนวนรากของชิ้นเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร	16
5	จำนวนรากเฉลี่ยของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ที่เกิดจากการชักนำ	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)

คำนำ

ในปัจจุบันการเพาะขยายพันธุ์ของพรรณไม้น้ำด้วยวิธีตามธรรมชาตินั้นให้ผลผลิตน้อยกว่าความต้องการของตลาด เนื่องจากพรรณไม้น้ำบางชนิดใช้เวลาในการแยกหน่อหรือการขยายพันธุ์แบบอื่นๆเป็นเวลานานในสภาพแวดล้อมปกติ ปัญหานี้ได้กลายเป็นอุปสรรคต่อธุรกิจพรรณไม้น้ำจึงมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์ ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่สามารถขยายพันธุ์ได้ในปริมาณมาก ภายในระยะเวลาอันสั้น นอกจากนี้พืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะสะอาดปราศจากโรค ทำให้พืชมีความสมบูรณ์แข็งแรง และมีปริมาณมากเพียงพอกับความต้องการของตลาด ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นเป็นการชักนำให้เนื้อเยื่อเพิ่มจำนวนยอดเป็นสำคัญ

พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) จัดว่าเป็นไม้ประดับที่มีมูลค่า สูงและมีความต้องการมากกว่าปริมาณการผลิต โดยจะใช้เพื่อประดับตกแต่งตามสถานที่ต่างๆ และตู้พรรณไม้น้ำซึ่งจะใช้เป็นพรรณไม้น้ำกลางตู้ ซึ่งพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) เป็นพืชที่สามารถอยู่ใต้น้ำได้เป็นเวลานาน และมีการเจริญเติบโตช้า โดยในแต่ละปีจะมีใบใหม่เพียง 8 – 10 ใบ และมีการเกิดต้นใหม่น้อยมาก ดังนั้น การขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียสโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งการเลี้ยงชิ้นเนื้อเยื่อในอาหาร วิทยาศาสตร์ที่มีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำ ในบางครั้งจะเติม สารควบคุมการเจริญเติบโต (Growth regulators) ลงในอาหาร เพื่อเป็นตัวชักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นยอดและต้นอ่อน

ดังนั้นการศึกษาถึงผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเกิดยอดและต้นอ่อนของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส รวมถึงอัตราส่วนที่เหมาะสมในการชักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อเกิดต้นอ่อนในอาหารวิทยาศาสตร์ เพื่อที่จะได้สามารถขยายผลผลิตให้ได้ตามความต้องการของตลาดทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต 6 – Benzylaminopurine (BA) และ ∝ - Napthaleneactic (NAA) ในอาหารสังเคราะห์สูตรพื้นฐาน (MS) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (Anubias) **มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า** *Anubias nana* **ซึ่งพรรณไม้น้ำ**สกุลนี้อยู่ในวงศ์ Araceae มีถิ่นกำเนิดบริเวณเขตร้อน ทวีปแอฟริกา จัดเป็นพืชมีดอก มีใบเลี้ยงคู่ **เป็นพืชล้มลุกอายุหลายฤดู มีต้นเป็นแท่งใต้ดิน และแทงขึ้นมาบนดิน มีใบแยกออกมาจากโคนต้น** มีดอกขนาดเล็ก ไม่มีก้านดอกออกรวมกันเป็นช่อแบบสแปดิก (spadix) มีกาบประดับคล้ายใบ มีสี **น้ำตาลหรือขาว ชอบขึ้นในที่ร่ม ชื้นแฉะและมีความชื้นสูง ลักษณะลำต้นเป็นต้นเตี้ยเจริญได้สูงสุด** ไม่เกิน 15 เซนติเมตร มีใบหนารูปไข่สีเขียวเข้ม ยาวไม่เกิน 6 เซนติเมตร จัดเป็นพรรณไม้น้ำที่มี **ความทนทานสามารถอยู่ในน้ำได้ยาวนานและมีการเจริญเติบโตช้าโดยในแต่ละปีจะเกิดใบใหม่ขึ้น** เพียง 8–10ใบ ส่วนการขยายพันธุ์ สามารถขยายพันธุ์ได้โดยวิธีการแยกหน่อ ตัดแบ่งไรโซม หรือวิธี การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปลูกในสภาพครึ่งบกครึ่งน้ำ (กาญจนรี และ วันเพ็ญ, 2543)

ภาพที่ 1 พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)
ที่มา : www.google.com (2004)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ คือ เทคนิคการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพรรณไม้น้ำ เช่น ดอก ใบ ราก ไรโซม ปลายยอด เมล็ด ฯลฯ มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยเกลือ แร่ธาตุ น้ำตาล และไวตามินและสารอาหารต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำ ใน สภาพปลอดเชื้อรา แบคทีเรีย และสาหร่าย โดยมีการควบคุม อุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(มณีรัตน์, 2545) ซึ่งจะทำให้ชิ้นส่วนของพรรณไม้น้ำสามารถเจริญเป็นต้นใหม่ แล้วจึงมีการแบ่งชิ้นส่วนเพื่อเป็นการแยกต้นใหม่ที่เกิดขึ้นลงในอาหารใหม่อย่างต่อเนื่อง และเลี้ยงจนมีขนาดตามที่ตลาดต้องการ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้มีบทบาทอย่างมากในด้านวิทยาศาสตร์ เกษตรกรรม การแพทย์ และอุตสาหกรรม ซึ่งแบ่งได้เป็น การขยายพันธุ์ในปริมาณมากในระยะเวลาสั้น การผลิตต้นพันธุ์ที่ปราศจากโรค การปรับปรุงพันธุ์ การผลิตยาและสารเคมี และการเก็บรักษาพันธุ์ (รังสฤษฏ์, 2545)

1. การขจัดสิ่งปนเปื้อนและการฟอกฆ่าเชื้อ

การคัดเลือกชิ้นส่วนสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ทุกส่วนที่ประกอบด้วยเซลล์ที่ยังมีชีวิตสามารถนำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ทั้งนั้น แต่ความสามารถในการเจริญอาจแตกต่างกันเพราะเซลล์แต่ละชนิดมีความตื่นตัว (active) ไม่เท่ากัน เนื้อเยื่อที่มีการตื่นตัวมากที่สุด คือ เนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) (ประศาสตร์, 2536) และเนื้อเยื่อที่มีขนาดใหญ่จะง่ายต่อการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อโรคต่างๆ ขณะที่เนื้อเยื่อขนาดเล็กมีโอกาสหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนได้มากกว่า แต่เนื้อเยื่อทีมีขนาดเล็กเกินไปอาจจะโตช้าและไม่ตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อ เยื่อเท่ากับเนื้อเยื่อที่มีขนาดใหญ่ (รังสฤษฏ์, 2545)

การฟอกฆ่าเชื้อ คือ การทำให้ชิ้นเนื้อเยื่อปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธีการฆ่าเชื้อจะใช้สารเคมีต่างๆ ซึ่งการเลือกสารเคมีที่เหมาะสมกับเนื้อเยื่อที่ต้องการฆ่าเชื้อ สารเคมีที่นิยมใช้ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรด์, ไฮโดรเจนเปอรอกไซด์, คลอรอกซ์, เมอคิวริคคลอไรด์ และแอลกอฮอล์ เป็นต้น (ประศาสตร์, 2536)

มณีรัตน์ (2540) ทำการศึกษาน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับชิ้นส่วนเริ่มต้นของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส 2 ชนิด คือ คลอรอกซ์ และเมอคิวริคคลอไรด์ ด้วยความเข้มข้นต่างๆ ที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่า การใช้คลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ร่วมกับการใช้เมอคิวริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที จะสามารถทำความสะอาดเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียสได้ดีที่สุด โดยให้อัตรารอดสูงที่สุด

2. สารควบคุมการเจริญเติบโต (Growth regulations)

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อ มีอยู่ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มออกซิน (Auxin) เป็นฮอร์โมนที่กระตุ้นให้เกิดการขยายตัวของเซลล์พืช และช่วยให้เกิดราก และกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinins) จะกระตุ้นการเจริญของใบ ยับยั้งการเจริญเติบโตของราก และเร่งชิ้นส่วนพืชให้เกิดยอด (มณีรัตน์, 2545)

2.1. กลุ่มออกซิน (Auxin)

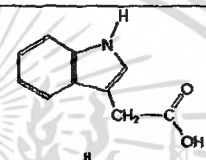
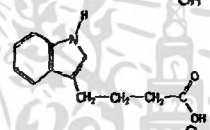
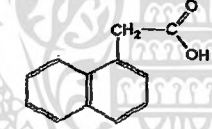
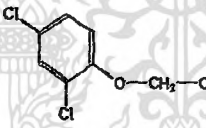
ออกซินสร้างจากกรดอะมิโนทริปโตเฟน (Tryptophan) โดยมีการเปลี่ยนแปลงไปหลายขั้นตอน ธาตุสังกะสีมีความจำเป็นต่อการสังเคราะห์ทริปโตเฟน จึงมีความสำคัญต่อการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังเคราะห์ออกซินด้วย ดังนั้นเมื่อขาดธาตุสังกะสีก็ทำให้พืชสร้างออกซินได้น้อยลงด้วย ออกซิน มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดเซลล์ และกระตุ้นการเกิดราก อย่างไรก็ตาม การใช้ออกซินในระดับความเข้มข้นสูงมากๆ จะก่อให้เกิดความเป็นพิษกับพืช คือ ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช จนอาจทำให้ตายได้

สารในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้ ได้แก่ NAA (∝- Napthaleneacetic acid), IBA (Indole-3-Butyric acid) และ 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) เป็นต้น ซึ่ง 2,4-D จะใช้ได้ผลดีในการเพิ่มจำนวนและรักษาสภาพการเลี้ยงเป็นแคลลัสไว้ (รังสฤษฎ์, 2541) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน

ชื่อสาร	สูตรทางเคมี	สูตรโครงสร้าง	หมายเหตุ
Indole-3-Acetic Acid (IAA)	$C_{10}H_9NO_2$		กระตุ้นการเกิดราก
Indole-3-Butyric Acid (IBA)	$C_{12}H_{13}NO_2$		กระตุ้นการเกิดต้นอ่อน
∝- Napthaleneacetic Acid (NAA)	$C_{12}H_{10}O_2$		กระตุ้นการเกิดแคลลัสและการเจริญเติบโต
2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D)	$C_8H_6Cl_2O_3$		ยับยั้งการเกิดราก

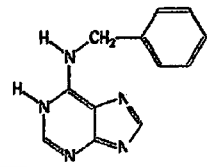
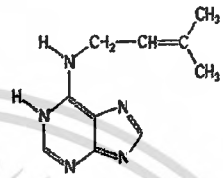
2.2.กลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinins)

ไซโตไคนินเป็นอนุพันธุ์ของเบสพิวรีน (Purine base) ชนิดอะดินิน (Adenine) เป็นฮอร์โมนพืชที่พบมากในบริเวณปลายราก เอมบริโอ และผลอ่อน ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์และการยืดตัวของเซลล์ เร่งให้เนื้อเยื่อเจริญไปเป็นยอดและลำต้น ยับยั้งการเจริญเติบโตของราก (มณีรัตน์ และ อรุณี, 2542)

สารในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้ ได้แก่ BA (6-Benzyladenine), BAP (6-Benzylaminopurine), 2iP (6-γ,γ-Dimethylallylaminopurine), Kinetin และ Zeatin เป็นต้น (ตารางที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ตัวอย่างสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน

ชื่อสาร	สูตรทางเคมี	สูตรโครงสร้าง	หมายเหตุ
6-Benzylaminopurine (BAP)	-	-	กระตุ้นการเกิดต้นอ่อน
6-Benzyladenine (BA)	$C_{12}H_{11}N_5$		
6-γ,γ- Dimethylallylaminopurine	$C_{10}H_{13}N_5$		ส่งเสริมให้เกิดการแบ่งเซล

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำให้ได้ผลผลิตตามที่ต้องการนั้นอาหารที่ใช้เลี้ยงควรที่จะมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน เพื่อที่จะให้เกิดผลร่วมกัน ทำให้การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อดีกว่าการใช้ออกซิน หรือไซโตไคนินอย่างใดอย่างหนึ่ง ในทำนองเดียวกัน สัดส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสูงขึ้น จะมีผลต่อการกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเพื่อกำเนิดราก (Root differentiation) และที่สัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินสูงขึ้น จะมีผลต่อการกระตุ้นการเกิดยอด (Shoot formation) (รังสฤษฎ์, 2541)

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

พรรณไม้น้ำแต่ละชนิดมีความต้องการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในแต่ละกลุ่มแตกต่างกันไปตามลักษณะของพรรณไม้น้ำชนิดนั้นๆ เช่น การเกิดยอด การพัฒนาของเนื้อเยื่อ เป็นต้น ดังนั้นจึงมีการทดลองเพื่อหาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมกับพรรณไม้น้ำแต่ละชนิด เพื่อให้ได้ผลผลิตตามต้องการ

1. **ผลของ BA ต่อพรรณไม้น้ำ**

การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบพายผมหอม (*Cryptocoryne tonkinensis*) โดยที่มีการเติม BA ที่ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 35 วัน พบว่า สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด คือ 4.50 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (กาญจนรี และคณะ, 2542) และใบพายศรีลังกา (*Cryptocoryne wendtii*) จะเกิดต้นอ่อนมากที่สุด (เฉลี่ย 7 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ) เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4.50 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว หลังจาก 4 สัปดาห์ (Kane, 1999) ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Anthurium andreanum* ที่มีการเติม BA ระดับ 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ ทำให้จำนวนต้นอ่อนมากที่สุด คือ 3.10 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (Kunisaki, 1980)

2. ผลของ BA ร่วมกับ NAA ที่มีต่อพรรณไม้น้ำ

ทำการศึกษาผลของ NAA และ BA ที่มีต่อการเกิดต้นอ่อนของใบพายศรีลังกา (*Cryptocoryne wendtii*) และใบพาย (*Cryptocoryne lucens*) พบว่า การเติม BA ที่ความเข้มข้น 3.00 และ 4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนต้นอ่อนมากที่สุด คือ 20.00±10.29 และ 7.70 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ ซึ่งต้นอ่อนที่ได้แข็งแรงและเจริญเติบโตได้ดี ส่วนการเติม NAA เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.00 – 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดจำนวนต้นอ่อนน้อยมาก โดยจะอยู่ที่ 0.00±0.00 และ 0.50±1.00 ต้น ต้นอ่อนที่ได้มีขนาดเล็ก ไม่แข็งแรง และอาจเกิดเป็นแคลลัสได้ (มณีรัตน์ และ อรุณี, 2542; Kane et al., 1990) ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Anubias barteri var. undulata* ในอาหารที่เติม BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า อาหารที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อน 5 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ หลังจากที่ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 7 เดือน (Huang et al., 1994) และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโลบิเลีย (*Lobilia cardinalis*) พบว่า การเติม BA ที่ระดับ 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ในระดับความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด คือ 45 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และมีความสูงเฉลี่ย 3.02 เซนติเมตร เมื่อทำการเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (กาญจนรี และคณะ, 2543)

จากการศึกษาจะเห็นว่า สัดส่วนของ BA มากกว่า NAA โดยที่ความเข้มข้นของ BA อยู่ในช่วง 0.00 – 4.50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ความเข้มข้น 0.00 – 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะสามารถทำให้พรรณไม้น้ำชนิดต่างๆ สามารถเจริญเติบโตดีและมีจำนวนยอดมากที่สุด

3. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นๆ

การเพิ่มจำนวนของต้นอ่อนของใบพายศรีลังกา (*Cryptocoryne wendtii*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งมีการใช้ BA และ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า ที่อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4.50 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงชนิดเดียวทำให้เกิดจำนวนต้นอ่อนของใบพายศรีลังกามากที่สุด คือ 7.00 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อโดยประมาณ หลังจากการย้ายปลูก 4 สัปดาห์ มีอัตรารอด 100 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากย้ายปลูกไปแล้ว 8 สัปดาห์ จะมีความยาวลำต้นเฉลี่ย 10.40 เซนติเมตร Kane et al., 1999) ส่วนการเติม IAA ที่ความเข้มข้น 8.70 มิลลิกรัมต่อลิตร จะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Halophila decipiens* (Bird et al., 1998)

Bird et al. (1998) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Halophila decipiens* โดยมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 5 ชนิด คือ IBA, IAA, NAA, BA และ 2iP ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า BA และ 2iP สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโต โดยทำให้เกิดต้นอ่อน 17–18 ต้น ต่อชิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อเยื่อ ส่วน IBA และ NAA จะไปยับยั้งการเกิดต้นอ่อนในทุกความเข้มข้นที่ทำการทดลอง และ IAA ที่ความเข้มข้น 1.70 มิลลิกรัมต่อลิตร จะไม่สามารถกระตุ้นการเกิดต้นอ่อนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พรรณไม้น้ำที่ใช้ในการทดลอง คือ พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)
2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารวิทยาศาสตร์
3. สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ 6 – Benzylaminopurine (BA) 250 ppm และ ∝ - Napthaleneactic (NAA) 250 ppm
4. ขวดแก้วขนาดกลางพร้อมฝาปิด สำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) จำนวน 125 ขวด
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 และ 4 ตำแหน่ง
6. เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH meter)
7. เตาไมโครเวฟ
8. เครื่องกวนสารละลาย (magnatic stirrer)
9. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
10. ตู้ปลอดเชื้อ
11. เครื่องแก้วต่างๆ เช่น บีกเกอร์ ขนาด 250, 1,000 มิลลิลิตร, ขวดปรับปริมาตร ขนาด 500 มิลลิลิตร, แท่งแก้วคนสาร

วิธีการ

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Two – Factorial Design (5 × 5) โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด ได้แก่ 6 – Benzylaminopurine (BA) และ ∝ - Napthaleneactic (NAA) ที่มีการเสริมลงในอาหารวิทยาศาสตร์สูตรพื้นฐาน (MS) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เสริมในอาหารสูตรพื้นฐาน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 25 ชุดการทดลองๆ ละ 5 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว

ชุดการทดลองที่ 3 เติม NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว

ชุดการทดลองที่ 4 เติม NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว

ชุดการทดลองที่ 5 เติม NAA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดการทดลองที่ 6 เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว

ชุดการทดลองที่ 7 เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 8 เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 9 เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 10 เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 11 เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว

ชุดการทดลองที่ 12 เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 13 เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 14 เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 15 เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 16 เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว

ชุดการทดลองที่ 17 เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 18 เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 19 เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 20 เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 21 เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว

ชุดการทดลองที่ 22 เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 23 เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 24 เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 25 เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการทดลอง

1. ขั้นตอนการเตรียมการ

1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.1.1 ชั่งสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบของอาหารสูตรพื้นฐาน (MS) จำนวน 13 ลิตร โดยมีการแบ่งเตรียมชุดการทดลองละ 500 มิลลิลิตร

1.1.2 เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ตามปริมาณที่กำหนดไว้ทั้ง 25 ชุดการทดลอง

1.1.3 เทอาหารที่เตรียมไว้แล้วลงในขวด ประมาณ 15 – 20 มิลลิลิตร

1.1.4 นำอาหารเข้าหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ความดัน 1 ปอนด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 การเตรียมต้นพันธุ์พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)

1.2.1 นำชิ้นส่วนของต้นพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาปลูกในอาหารสูตรพื้นฐาน

1.2.2 นำไปเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และมีการให้แสงวันละ 12 ชั่วโมง ที่ความเข้มแสง 1,900 ลักซ์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อให้ได้ยอดอ่อนมาใช้ในการทดลอง

2. ขั้นตอนการทดลอง

2.1 ตัดชิ้นส่วนของต้นอ่อน พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ที่เตรียมไว้ มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรพื้นฐาน ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ใช้ต้นอ่อนพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ทั้งหมด 125 ต้น

2.2 นำไปเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส และให้แสงวันละ 12 ชั่งโมง ความเข้มแสงที่ 1,900 ลักซ์

2.3 ทำการบันทึกจำนวนต้นอ่อนที่เกิดขึ้น พร้อมทั้งมีการถ่ายภาพการเปลี่ยนแปลงทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

การบันทึกข้อมูล

การศึกษาปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ในอาหารสังเคราะห์สูตรพื้นฐานที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) โดยการนับจำนวนต้นอ่อนที่เกิดขึ้นและบันทึกการเปลี่ยนแปลงทุกสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลจำนวนยอดอ่อนและรากของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ LSD ด้วยโปรแกรม SPSS 11.0 for Window

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง อาคารเจ้าคุณทหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

ตั้งแต่เดือนมกราคม 2548 ถึงเดือน มีนาคม 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ในอาหารสังเคราะห์สูตรพื้นฐานที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)

จากการทดลอง นำชิ้นส่วนยอดของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ในอัตราความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในอัตราความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า มีการเจริญเติบโตและการพัฒนาของชิ้นเนื้อเยื่อแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยในสัปดาห์ที่ 1 – 2 จะมีการพัฒนาของชิ้นเนื้อเยื่อในด้านความยาว แต่ยังไม่เกิดเป็นต้นใหม่เพิ่มขึ้น ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 – 4 เริ่มเห็นความแตกต่างของจำนวนต้นอ่อนที่เกิดขึ้นในแต่ละชุดการทดลอง ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 – 6 จะสามารถสังเกตเห็นความแตกต่างของแต่ละชุดการทดลองชัดเจนมากขึ้น โดยเฉพาะในชุดการทดลองที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และจะมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนต้นอ่อนได้มากกว่าในชุดการทดลองอื่นๆ ซึ่งจำนวนต้นอ่อนที่เกิดใหม่ของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ในแต่ละชุดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (สัปดาห์ที่ 10) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนต้นอ่อนที่เกิดจากชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ในอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

BA	NAA (mg/L)					Mean±SE
(mg/L)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	2.4±0.24	3.4±0.51	3.2 ± 0.2	3.4±0.24	1.2±0.2	2.72±0.30^{ab}
1	2.4±0.24	2.8±0.37	4±0.77	2±0	1.2±0.2	2.48±0.30^{a}
2	2.6±0.24	3.4±0.24	2.8±0.2	1.6±0.24	1.4±0.24	2.36±0.24^{a}
3	3.2±0.37	2.8±0.2	2±0	3.2±0.2	2±0	2.64±0.24^{ab}
4	4.2±0.66	2.8±0.2	3.2±0.58	2.2±0.2	2.2±0.2	2.88±0.23^{b}
Mean±SE	2.96±0.21^{a}	3.04±0.14^{a}	3.04±0.23^{a}	2.48±0.16^{b}	1.56±0.12^{c}	

* ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

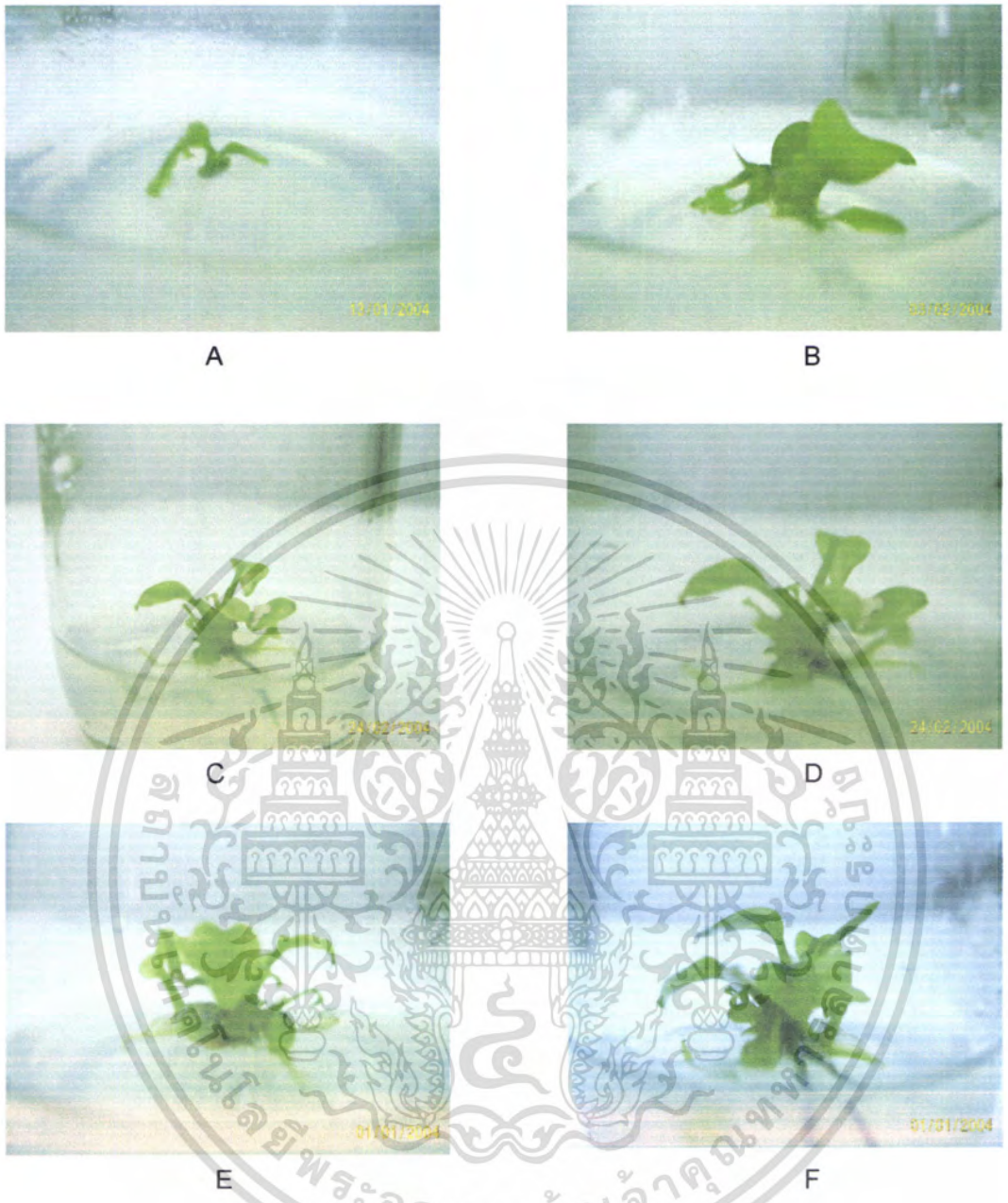
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

การเกิดต้นอ่อนของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ในชุดการทดลองที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในระดับความเข้มข้น 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีจำนวนต้นอ่อนเกิดขึ้นเฉลี่ยน้อยมาก (2.48±0.16 ต้น และ 1.56±0.12 ต้น ตามลำดับ) ในทางตรงกันข้าม ชุดการทดลองที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว พบว่า จำนวนต้นอ่อนเกิดขึ้นเฉลี่ยมากที่สุด คือ 4.20±0.23 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนจากชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) (ภาพที่ 2)

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาผลของ NAA และ BA ที่มีต่อการเกิดต้นอ่อนของใบพาย (*Cryptocoryne lucens*) และใบพายศรีลังกา (*Cryptocoryne wendtii*) พบว่า การเติม BA ที่ความเข้มข้น 4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนต้นอ่อนมากที่สุด คือ 7.70 และ 7 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (Kane et al., 1990; Kane et al., 1999) และสอดคล้องกับการทดลองของมณีรัตน์ และ อรุณี (2542) ที่มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA พบว่า ในอาหารที่มีการเติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดจำนวนต้นอ่อนสูงที่สุด คือ 20.0±10.29 ต้น แต่ตรงข้ามกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Anubias berteri* var. *undulata* ในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่า ในอาหารที่มีการเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ 5 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ หลังจากที่ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 เดือน

จำนวนต้นอ่อนที่เกิดขึ้นจากอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในทุกชุดการทดลอง พบว่า ปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากขึ้นจากระดับ 0 – 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีผลทำให้จำนวนต้นอ่อนที่เกิดใหม่เพิ่มขึ้น (2.4, 2.4, 2.6, 3.2 และ 4.2 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ) ในทางตรงข้าม ปริมาณ NAA ที่ระดับ 0, 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้การเกิดต้นอ่อนไม่แตกต่างกันทางสถิติ (2.96, 3.04 และ 3.04 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ) และที่ระดับ NAA 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดต้นอ่อนลดลง (2.48 และ 1.56 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ) (ภาพที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 จำนวนต้นอ่อนของชิ้นเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาพที่ 2 (A) สัปดาห์ที่ 0

ภาพที่ 2 (B) สัปดาห์ที่ 2

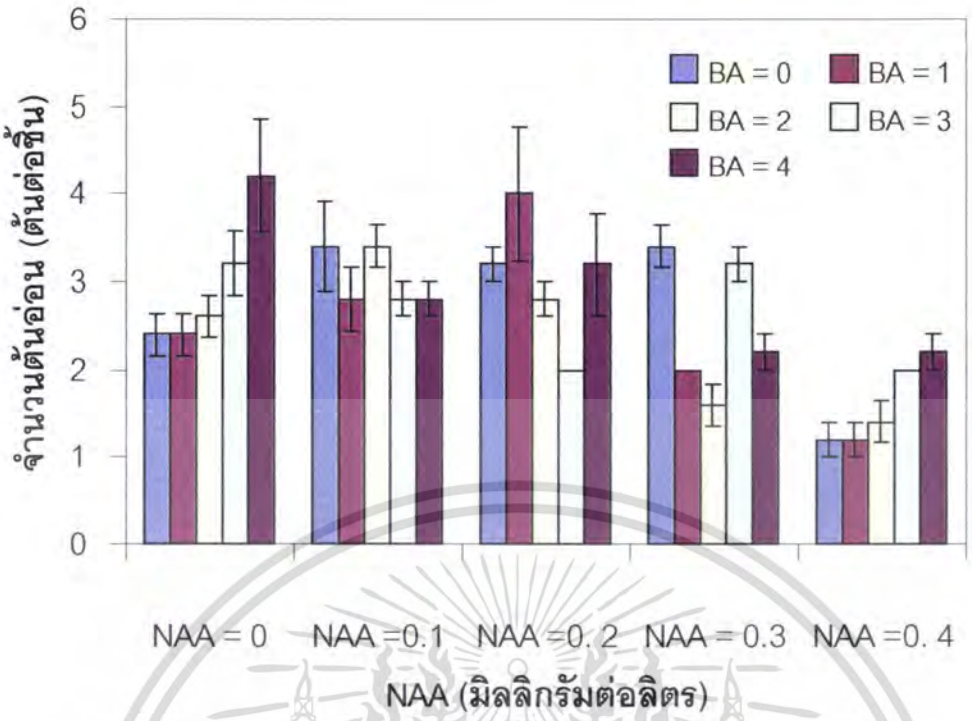
ภาพที่ 2 (C) สัปดาห์ที่ 4

ภาพที่ 2 (D) สัปดาห์ที่ 6

ภาพที่ 2 (E) สัปดาห์ที่ 8

ภาพที่ 2 (F) สัปดาห์ที่ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 จำนวนต้นอ่อนเฉลี่ยของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ที่เกิดจากการชักนำ

2. การศึกษาปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ในอาหารสังเคราะห์สูตรพื้นฐานที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนรากของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*)

จากการทดลองนำชิ้นส่วนยอดของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ในอัตราความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในอัตราความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า มีการเจริญเติบโตและ การพัฒนาของรากแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยในสัปดาห์ที่ 1 – 2 ยังไม่เกิดการพัฒนาของราก ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 – 4 เริ่มเกิดมีการพัฒนาของรากในแต่ละชุดการทดลอง แต่ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 – 6 จะสามารถสังเกตเห็น ความแตกต่างของจำนวนรากในแต่ละชุดการทดลองมากชัดเจนมากขึ้น โดยเฉพาะในชุดการทดลองที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และจะมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนรากได้มากกว่าในชุดการทดลองอื่นๆ ซึ่งจำนวนรากที่เกิดใหม่ของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ในแต่ละชุดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (สัปดาห์ที่ 10) (ตารางที่ 4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 จำนวนรากที่เกิดจากชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ในอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

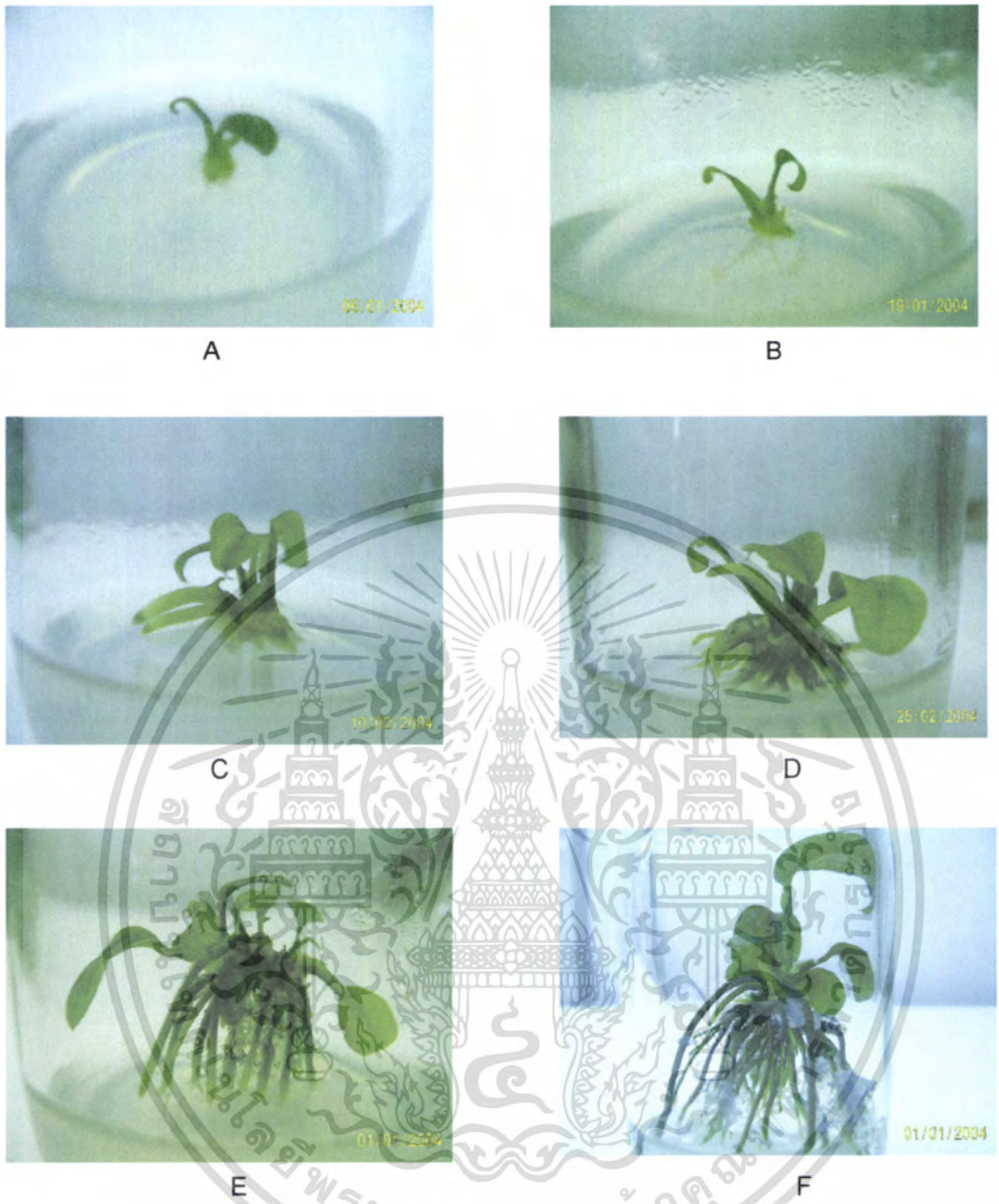
BA	NAA (mg/L)					Mean±SE
(mg/L)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	12.80±1.07	30.201.88	27.40±2.06	30.20±1.88	10.80±1.36	22.28±1.89[a]
1	18±0.89	24 ±1.00	31.40±1.54	51.4±1.98	17.2±0.8	28.4±2.62[b]
2	12.6±1.57	15 ±0.89	20.6±0.86	33.2±0.73	22.2±2.67	20.72±1.58[a]
3	7.4±0.75	11.2 ±0.86	23.0±1.61	29.8±1.66	14.8±1.16	17.24±1.72[c]
4	4.8±0.58	8±0.45	15.4±0.98	22.6±1.12	11.2±1.28	12.4±1.32[d]
Mean±SE	11.12±1.03[a]	17.68±1.74[b]	23.68±1.74[c]	33.44±2.05[d]	15.24±1.07[e]	

* ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การเกิดรากของชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ในชุดการทดลองที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ในระดับความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว พบว่า มีจำนวนรากเกิดขึ้นเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 4.5±0.58 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ในทางตรงกันข้าม ชุดการทดลองที่มีการเติม NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า มีจำนวนรากเกิดขึ้นเฉลี่ยมากที่สุด คือ 51.4±1.98 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 4) ซึ่งผลที่ได้นี้ตรงข้ามกับการทดลองขยายพันธุ์บอนแดง (*Cryptocoryne blassii*) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในการทดลองมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 4 ชนิด คือ BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าการใช้ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดรากจำนวนมากที่สุด คือ 4.80±1.033 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (วันเพ็ญ, 2004)

จำนวนรากที่เกิดขึ้นในแต่ละชุดการทดลองที่มีการเติม BA ร่วมกับ NAA พบว่า ปริมาณของ NAA ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เพิ่มขึ้นจากระดับ 0 – 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนรากเกิดเพิ่มมากขึ้น (11.12, 17.68 และ 23.68 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ) และที่ปริมาณ NAA ที่ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้จำนวนรากลดลง (15.24 ราก) (ภาพที่ 5) และการเติม BA ในปริมาณที่เพิ่มจากระดับ 1 – 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้จำนวนรากที่เกิดขึ้นลดลง (28.4, 20.72, 17.24 และ 12.24 ราก ตามลำดับ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 จำนวนรากของชิ้นเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาพที่ 4 (A) สัปดาห์ที่ 0

ภาพที่ 4 (B) สัปดาห์ที่ 2

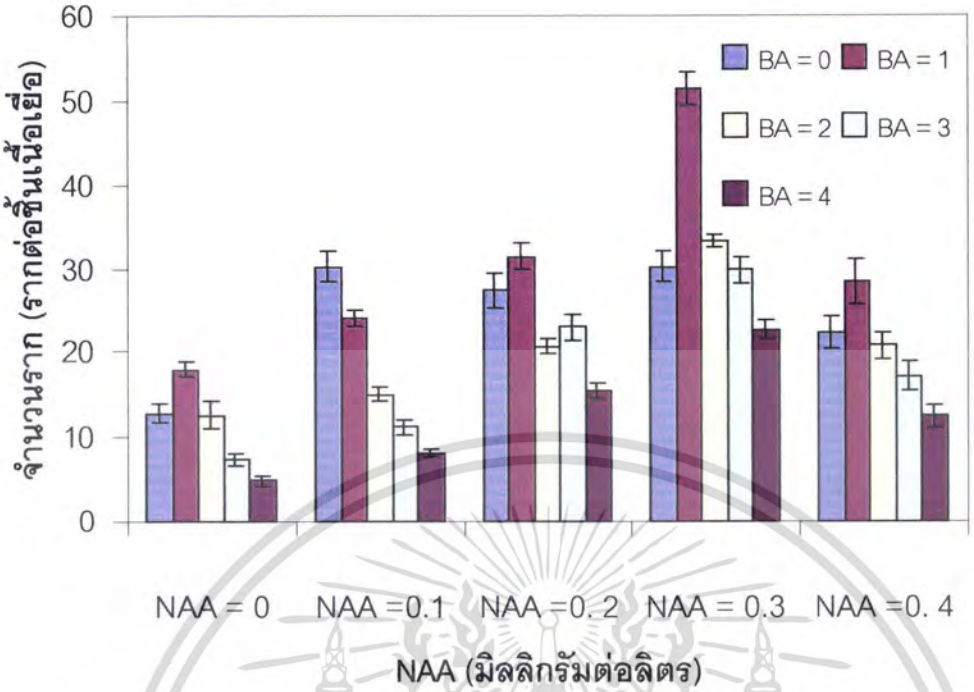
ภาพที่ 4 (C) สัปดาห์ที่ 4

ภาพที่ 4 (D) สัปดาห์ที่ 6

ภาพที่ 4 (E) สัปดาห์ที่ 8

ภาพที่ 4 (F) สัปดาห์ที่ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 จำนวนรากเฉลี่ยของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) ที่เกิดจากการชักนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการศึกษาปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ในอาหารสังเคราะห์สูตรพื้นฐานที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นอ่อน และจำนวนรากของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) โดยเติม BA ในระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ในระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ผลปรากฏดังนี้

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอดในอาหาร ที่มี BA ในระดับความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อเกิดต้นอ่อนมากที่สุดเฉลี่ยประมาณ 4 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอดในอาหาร ที่มี BA ในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อเกิดรากมากที่สุดเฉลี่ยประมาณ 51 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

3. จำนวนต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ในระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้จำนวนของต้นอ่อนที่เกิดใหม่เพิ่มจำนวนขึ้น ส่วนจำนวนรากจะมีการเพิ่มขึ้นเมื่อ ปริมาณของ NAA ในอาหารเพิ่มขึ้น

ข้อเสนอแนะ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias nana*) เพื่อที่จะทำให้เกิดต้นอ่อนต้นอ่อนมาก ควรมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ BA ที่ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว โดยที่มีจำเป็นต้องมีการเติม NAA นอกจากนี้ควรที่จะมีการศึกษาในเรื่องของปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นๆ เพื่อที่จะหาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมที่สุดและทำให้เกิดต้นอ่อนมากที่สุด โดยให้ปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตน้อยที่สุด เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิต เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตมีราคาสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนรี พงษ์ฉวี พัฒนพงษ์ ชูแสง และวิจารณ์ ทองมีเอียด. 2542. การขยายพันธุ์ผมหอมโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2542. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 21 น.

กาญจนรี พงษ์ฉวี บังอร โชติพ่วง ณัฐนันท์ คงขำ และวิจารณ์ ทองมีเอียด. 2543. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโลบีเลีย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 9/2543. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ, กรมประมง, กรุงเทพฯ.16 น.

กาญจนรี พงษ์ฉวี และวันเพ็ญ มีนกาญจน์. 2543. พรรณไม้น้ำสวยงาม. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 122 น.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 158 น.

มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ. 2540. ชนิดและปริมาณน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส. เอกสารวิชาการฉบับที่ 186. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด, จตุจักร, กรุงเทพฯ. 14 น.

มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และอรุณี รอดลอย. 2542. ผลของ α-napthaleneacetic acid (NAA) และ 6-benzylaminopurine (BA) ต่อการเกิดต้นอ่อนใบพายศรีลังกา *Cryptocoryne wendtii*. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2/2542. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 15 น.

มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ. 2545. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ. เอกสารประกอบการฝึกอบรม. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 35 น.

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักและเทคนิค. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 219 น.

วันเพ็ญ มีนกาญจน์. 2547. การขยายพันธุ์บอนแดงโยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารการประมงฉบับที่ 2 เดือนมีนาคม-เมษายน. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 12 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

J.T. Kunisaki. 1980. *In vitro* Propagation of *Anthurium andreanum* Lind. HortScience. 15 (4): 508-509.

Bird, K.T., J.R. Johnson and J.J. Smith. 1998. *In vitro* culture of the seagrass *Halophila decipiens*. Aquatic Botany 60: 377-387.

Huang L.C., Y.H. Chang and Y.L. Chang. 1994. Rapid *in vitro* multiplication of the aquatic angiosperm, *Anubias barteri* var. *undulata*. Aquatic Botany 47(1): 77-83.

Michael, E.K., E.F. Gilman, M.A. Jenks and T.J. Sheehan. 1990. Micropropagation of the aquatic plant *Cryptocoryne lucens*. HortScience 25(6): 687-689.

Michael, E.K.,G.L. Davis, D.B. McConnell and J.A. Gargiulo. 1999. *In vitro* propagation of *Cryptocoryne wendtii*. Aquatic Botany 63: 197-202.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ Murashige และ Skoog (1962); MS

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
NH_4NO_3	1,650
KNO_2	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
$NaMoO_4.H_2O$	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-inosital	100
Sucrose	30,000
pH 5.6	

ที่มา : รังสฤษฏ์ (2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้