การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำ อนุบียสนาน่าในระบบปลูกไร้ดินแบบ DEEP FLOW TECHNIQUE

TISSUE CULTURE AND FACTORS AFFECTING GROWTH ON AQUATIC PLANT (*Anubias nana*) IN DEEP FLOW TECHNIQUE SYSTEM

วันวิสาข์ บุญเรือง
WANWISA BOONRUANG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
พ.ศ. 2552

KMITL-2009-AG-M-081-037

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาในระบบปลูกไร้ดินแบบ DEEP FLOW TECHNIQUE

TISSUE CULTURE AND FACTORS AFFECTING GROWTH ON AQUATIC PLANT (*Anubias nana*) IN DEEP FLOW TECHNIQUE SYSTEM

T107462

วันวิสาข์ บุญเรือง

WANWISA BOONRUANG

เลขหมู่ 107462
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี 29 มี.ค. 2553

b
i

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2552

KMITL-2009-AG-M-081-037

TISSUE CULTURE AND FACTORS AFFECTING GROWTH ON AQUATIC PLANT (*Anubias nana*) IN DEEP FLOW TECHNIQUE SYSTEM

WANWISA BOONRUANG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FISHERIES SCIENCE

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2009

KMITL-2009-AG-M-081-037

COPYRIGHT 2009

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาในระบบปลูกไร้ดินแบบ deep flow technique
นักศึกษา	นางสาววันวิสาข์ บุญเรือง
รหัสประจำตัว	50065906
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมง
พ.ศ.	2552
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำอนูเบียสนานา (*Anubias nana*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและชักนำให้เกิดต้นอ่อนในอาหารเหลวกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-benzyladenine (BA) 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal; AC) 0, 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของอนูเบียสนานาที่นำมาเลี้ยงในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้อนูเบียสนานามีการเจริญเติบโตดีที่สุด ($P<0.05$) โดยมีจำนวนต้นอ่อนเฉลี่ยเท่ากับ 6.20±0.40 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 12.40±1.43 ใบต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ จากนั้นนำพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาปลูกในระบบการปลูกไร้ดินแบบ deep flow technique (DFT) ในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL2 ที่มีค่าการนำไฟฟ้า 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ค่าการนำไฟฟ้า 1.5 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร ทำให้อนูเบียสนานามีการเจริญเติบโตดีที่สุด ($P<0.05$) โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 25.93±0.90 ใบต่อต้น ความสูงของต้นเฉลี่ยเท่ากับ 10.05±0.20 เซนติเมตร น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ 9.44±0.82 กรัมต่อถ้วยปลูก ความหนาใบที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ 0.787±0.052 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 5.5-6.0, 6.5-7.0 และ 7.5-8.0 ต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาที่ปลูกในระบบการปลูกไร้ดินแบบ DFT ในสารละลายธาตุอาหารมีค่าการนำไฟฟ้า 1.5 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า อนูเบียสนานามีแนวโน้มเจริญเติบโตดีที่สุด ในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 6.5-7.0 แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับสารละลายธาตุอาหารที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 5.5-6.0 และ 7.5-8.0

Thesis	Tissue Culture and Factors Affecting Growth on Aquatic Plant (*Anubias nana*) in Deep Flow Technique System
Student	Miss Wanwisa Boonruang
Student ID.	50065906
Degree	Master of Science
Program	Fisheries Science
Year	2009
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nongnuch Laohavisuti

ABSTRACT

The micropropagation of aquatic plant, *Anubias nana* was studied. The first experiment was conducted for 6 weeks to find out the combination effect of using BA with activated charcoal on growth. The experimental BA concentrations were 0, 1.0, 2.0, 3.0 mg/L and activated charcoal were 0, 2.5, 5.0 g/L in MS media. At the end of experiment, it was found that growth rate was significantly enhanced by the addition of 2.0 mg/L BA with 0 g/L of activated charcoal ($P<0.05$) which showed the average numbers per explant of young shoot and leave of 6.20±0.40 and 12.40±1.43, respectively. The second experiment was conducted under hydroponic system (DFT) for 16 weeks. The experiment aimed to evaluate the optimal nutrient concentration (expressed as EC, electrical conductivity value) on growth performance of *Anubias nana*. There were 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 mS/cm. The final harvested of *Anubias nana* cultured with EC at 1.5 mS/cm gave significant better growth rate than other treatments ($P<0.05$), which had the leaves number of 25.93±0.90 leaves/plant, plant height of 10.05±0.20 cm./plant, gained weight of 9.44±0.82 grams/plant and leaf thickness of 0.787±0.052 mm. The third experiment was carried out to determine the optimum pH condition on growth performance. The different studied pH levels were 5.5-6.0, 6.5-7.0 and 7.5-8.0 for 16 weeks in which all treatment were applied with the same nutrient solution of EC at 1.5 mS/cm. The result showed that the growth was highest at pH 6.5-7.0 than other treatments. However, there were no statistically significant differences among treatments ($P>0.05$).

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาของข้าพเจ้า ที่คอยให้คำแนะนำและคำปรึกษาที่ดี ชี้ข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง พร้อมทั้งให้ความช่วยเหลืออย่างใกล้ชิด ให้แนวทางแก้ไขปัญหาตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สุเม อรัญนารถ รศ.ดร.สมชาย หวังวิบูลย์กิจ และ ผศ.ดร.อัจฉรี เรืองเดช กรรมการสอบหัวข้อและโครงร่างวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อิทธิสุนทร นันทกิจ ดร.สมศรี งามวงศ์ชน และอาจารย์มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร.จตุพร บัณฑิต ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขบทคัดย่อภาษาอังกฤษของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผศ. สมเกียรติ สีสนอง ที่ให้ความช่วยเหลือทั้งในด้านคำแนะนำต่างๆ และ แก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในโรงเรือนพรรณไม้น้ำ

ขอขอบคุณ คุณวรางคณา กาซัม ที่ให้คำปรึกษา และแนะนำความรู้ที่ดีด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ รวมทั้งชี้แนะแนวทางวิธีเขียนเล่มวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ พี่ๆนักวิทยาศาสตร์ เพื่อนๆ ปริญญาโท และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการทุกคน ที่คอยช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา

สุดท้ายต้องขอขอบคุณ คุณโอชาติ สุวรรณชาตรี ที่คอยเป็นกำลังใจและพร้อมช่วยเหลือข้าพเจ้า ในทุกๆ เรื่องมาโดยตลอด

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับครอบครัว บิดา และมารดาซึ่งเป็นที่รักและเคารพอย่างยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

วันวิสาข์ บุญเรือง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... II

กิตติกรรมประกาศ..... III

สารบัญ..... IV

สารบัญตาราง..... VIII

สารบัญภาพ..... IX

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา..... 2

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4

2.1 พรรณไม้น้ำอนุเบียสนานา..... 4

2.2 หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ..... 4

2.2.1 การคัดเลือกชิ้นส่วนเริ่มต้น (explants selection)..... 5

2.2.2 การฟอกกำจัดเชื้อ (surface sterilization)..... 5

2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulator)..... 8

2.3.1 กลุ่มออกซิน (auxins)..... 8

2.3.2 กลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins)..... 8

2.4 ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal)..... 9

2.4.1 การทำให้อาหารมีสีดำ (darkening of the medium)..... 10

2.4.2 การพัฒนาคัพภะ (embryogenesis)..... 10

2.4.3 การรักษาค่า pH ของอาหาร (pH of medium)..... 11

2.4.4 การดูดซับสารควบคุมการเจริญเติบโต..... (absorption of plant growth regulators)..... 11

2.4.5 การดูดซับสารประกอบที่ยับยั้งการเจริญ..... (absorption of inhibitory compound)..... 12

2.5 ระบบปลูกพรรณไม้น้ำแบบไร้ดิน (hydroponics system)..... 15

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5.1 การปลูกพรรณไม้น้ำในทรายหยาบ 15
2.5.2 การปลูกพรรณไม้น้ำในสารละลายธาตุอาหารพืช 15
2.6 ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำ 17
2.6.1 ปัจจัยด้านพันธุกรรม 17
2.6.2 ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม 17

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 20
3.1 พรรณไม้น้ำทดลอง 20
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 20
3.3 วิธีดำเนินการ 22
3.3.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ AC ที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียสนานา 22
3.3.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหาร ..... ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบการปลูก..... พืชไร้ดินแบบ DFT 23
3.3.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับค่า pH ในสารละลายธาตุอาหาร ..... ที่เหมาะสมต่อต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบการปลูก..... พืชไร้ดินแบบ DFT 24
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล 24
3.5 สถานที่ทำการวิจัย 25
3.6 ระยะเวลาในการทำวิจัย 25

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 26
4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต..... BA ร่วมกับ AC ที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียสนานา 26
4.1.1 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนของอนูเบียสนานา..... 26
4.1.2 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อการชักนำให้เกิดใบของอนูเบียสนานา 28
4.1.3 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของอนูเบียสนานา 29

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.1.4 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อความยาวรากของอนูเบียสนานา..... 30
4.1.5 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อความสูงต้นของอนูเบียสนานา..... 32
4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหาร.....
ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบการปลูกพืชไร้ดิน.....
แบบ DFT..... 35
4.2.1 ระดับของค่า EC ต่อจำนวนต้นของอนูเบียสนานา..... 35
4.2.2 ระดับของค่า EC ต่อความสูงต้นของอนูเบียสนานา..... 36
4.2.3 ระดับของค่า EC ต่อจำนวนใบของอนูเบียสนานา..... 38
4.2.4 ระดับของค่า EC ต่อความกว้างใบของอนูเบียสนานา..... 39
4.2.5 ระดับของค่า EC ต่อความยาวใบของอนูเบียสนานา..... 40
4.2.6 ระดับของค่า EC ต่อน้ำหนักสดของอนูเบียสนานา..... 42
4.2.7 ระดับของค่า EC ต่อความหนาใบของอนูเบียสนานา..... 42
4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับของค่า pH ในสารละลายธาตุอาหาร.....
ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบการปลูกพืชไร้ดิน.....
แบบ DFT..... 45
4.3.1 ระดับของค่า pH ต่อจำนวนต้นของอนูเบียสนานา..... 46
4.3.2 ระดับของค่า pH ต่อความสูงต้นของอนูเบียสนานา..... 47
4.3.3 ระดับของค่า pH ต่อจำนวนใบของอนูเบียสนานา..... 48
4.3.4 ระดับของค่า pH ต่อความกว้างใบของอนูเบียสนานา..... 49
4.3.5 ระดับของค่า pH ต่อความยาวใบของอนูเบียสนานา..... 50
4.3.6 ระดับของค่า pH ต่อน้ำหนักสดของอนูเบียสนานา..... 51
4.3.7 ระดับของค่า pH ต่อความหนาใบของอนูเบียสนานา..... 51

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 55

บรรณานุกรม..... 56
ภาคผนวก ก. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ..... 63
ภาคผนวก ข. สารละลายธาตุอาหาร..... 66

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ค. ตารางแสดงการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำ
อนูเบียสนานาในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ AC โดยใช้
general linear model..... 68

ประวัติผู้เขียน..... 71

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ชนิด ความเข้มข้น ระยะเวลา และประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการฟอกกำจัด..... เชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... 6

2.2 ตัวอย่างการฟอกกำจัดเชื้อที่ผิวของพืชน้ำแต่ละชนิด..... 7

2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำแต่ละชนิด..... 13

4.1 จำนวนต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC ความเข้มข้นต่างกัน..... 27

4.2 จำนวนใบในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC ความเข้มข้นต่างกัน..... 29

4.3 จำนวนรากในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC ความเข้มข้นต่างกัน..... 30

4.4 ความยาวรากเฉลี่ย (ซ.ม.) ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC ความเข้มข้นต่างกัน..... 32

4.5 ความสูงต้นเฉลี่ย (ซ.ม.) ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC ความเข้มข้นต่างกัน..... 33

4.6 จำนวนต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน..... 36

4.7 ความสูงต้นเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน.... 37

4.8 จำนวนใบเฉลี่ยของของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน..... 38

4.9 ความกว้างใบเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน. 40

4.10 ความยาวใบเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน.. 41

4.11 น้ำหนักเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน..... 42

4.12 ความหนาใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน..... 43

4.13 จำนวนต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน..... 46

4.14 ความสูงต้นเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน... 47

4.15 จำนวนใบเฉลี่ยของของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน..... 48

4.16 ความกว้างใบเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน 49

4.17 ความยาวใบเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน... 50

4.18 น้ำหนักเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน..... 51

4.19 ความหนาใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน..... 52

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 พรรณไม้น้ำอนูเบียสนานา (*Anubias nana*)..... 4

2.2 ระบบ nutrient film technique (NFT)..... 15

2.3 ระบบ deep flow technique (DFT)..... 16

2.4 ระบบ floating system..... 16

3.1 พรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาอายุ 6 สัปดาห์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... 21

3.2 ชุดรางปลูกพรรณไม้น้ำไร้ดินแบบ DFT..... 21

4.1 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนของอนูเบียสนานา.....
เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์; อักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่าง.....
มีนัยสำคัญทาง สถิติ ($P<0.05$)..... 26

4.2 ต้นอ่อนของอนูเบียสนานาที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....
(ก) เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + AC 2.5 กรัมต่อลิตร
(ค) เติม + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + AC 5.0 กรัมต่อลิตร..... 27

4.3 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อการชักนำให้เกิดใบของอนูเบียสนานา.....
เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์; อักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่าง.....
มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)..... 28

4.4 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของอนูเบียสนานา.....
เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 30

4.5 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อความยาวรากอนูเบียสนานา.....
เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์; อักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่าง.....
มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)..... 31

4.6 ความยาวรากของอนูเบียสนานาที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....
(ก)ไม่เติม BA และ AC (ข) เติม AC 2.5 กรัมต่อลิตร (ค) เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร..... 31

4.7 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อความสูงของต้นอนูเบียสนานา.....
เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์..... 33

4.8 จำนวนต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน.....
ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.9 จำนวนสูงเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน..... ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 37
4.10 จำนวนใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน..... ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 39
4.11 ความกว้างใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน..... ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 40
4.12 ความยาวใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน..... ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 41
4.13 การเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน..... 43
4.14 จำนวนต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน..... ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 46
4.15 ความสูงต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน..... ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 47
4.16 จำนวนใบเฉลี่ยของของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน..... ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 48
4.17 ความกว้างใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน..... ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 49
4.18 ความยาวใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน..... ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 50
4.19 การเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน..... 52

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พรรณไม้น้ำสวยงามเป็นกลุ่มพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ที่ทำรายได้มาสู่ประเทศไทยได้ปีหนึ่งๆ มีมูลค่านับหลายร้อยล้าน และได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ โดยนำมาประดับตกแต่งในตู้กระจกคล้ายการจัดสวนพรรณไม้น้ำที่มีความงดงามอย่างเป็นธรรมชาติ พรรณไม้น้ำนอกจากจะมีรูปทรงและมีสีสันหลากหลายสวยงามแล้ว ยังมีประโยชน์ต่อคุณภาพน้ำและคุณภาพชีวิตของปลาในตู้ ชนิดที่ได้รับความนิยมคือพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส เป็นพรรณไม้น้ำอยู่ในวงศ์ Araceae มีใบหนารูปไข่สีเขียวเข้ม แตกออกจากโคนต้น ดอกขนาดเล็กไม่มีก้านดอกออกรวมกันเป็นช่อแบบสแปดิก (spadix) ลักษณะคล้ายดอกหน้าวัวคือเป็นดอกเล็กๆ จำนวนมากรวมกลุ่มกันแน่น มีสีน้ำตาลหรือสีขาว ลำต้นเตี้ยสูงไม่เกิน 15 เซนติเมตร จัดเป็นพรรณไม้น้ำที่ดูแลรักษาง่าย นิยมปลูกด้านหน้าของตู้ สามารถอยู่ใต้น้ำได้ยาวนาน จากลักษณะเด่นดังกล่าวจึงทำให้ต้นอนูเบียสเป็นที่นิยมของตลาดมาก มีมูลค่าในการส่งออกสูง แต่มีข้อจำกัดคือเจริญเติบโตช้า (วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. 2543) วิธีการขยายพันธุ์แบบดั้งเดิม เช่น การแยกหน่อ ตัดแบ่งไรโซม หรือปลูกแบบครึ่งบกครึ่งน้ำ ยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร เป็นผลให้ผู้ผลิตไม่สามารถเพิ่มผลผลิตออกมาให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ทั้งที่สามารถปลูกขยายพันธุ์ได้ในสภาพภูมิอากาศของเมืองไทย (สุกัญญา พริกจำรูญ. 2548)

การศึกษาวิธีการเพาะขยายพันธุ์เพื่อเร่งการเจริญเติบโตให้ได้ปริมาณควบคู่กับคุณภาพเป็นที่ทราบดีว่าเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถช่วยเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ที่มีคุณภาพ แข็งแรง ปราศจากเชื้อโรค แต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยอาหารสูตรพื้นฐานเพียงอย่างเดียวไม่สามารถเพิ่มจำนวนต้นได้ จึงต้องมีการเติมสาร 6-benzyladenine (BA) ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินที่มีประสิทธิภาพเหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้อย่างรวดเร็ว ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal; AC) เป็นสารอินทรีย์ใช้เสริมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อ เพิ่มการดูดซับสารสีน้ำตาลที่ไม่ต้องการในอาหาร และรักษาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของอาหารให้คงที่ ตลอดจนสามารถนำต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการ ออกปลูกทดสอบในโรงเรือนเพื่อเพิ่มผลผลิตและได้ขนาดตามมาตรฐานการส่งออก สามารถปลูกได้ทั้งโรงเรือนแบบปิด (green house) และแบบเปิด ส่วนใหญ่พรรณไม้น้ำที่ปลูกแบบครึ่งบกครึ่งน้ำในแปลงเลี้ยงแบบเปิด มักจะมีปัญหาจากเชื้อราและแมลงกัดกินใบ ก่อให้เกิดความเสียหาย (วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. 2543) ปัจจุบันการปลูก พรรณไม้น้ำเพื่อการค้านิยมเพาะเลี้ยงกันในโรงเรือนแบบปิด โดยใช้วิธีการปลูกแบบไม่ใช้ดิน (hydroponics) เป็นการ

เลียนแบบการปลูกพืชบนดิน รากพืชสามารถดูดธาตุอาหารที่ละลายอยู่ในน้ำได้โดยตรงและอยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ทันที ทำให้พรรณไม้น้ำสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพสูงกว่าการปลูกแบบทั่วๆ ไป กล่าวคือสามารถป้องกันปัญหาศัตรูพืชที่เกิดจากดิน รวมทั้งควบคุมสภาพแวดล้อมและปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำได้ (อิทธิสุนทร นันทกิจ. 2538) เช่น สูตรสารละลายธาตุอาหาร และระดับความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมแก่พรรณไม้น้ำแต่ละชนิด ซึ่งจะแสดงในรูปของค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity; EC) ถ้าค่า EC สูงหมายความว่ามีธาตุอาหารต่างๆ ละลายอยู่มาก ถ้าค่า EC ต่ำแสดงว่ามีธาตุอาหารต่างๆ ละลายอยู่น้อย นอกจากนี้เพื่อให้พืชสามารถดูดใช้สารอาหารได้ดีจึงต้องมีการควบคุมค่า pH เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถของรากที่จะดูดธาตุอาหารต่างๆ รากพืชจะดูดนำไปใช้ประโยชน์มากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับค่า pH ที่แตกต่างกัน (ดิเรก ทองอร่าม. 2548)

ดังนั้น การศึกษาอัตราส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ AC ที่เหมาะสมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ รวมถึงค่า EC และค่า pH ของสารละลายธาตุอาหาร จึงเป็นประเด็นสำคัญที่ควรศึกษาเพื่อหาระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาในระบบการปลูกแบบไร้ดิน นำไปสู่แนวทางการเพิ่มศักยภาพในการผลิตให้ประสบผลสำเร็จอย่างแท้จริง

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ AC ที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียสนานา

2. เพื่อศึกษาระดับของค่า EC ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบการปลูกแบบไร้ดิน

3. เพื่อศึกษาระดับของค่า pH ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบการปลูกแบบไร้ดิน

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถเพิ่มผลผลิตของพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้นโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสม

2. พรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการ เมื่อนำออกปลูกทดสอบในโรงเรือนโดยวิธีการปลูกแบบไร้ดิน พรรณไม้น้ำจะได้รับสารละลายธาตุอาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารที่จำเป็นซึ่งอยู่ในรูปที่สามารถนำไปใช้ได้ทันที เพราะสามารถควบคุม

ค่า EC และ pH ซึ่งเป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม เพื่อเป็นการเพิ่มผลผลิตของพรรณไม้น้ำอนุเบียสนานา

3. ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง หรือวารสารการเลี้ยงปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำซึ่งเกษตรกรสามารถหาอ่านได้ทั่วไป

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พรรณไม้น้ำอนูเบียสนานา

อนูเบียสนานา มีชื่อสามัญว่า dwarf anubias และชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Anubias nana* (ภาพที่ 2.1) เป็นพรรณไม้น้ำสวยงามอยู่ในวงศ์ Araceae ถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกาตะวันตก แพร่กระจายอยู่ตามบริเวณทุ่ง Savana ตลอดริมแม่น้ำสายหลัก ในธรรมชาติอนูเบียสชอบขึ้นอยู่บริเวณที่ร่ม มีความชื้นสูง สามารถเจริญเติบโตอยู่ใต้น้ำได้นาน ทำให้อนูเบียสได้รับความนิยมนำมาประดับตู้ปลาขนาดเล็ก (Unnikrishnan. 2002) อนูเบียสนานามีลักษณะเด่นคือ ต้นเตี้ยสูงไม่เกิน 15 เซนติเมตร ลำต้นเป็นไรโซม (rhizomes) ใต้ดิน ก้านใบแตกออกจากโคนต้นคล้ายทรงพุ่ม ดอกมีขนาดเล็กเป็นช่อแบบสแปดิกคล้ายดอกหน้าวัว เป็นสีขาวหรือน้ำตาล มีใบหนารูปไข่สีเขียวเข้ม เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 22-28 องศาเซลเซียส มีแสงสลัว และค่า pH 5.5-8.0 การขยายพันธุ์จะใช้วิธีแยกหน่อตัดแบ่งไรโซมซึ่งใช้เวลานานมาก ในแต่ละปีจะเกิดใบใหม่ขึ้นเพียง 8-10ใบ (วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. 2543)

ภาพที่ 2.1 พรรณไม้น้ำอนูเบียสนานา (*Anubias nana*)

2.2 หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

เป็นวิธีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ นำชิ้นส่วนของต้นพันธุ์พรรณไม้น้ำ เช่น ชิ้นส่วนยอด ปลายยอด ตาข้าง ใบ ดอก ผล เมล็ด ข้อ ราก เป็นต้น หรือเซลล์เพียงเซลล์เดียวจากใบ และเซลล์ที่ปราศจากผนังเซลล์ที่เรียกว่า โปรโตพลาสต์ มาเลี้ยงในสภาพปลอด

เชื้อจุลินทรีย์ ด้วยอาหารที่เตรียมในห้องทดลอง ประกอบด้วย แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยมีการควบคุมปัจจัยสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และแสง ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพรรณไม้น้ำ ชิ้นเนื้อเยื่อจะเจริญพัฒนาเกิดเป็นต้นใหม่ได้มากมาย ทำให้สามารถผลิตต้นอ่อนปลอดเชื้อได้ในเชิงปริมาณ ได้ต้นพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงปริมาณมาก โดยใช้ระยะเวลาที่สั้นกว่าการเพาะขยายพันธุ์ด้วยวิธีอื่น ผลผลิตที่ได้มีความสม่ำเสมอและคงเอกลักษณ์ของสายพันธุ์เดิม เนื่องจากเป็นการขยายพันธุ์โดยใช้เซลล์ร่างกาย ทำให้มีสารพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ (วันเพ็ญ มีนกาญจน์. 2546)

2.2.1 การคัดเลือกชิ้นส่วนเริ่มต้น (explant selection)

ส่วนต่างๆ ของพรรณไม้น้ำ เช่น ปลายยอด ลำต้น ใบ ราก ดอก ผล หรือเซลล์ หรือแม้กระทั่งโปรโตพลาสต์ สามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงได้ การที่จะเลือกใช้ส่วนใดของพืชขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ ตัวอย่างเช่น การใช้เมล็ดของต้น *Pogonatherum paniceum* สามารถชักนำให้เกิดเนื้อเยื่อที่เรียกว่า แคลลัส (Wang *et al.* 2007) เช่นเดียวกับใบอ่อนของต้น *Ocimum basilicum* สามารถชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสมากที่สุด (Gopi and Ponmurugan. 2006) แต่ลักษณะของแคลลัสแตกต่างกัน แคลลัสที่ได้จากเมล็ดมีลักษณะสีเหลืองอ่อนรวมกลุ่มกันอย่างหนาแน่น ซึ่งสามารถพัฒนาต่อไปเป็นต้นอ่อนได้สมบูรณ์เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เหมาะสม ส่วนแคลลัสที่ได้จากใบอ่อน มีลักษณะเป็นสีเขียวรวมกลุ่มกันอย่างหนาแน่น สามารถพัฒนาไปเป็นเอมบริโอมากที่สุด

การชักนำชิ้นส่วนของพืชให้เกิดเป็นต้นจำนวนมากด้วยอาหารที่เหมาะสม แต่ไม่มีการเกิดแคลลัส เรียกว่า direct morphogenesis โดยการใช้เนื้อเยื่อเริ่มต้นที่แตกต่างกันออกไป ในรายงานของ Bird *et al.* (1998) ได้นำเมล็ดของหญ้าทะเลเป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้นในการชักนำให้เกิดต้น นอกจากนี้ Kane *et al.* (1999) ใช้บริเวณปลายยอดของพรรณไม้น้ำ *Cryptocoryne wendtii* เป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่นเดียวกับพรรณไม้น้ำ *Cryptocoryne balansae* ใช้บริเวณตายอดเป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้น (มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ. 2546)

2.2.2 การฟอกกำจัดเชื้อ (surface sterilization)

การฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนพรรณไม้น้ำ เป็นการฟอกกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ที่ผิวภายนอกของชิ้นส่วนพรรณไม้น้ำ จุลินทรีย์เหล่านี้ทำให้เกิดความเสียหายแก่เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยง เนื่องจากมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และไปเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่า pH ของอาหารเพาะเลี้ยง และมีการปลดปล่อยสารต่างๆ ที่เกิดจากกระบวนการทางชีวเคมีของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุที่สำคัญของการปนเปื้อน ทำให้เนื้อเยื่อไม่สามารถเจริญเติบโตได้และตายในที่สุด โดยทั่วไปการกำจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากผิวชิ้นส่วนพรรณไม้น้ำทำได้โดยการใช้สารเคมีที่มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ แต่จะทำได้ยากในชิ้นส่วนที่มีขนหรือผิวไม่เรียบ วิธีการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ มี 2 วิธี คือวิธีแรกการใช้สารเคมีแสดงดังตารางที่ 2.1 ใช้ได้กับชิ้นส่วนต่างๆ ของ

พรรณไม้น้ำ เช่น ปลายยอด ตาข้างหรือใบ และวิธีที่สองการจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำขึ้นลนไฟ หลังจากนั้นจึงผ่าเอาเนื้อเยื่อภายในไปเพาะเลี้ยง ใช้กับชิ้นส่วนที่แข็ง เช่น เมล็ด ผล ฝัก เป็นต้น (วันเพ็ญ มีนกาญจน์. 2546)

ตารางที่ 2.1 ชนิด ความเข้มข้น ระยะเวลา และประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการฟอกกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สารเคมี	ความเข้มข้นที่ใช้ (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาที่ใช้ (นาที)	ประสิทธิภาพในการฟอกกำจัดเชื้อ
Cacium hypochlorite : $CaOCl_2$	9-10	5-30	ดีมาก
Sodium hypochlorite : NaOCl	0.25-2.65	5-30	ดีมาก
Hydrogen peroxide : H_2O_2	0-12	5-15	ดี
Bromide water	1-2	2-10	ดีมาก
Silver nitrate : $Ag(NO_3)_2$	1	5-30	ดี
Iodine water	3	30	ดี
Mercuric chloride : $HgCl_2$	0.1-1	2-10	พอใช้
Mercuric iodide : Hgl_2	0.5	30	ดี
Mercuric bromide : $HgBr_2$	0.5	30	ดี
Sulfuric acid : H_2SO_4	20-70	5-20	ดีมาก
Alcohol (ethyl, methyl, isopropyl)	70-95	2-5	ดีมาก

ที่มา : รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ (2540)

สารฟอกกำจัดเชื้อที่นิยมและใช้ได้ผลดี ได้แก่ sodium hypochlorite หรือน้ำยาแช่ผ้าขาวที่มีขายตามท้องตลาด มีชื่อทางการค้าที่รู้จักดีคือคลอรอกซ์ และไฮเตอร์ เป็นต้น การเลือกใช้สารชนิดใดควรพิจารณาเลือกใช้สารที่ทำให้ชิ้นพืชที่ฟอกสะอาดที่สุด ฆ่าเชื้อได้มากที่สุดโดยชิ้นพืชนั้นไม่ถูกทำลาย และมีปัจจัยอื่นเข้ามาร่วม เช่น ราคาไม่แพง เตรียมง่าย หาซื้อง่าย และไม่เป็นอันตรายต่อสภาพแวดล้อม สารคลอรอกซ์เมื่อใช้ควรเจือจางน้ำตามอัตราส่วนที่ต้องการ อาจใช้สารจับใบ เช่น tween20 หรือ teepol เพื่อช่วยให้สารฟอกกำจัดเชื้อเข้าไปในผิวของเนื้อเยื่อที่ไม่เรียบหรือมีขนได้ดีขึ้น (จิรา ณ หนองคาย. 2551) ประสิทธิภาพของสารฟอกกำจัดเชื้อเหล่านี้ เป็นผลมาจากการตอบสนองต่อเวลา และปริมาณของสารที่ใช้ โดยปกติประสิทธิภาพจะมากขึ้นถ้าใช้เวลาและความเข้มข้นของสารมากขึ้น แต่ถ้าใช้มากเกินไปอาจทำอันตรายต่อความมีชีวิตของเซลล์ เนื้อเยื่อหรืออวัยวะของพืชได้ จึงต้องทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสมก่อน (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540) แสดงตัวอย่างการฟอกกำจัดเชื้อที่ผิวของพืชน้ำแต่ละชนิดดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างการฟอกกำจัดเชื้อที่ผิวของพืชน้ำแต่ละชนิด

ชนิดพืช	เนื้อเยื่อ (explants)	การฟอกกำจัดเชื้อ (surface sterilization)	ผลที่ได้	เอกสารอ้างอิง
อนูเบียส *(Anubias* sp.)	ใบอ่อน (folded leaf)	• ใช้ chlorox 10% + สารจับใบ tween20 นาน 15 นาที • ใช้ chlorox 5% + สารจับใบ tween20 นาน 10 นาที	• อัตรารอดของเนื้อเยื่อ 13.33%	มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ. 2540
ใบพายเขาใหญ่ *(Cryptocoryne balansae)*	ตายอด (apical bud)	• ใช้ NaOCl 10% นาน 10 นาที • ใช้ NaOCl 5% นาน 15 นาที • จุ่ม alcohol 70% นาน 30 วินาที	-	มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ. 2546
อเมซอนมาร์ตี้ *(Echinodorus martii)*	ช่อดอก (bouquet)	• ใช้ $AgNO_3$ 0.2% นาน 9 นาที	• อัตรารอดของเนื้อเยื่อ 85%	โอปอล์ สิวะสุธรรม. 2549
หอมน้ำ *(Crinum thaianum)*	กลีบหัว (bulb scale)	• ใช้ NaOCl 4% นาน 20 นาที • ใช้ $HgCl_2$ 2% นาน 10 นาที	• 3 สัปดาห์ มีอัตราการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียเพียง 10%	วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย และ รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์. 2551
หญ้าทะเล *(Halophila decipiens)*	เมล็ด (seed)	• ใช้ NaOCl 0.525% นาน 20 นาที + Betadine 0.01% นาน 1 นาที	• ภายใน 2 สัปดาห์ เมล็ดมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อน 36.7%	Bird *et al.* 1998
ใบพายศรีลังกา *(Cryptocoryne wendtii)*	ปลายยอด (shoots tip)	• จุ่ม ethanol 50% นาน 1 นาที • ใช้ NaOCl 1.05% + สารจับใบ Tween20 นาน 12 นาที	-	Kane *et al.* 1999

2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulator)

สารควบคุมการเจริญเติบโตหรือฮอร์โมน เป็นชื่อรวมที่เรียกสารทั้งสารที่เกิดจากธรรมชาติและสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาที่มีอิทธิพลต่อการเจริญและการเติบโตของพืช ถ้าเป็นสารอินทรีย์ที่พบในธรรมชาติ ซึ่งพืชสร้างขึ้นมาเองจะเรียกว่าฮอร์โมน สารเหล่านี้พืชจะสร้างขึ้นมาจากอวัยวะแห่งหนึ่งซึ่งเป็นคนละแห่งกับบริเวณที่มันทำงาน และการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนจะมีฮอร์โมนในปริมาณที่น้อยมาก (ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546) ในปัจจุบันคำว่าฮอร์โมนมักใช้แทนสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาซึ่งมีอิทธิพลเหมือนกับฮอร์โมนด้วย ในการเพาะเลี้ยงเนื้อพืชฮอร์โมนที่นิยมใช้กันมากมี 2 กลุ่ม ดังนี้

2.3.1 กลุ่มออกซิน (auxins)

ออกซินที่พบในธรรมชาติเป็นสารที่พืชสังเคราะห์จากส่วนเนื้อเยื่อเจริญ ใบอ่อน ดอก ผล ปลายราก ซึ่งออกซินจะถูกทำลายโดยแสงหรืออาจถูกทำลายโดยเอนไซม์ได้ สำหรับออกซินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสวยงาม แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

2.3.1.1 กลุ่มที่มาจากธรรมชาติ ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) มีคุณสมบัติที่ถูกทำลายโดยแสงและเอนไซม์ ซึ่งออกซิน IAA พบได้สูงในเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยง ฉะนั้น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงควรใช้ออกซิน IAA ความเข้มข้นสูงประมาณ 1-30 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3.1.2 กลุ่มที่มาจากการสังเคราะห์ ได้แก่ napthalene acetic acid (NAA), indole-3-butyric acid (IBA) และ 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) ออกซินที่ได้จากการสังเคราะห์จะไม่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ ฉะนั้น ปริมาณออกซินที่ได้จากการสังเคราะห์จึงใช้ในปริมาณที่น้อยกว่าออกซินที่ได้จากธรรมชาติ มีฤทธิ์ค่อนข้างแรงด้วย ปริมาณเหมาะสมที่ควรใช้คือ ประมาณ 0.001-10 มิลลิกรัมต่อลิตร (สุกัญญา พริกจำรูญ. 2548)

ออกซินทำหน้าที่ควบคุมการขยายตัวของเซลล์ กระตุ้นการแบ่งเซลล์ ทำให้ส่วนของพืชมีการเจริญเติบโตยืดยาวขึ้น ออกซินมีผลต่อการเกิดรากของกิ่งปักชำ กระตุ้นการเจริญเติบโตของผล การออกดอกและการติดผลของพืชบางชนิด ยังยั้งการเจริญเติบโตของตาข้าง และเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางสรีรวิทยาอื่นๆ ของพืชอีกมาก (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2538)

2.3.2 กลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins)

เป็นควบคุมการเจริญเติบโตที่กระตุ้นการเกิดยอดเมื่อใช้ร่วมกันกับออกซินในอัตราส่วนที่เหมาะสม จะส่งผลให้เกิดการแบ่งเซลล์และเจริญพัฒนาเกิดเป็นลำต้น ไซโตไคนินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

2.3.2.1 กลุ่มที่มาจากธรรมชาติ ได้แก่ n_6-isopentyl adenine (2iP) และ zeatin

2.3.2.2 กลุ่มที่ได้จากการสังเคราะห์ ได้แก่ thidiazuron (TDZ) 6-benzylaminopurine (BAP) n_6-benzyladenine (BA) และ kinetin (สุกัญญา พริกจำรูญ. 2548)

ไซโตไคนินทำหน้าที่กระตุ้นการแบ่งเซลล์ การเจริญของกิ่งใบและลำต้น ส่งเสริมการเจริญของตาข้าง ช่วยชะลอการเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์ทำให้ใบมีอายุยาวขึ้น ควบคุมการปิดเปิดของปากใบ หากในรากปริมาณไซโตไคนินที่มากเกินไปมีผลยับยั้ง การยืดยาวของเซลล์ได้ (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2538) ไซโตไคนินที่นิยมใช้มากที่สุดกลุ่มที่ได้จากการสังเคราะห์ n_6-isopentyl adenine (2iP) ส่วน n_6-benzyladenine (BA) นิยมใช้มากโดยเฉพาะเพื่อแก้ไข apical dominance ของหน่อข้างและในการเพิ่มจำนวนยอด (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540)

สิ่งที่สำคัญคือสมดุลของออกซินและไซโตไคนินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพัฒนาของเซลล์ ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดจำเป็นต่อการเจริญเติบโตหรือการกำเนิดอวัยวะของเซลล์ที่เลี้ยง กล่าวคือ ชนิดของการพัฒนา ได้แก่ การเกิดเป็นแคลลัส ราก หรือยอด ถูกกำหนดโดยปริมาณความสัมพันธ์ของฮอร์โมนทั้งคู่ โดยทั่วไปถ้าสัดส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสูง (ออกซิน>ไซโตไคนิน) เซลล์จะพัฒนาไปเป็นราก ถ้าสัดส่วนนี้ต่ำ (ออกซิน<ไซโตไคนิน) จะพัฒนาไปเป็นยอดหรือต้น และหากสัดส่วนนี้สมดุล (ออกซิน=ไซโตไคนิน) จะพัฒนาไปเป็นแคลลัสต่อไป (Murashige. 1974) ทั้งนี้ปริมาณและสัดส่วนของฮอร์โมนที่เหมาะสมจะขึ้นอยู่กับชนิดพืช และชนิดชิ้นส่วนเริ่มต้น (ตารางที่ 2.3) จากลักษณะที่กล่าวมานี้ไม่ได้หมายความว่า การเกิดตาข้าง (adventitious bud formation) หรือการส่งเสริมการแตกแขนงของกิ่งนั้นต้องมีฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดอยู่ในอาหารเสมอไป ความต้องการของฮอร์โมนภายนอกขึ้นอยู่กับระดับของฮอร์โมนที่มีอยู่ในระบบต่างๆของพืช ซึ่งมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิดของเนื้อเยื่อพืชและช่วงระยะเวลาการเจริญของพืช ไม่ได้มีข้อกำหนดว่า การเพิ่มจำนวนต้น จำเป็นต้องมีออกซินในอาหารหรือไม่ ในพืชบางชนิดใช้เพียงไซโตไคนินเพียงอย่างเดียวก็เพียงพอต่อการเพิ่มจำนวน (บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544) เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำพรมมิด้วยอาหารที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA, Kinetin, TDZ และ 2ip พบว่า BA เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพิ่มจำนวนตายอด (Tiwari *et al.* 2001)

2.4 ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal)

ผงถ่านกัมมันต์ เป็นสารอินทรีย์ที่ได้จากการนำอินทรียวัตถุต่างๆ เช่น ไม้ ถ่านหิน ลิกไนต์ กะลามะพร้าว เศษผัก เปลือกหอย และกระดูก เป็นต้น มาผ่านกระบวนการคาร์บอนไนซ์ (carbonization) โดยเผาไหม้ด้วยความร้อนชื้นภายใต้อุณหภูมิสูง มีการควบคุมปริมาณออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อกำจัดสารประกอบต่างๆ ให้เหลือคาร์บอนบริสุทธิ์เพียงอย่างเดียว จึงเกิดโครงสร้างที่ไม่แน่นอน (amorphous) เนื่องจากภายในมีรูพรุนเล็กๆ จำนวนมากเชื่อมต่อกัน และจับกันด้วยพันธะที่มีอะตอมต่างกัน (bond heteroatom) ดังนั้นกระบวนการผลิตที่แตกต่างจากการ

ผลิตถ่านทั่วไป จึงทำให้ผงถ่านกัมมันต์มีความสามารถในการดูดซับสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ ที่มีอยู่ในของเหลวหรือก๊าซไว้ได้ในปริมาณสูง เช่น การเตรียมน้ำบริสุทธิ์ การบำบัดน้ำเสีย หรือในทางการแพทย์ใช้กำจัดสารพิษ และฟอกเลือด เป็นต้น สำหรับด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มักนิยมเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเซลล์ (Thomas. 2008) ผลของการใช้ผงถ่านกัมมันต์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อประโยชน์ดังต่อไปนี้

2.4.1 การทำให้อาหารมีสีดำ (darkening of the medium)

การเติมผงถ่านกัมมันต์ในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อทำให้อาหารอยู่ในสภาพมืด เป็นการกระตุ้นการงอกราก (Pan and Staden. 1998) และการยืดยาวของลำต้น เช่น การเพาะเลี้ยงต้นข้าวโพดด้วยอาหารสูตร MS ที่เติมผงถ่าน 5.0 กรัมต่อลิตร พบว่า รากและลำต้นยาวมากขึ้น 53.77 และ 163.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม รากและลำต้นยาว 15 และ 115 มิลลิเมตร (Mohamed-Yasseen. 2001) เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ 0.5 กรัมต่อลิตร ชักนำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตดีที่สุด โดยความสูงของลำต้นเท่ากับ 4 เซนติเมตร ราก 3.6 เซนติเมตร น้ำหนักมากที่สุด 708 มิลลิกรัม และมีอัตรารอด 100 เปอร์เซ็นต์ (Ket *et al.* 2004) อาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ 5.0 กรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อเจริญเติบโตพรรณไม้น้ำชนิด *Anubias congensis* สามารถชักนำให้จำนวนต้นอ่อนเพิ่มมากขึ้นเฉลี่ย 6.37 ต้น 18.33 ราก และความสูงของต้นมากที่สุดเท่ากับ 3.14 เซนติเมตร (พรรณวดี มุศิริ. 2550) นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารที่อยู่สภาพมืดจะส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชประเภทไม้หัว จากการทดลองของวรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย และรัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์ (2551) นำต้นหอมน้ำมาเลี้ยงในอาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ 2.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร พบว่า ผงถ่านกัมมันต์ช่วยเพิ่มขนาดของหัวย่อย โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหัวเฉลี่ยสูงที่สุด 6.9 มิลลิเมตร ภายในเวลา 2 เดือน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ ส่วนอาหารที่เติม ผงถ่านกัมมันต์ 3-10 กรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพเพิ่มจำนวนหัวของต้นลิลลี่มากขึ้นเท่าๆกัน แต่ปริมาณผงถ่านกัมมันต์ 5-10 มิลลิกรัมต่อลิตร จะกระตุ้นการเจริญเติบโตหัวย่อยของต้นลิลลี่มากที่สุด (Han *et al.* 2004)

2.4.2 การพัฒนาเป็นคัพภะ (embryogenesis)

ผงถ่านกัมมันต์สามารถกระตุ้นการเกิดโซมาติกเอมบริโอได้อย่างรวดเร็วในการเพาะเลี้ยงแคลลัส จากการทดลองของ Groll *et al.* (2002) นำแคลลัสจากใบเลี้ยงของต้น *Manihot esculenta* มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ 0 และ 5.0 กรัม พบว่า อาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ 5.0 กรัม สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอมบริโอได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งเอมบริโอมีลักษณะสีเขียวเข้ม ขนาดใหญ่ มีน้ำหนักมากที่สุด 94 กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ เอมบริโอมีน้ำหนัก 63.3 กรัม นอกจากนี้ผงถ่านกัมมันต์ยังสามารถ

กระตุ้นให้แคลลัสเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและแบ่งเซลล์ได้จำนวนมากเช่นกัน การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ต้น *Vitis vinifera* พบว่า อาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ 0.30 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้การพัฒนาของคัพภะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ภายใน 4 เดือน ตั้งแต่ระยะ pro embryo ถึง mature embryo ซึ่งในแต่ละระยะของการพัฒนาคัพภะจะมีจำนวนโคโลนีของคัพภะและการแบ่งเซลล์มากที่สุดเท่ากับ 4.7 และ 24.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Zhu *at el.* 1997)

2.4.3 การรักษาค่า pH ของอาหาร (pH of medium)

ค่า pH ของอาหารมีอิทธิพลต่อการละลายไอออนของอาหาร และความสามารถในการละลายของวุ้น pH ที่นิยมใช้สำหรับอาหารเพาะเลี้ยงโดยทั่วไปจะปรับอยู่ในระหว่าง 5.0-6.0 (บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544) ถ้า pH ต่ำหรือสูงเกินไปจะทำให้วุ้นไม่แข็งตัว วิตามินบีและฮอร์โมนพืชสลายตัวได้ง่าย นอกจากนี้การตกตะกอนของเกลือหลายชนิด เช่น เกลือฟอสเฟต และเหล็ก ทำให้พืชดูดไปใช้ไม่ได้ มีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อ pH ของอาหารจะลดลง 0.3-0.5 หน่วย หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อใน autoclave ในงานทดลองทางเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาจมีการใช้บัฟเฟอร์เพื่อควบคุม pH ของอาหาร และทำให้สารบางอย่างในอาหารเปลี่ยนไป (ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546) มีรายงานว่าผงถ่านกัมมันต์สามารถรักษาค่า pH ของอาหารให้คงที่ และมีผลทำให้น้ำตาลซูโครสแตกตัว (sucrose hydrolysis) เป็นกลูโคสกับฟรุกโทส ในการทดลองของ Pan and Staden (1999) ทำการปรับค่า pH ในอาหารแข็งสูตร MS ให้มีค่าเท่ากับ 5.8 หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อใน autoclave พบว่า อาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ ค่า pH ลดลงเพียง 1-2 หน่วย นอกจากนี้ยังการเติมผงถ่านกัมมันต์ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 เปอร์เซ็นต์ ทำให้น้ำตาลซูโครสแตกตัวมากที่สุด 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ เกิดขึ้นเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับงานทดลองของ Wann *et al.* (1997) รายงานว่าผงถ่านกัมมันต์ไม่ได้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการแตกตัวของซูโครส แต่ผงถ่านกัมมมันต์จะรักษาค่า pH ให้ต่ำ และเมื่ออาหารอยู่ในสภาพที่เป็นกรด น้ำตาลซูโครสจะแตกตัวเป็นกลูโคสกับฟรุกโทสได้อย่างรวดเร็ว

2.4.4 การดูดซับสารควบคุมการเจริญเติบโต (absorption of plant growth regulators)

สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนินที่ใช้เติมลงในอาหารเพื่อทำให้เซลล์ขยายเกิดการแบ่งตัว สัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ร่วมกันในอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประสบผลสำเร็จ เป็นที่ทราบกันดีว่าผงถ่านกัมมันต์นอกจากจะช่วยดูดซับสารพิษที่พืชปล่อยออกมาแล้ว (toxic plant metabolites) ยังสามารถช่วยดูดซับสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น BA, IAA, IBA, NAA และ Kinetin ที่มีความเข้มข้นสูงในอาหารเหลวและอาหารกึ่งแข็ง (Pan and Staden. 1998) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอมบริโอของต้นสนลูกผสมในอาหารกึ่งแข็ง 3 สูตร ได้แก่ อาหารสูตร MS (ชุดควบคุม) อาหารสูตร MS + 2,4-D และอาหารสูตร MS + ผงถ่านกัมมันต์ 1.0 เปอร์เซ็นต์ หลังจาก 1 สัปดาห์ นำเอมบริโอมาวิเคราะห์หาปริมาณ

สารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ ด้วยวิธี ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) พบว่าผงถ่านกัมมันต์มีผลทำให้ 2,4-D ลดลง จากผลการทดลองความเข้มข้นของ 2,4-D ในเนื้อเยื่อเอมบริโอมีค่าน้อยที่สุด เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS + ผงถ่านกัมมันต์ 1.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคืออาหารสูตร MS (ชุดควบคุม) และอาหารสูตร MS + 2,4-D โดยมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.0004, 0.009 และ 10,343 นาโนโมลาร์ ตามลำดับ ในทางตรงข้ามอาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ ทำให้ IAA มีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ 2.22 นาโนโมลาร์ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมผงถ่านกัมมันต์มีค่าเท่ากับ 1.88 นาโนโมลาร์ (Aderkas *et al.* 2002) ไซโตไคนินหรือ BA เมื่อมีความเข้มข้นสูงในอาหาร จะมีผลยับยั้งการเกิดราก อย่างไรก็ตาม รากสามารถเจริญได้ดีเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ เป็นไปได้ว่ากระบวนการภายในสรีระของพืชนั้นผงถ่านกัมมันต์จะเป็นปรปักษ์กับการทำงานของไซโตไคนิน (antagonizes cytokinin activity) ทำให้ BA ถูกดูดซับไว้โดยผงถ่านกัมมันต์ (Takayama and Misawa. 1980)

2.4.5 การดูดซับสารประกอบที่ยับยั้งการเจริญ (absorption of inhibitory compound)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นเมื่อเลี้ยงไปสักระยะหนึ่งจะพบว่าอาหารเพาะเลี้ยงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลซึ่งเกิดจากสาร phenolic compound ทำให้ต้องเปลี่ยนอาหารใหม่หลายๆ ครั้ง เป็นการเสียค่าใช้จ่ายมากขึ้น (บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544) การเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลนี้เกิดจากเอนไซม์ออกซิเดสเอนไซม์ชนิดนี้จะถูกสร้างขึ้นและขับออกมาบริเวณรอยตัดของชิ้นเนื้อเยื่อ ซึ่งพืชปล่อยออกมาเป็นสารพวกฟีนอลมักจะทำให้การเจริญและการเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อหยุดชะงัก พบมีการสะสมมากที่บริเวณใบ (ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546) สารในกลุ่มนี้ที่สำคัญ ได้แก่ แคทีโคล (cathecho) กรดเฟรูลิก (feruric acid) กรดคอมาริก (coumaric acid) กรดคาเฟอิก (caffeic acid) และแอนโทไซนิดีน (anthocynidines) สารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นสามารถป้องกันได้โดยเติมผงถ่านกัมมันต์ลงไปในอาหารเพื่อดูดซับสารพวกฟีนอลได้ (มุกดา สุขสวัสดิ์. 2538) ผงถ่านกัมมันต์เป็นสารอินทรีย์ที่เป็นคาร์บอนบริสุทธิ์สามารถดูดซับสารประกอบอโรมาติก (aromatic) อย่างเช่นฟีนอล สำหรับประสิทธิภาพในการดูดซับจะขึ้นอยู่กับโครงสร้างรูพรุน หมู่ฟังก์ชัน ความมีขั้ว และน้ำหนักโมเลกุล กระบวนการดูดซับจะเป็นการจับกันอย่างหลวมๆ ของสารอินทรีย์และคาร์บอนที่บริเวณผิวของผงถ่านกัมมันต์ (Dabrowski *et al.* 2005) เกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างโมเลกุลจับยึดกันด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์ (van der waals) ซึ่งในกระบวนการจะมีการให้และรับอิเล็กตรอน (electron donor-acceptor interaction) โดยหมู่คาร์บอนิลของผงถ่านกัมมันต์ ทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอน และวงแหวนอโรมาติกของฟีนอลเป็นตัวรับอิเล็กตรอน (Girods *et al.* 2009)

ตารางที่ 2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำแต่ละชนิด

พรรณไม้น้ำ	สารควบคุมการเจริญเติบโต		ผลการทดลอง	เอกสารอ้างอิง
	ไซโตไคนิน	ออกซิน		
โลบิเลีย *(Lobilia cardinalis)*	● BA 2.0 mg/L	●NAA 0.25 mg/L	● 45 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ● ความสูงของต้น 3.02 ซ.ม.	กาญจนรี พงษ์ฉวี และคณะ. 2543
ใบพายเขาใหญ่ *(Cryptocoryne balansae)*	● BA 3.0 mg/L	●NAA 0.3 mg/L	● 16 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ	มณีรัตน์ หวังวิบูลกิจย์. 2546
อนูเบียสนานา *(Anubias nana)*	● BA 1.8 mg/L	-	● 6.8 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ● 2.9 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ	กาญจนรี พงษ์ฉวี และณฐกร ประดิษฐ์สรรพ์. 2547
ชบาน้ำ *(Aponogeton madagascariensis)*	● BA 1.0 mg/L	●NAA 0.5 mg/L	● 8.1 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ● 3.8 หัวย่อยต่อชิ้นเนื้อเยื่อ	ณฐกร ประดิษฐ์สรรพ์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. 2547
อนูเบียสบาร์เทอรี่ *(Anubias barteri)*	● BA 2.0 mg/L	-	● 3.6 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ	วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย. 2548
อะโกลนีม่า *(Aglaonema simplex)*	● BA 2.0 mg/L	-	● 12.25 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ	นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และมัลลิกา มิตรน้อย. 2548

ตารางที่ 2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำแต่ละชนิด (ต่อ)

พรรณไม้น้ำ	สารควบคุมการเจริญเติบโต		ผลการทดลอง	เอกสารอ้างอิง
	ไซโตไคนิน	ออกซิน		
ไส้ปลาไหล *(Barclaya longifolia)*	• BA 3.0 mg/L	• NAA 0.1 mg/L	• 8 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ • 5.8 หัวย่อย	มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และวรางคณา กาซัม. 2549
อเมซอนแอฟริกา (*Echinodorus africanus*)	• BA 3.0 mg/L	-	• 9 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ	มัลลิกา มิตรน้อย. 2550
หอมน้ำ *(Crinum thaianum)*	• BA 0.2 mg/L	-	• ชักนำให้เกิดหัวย่อยจากชิ้นเนื้อเยื่อส่วนหัว	วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย และรัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์. 2551
ไส้ปลาไหล *(Barclaya longifolia)*	• KN 2.0 mg/L	• IAA 1.0 mg/L	• 2.52 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ • 23.5 ใบต่อชิ้นเนื้อเยื่อ	วรางคณา กาซัม และนงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2552
ใบพายศรีลังกา *(Crytocoryne wendtii)*	• BA 4.5 mg/L	-	• 7 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ • อัตรารอด 100%	Kane *et al.* 1999
พรมมิ *(Bacopa monniera)*	•BA 2.0 mg/L	-	• 20.4 ข้อ • 33.2 ใบ	Tiwari *et al.* 2001

2.5 ระบบปลูกพรรณไม้น้ำแบบไร้ดิน (hydroponics system)

การปลูกพรรณไม้น้ำแบบไร้ดิน คือ การปลูกพรรณไม้น้ำโดยไม่ใช้ดินแต่ใช้วัสดุปลูกหรือปลูกในสารละลายธาตุอาหารพืช (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549) ซึ่งแบ่งได้ 2 แบบ คือ

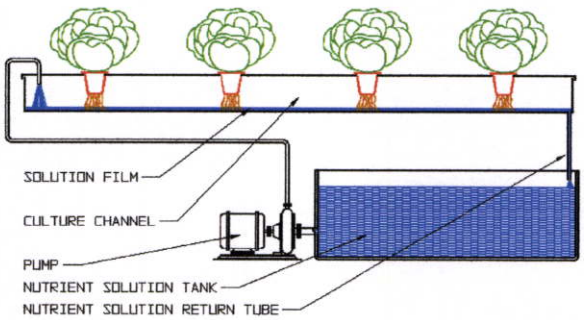
2.5.1 การปลูกพรรณไม้น้ำในทรายหยาบ

เป็นการปลูกพรรณไม้น้ำโดยใช้ทรายหยาบเป็นวัสดุปลูก ซึ่งทรายหยาบมีคุณสมบัติอุ้มน้ำได้น้อยมาก เป็นสารเฉื่อยไม่ทำปฏิกิริยาเคมี ความพรุนระหว่างก้อนมาก และมีอายุการใช้งานนาน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-3 มิลลิเมตร และในการปลูกจะใช้ความหนาของทรายหยาบประมาณ 15-20 เซนติเมตร

2.5.2 การปลูกพรรณไม้น้ำในสารละลายธาตุอาหารพืช

การปลูกในสารละลายธาตุอาหารพืชหรือการปลูกให้รากพืชสัมผัสน้ำ เป็นการปลูกโดยที่รากของพรรณไม้น้ำจะเจริญอยู่ในสารละลายธาตุอาหารพืช

2.5.2.1 ระบบ nutrient film technique (NFT) เป็นการปลูกพรรณไม้น้ำโดยให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากพรรณไม้น้ำอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาบนรางปลูก สารอาหารธาตุอาหารพืชจะไหลเป็นแผ่นฟิล์มที่มีความบางประมาณ 5 มิลลิเมตร ผ่านรากพืชที่บนรางปลูกที่มีความชันของรางปลูก ระบบนี้ประกอบรางปลูกพรรณไม้น้ำขนาดกว้าง 10 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร ยาว 4-18 เซนติเมตร

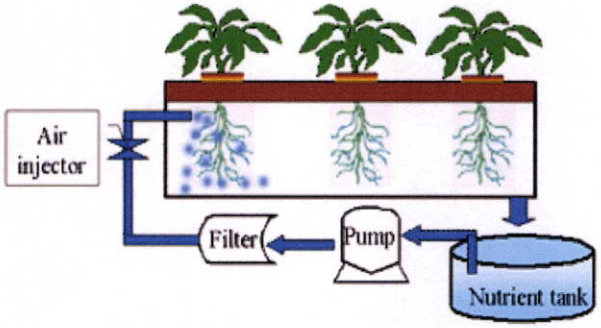


ภาพที่ 2.2 ระบบ nutrient film technique (NFT)

ที่มา : http://www.hhydro.com/cgi-bin/hhydro/NFTFAQ.htm

2.5.2.2 ระบบ deep flow technique (DFT) เป็นการปลูกพรรณไม้น้ำที่ให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากของพรรณไม้น้ำในรางโดยรากพืชแช่อยู่ในน้ำสูงประมาณ 3 เซนติเมตร ซึ่งสารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านช่องว่างภายในรางหรือท่อตลอดเวลา ระบบนี้ประกอบด้วยท่อ

ปลูก ทำมาจากท่อ PVC สีขาว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-2.5 นิ้ว ยาว 4-18 เมตร และด้านบนของท่อเจาะรูเพื่อปลูกพรรณไม้น้ำหรือใช้รางปลูกของระบบ NFT โดยติดตั้งรางปลูกอยู่ในแนวระนาบ



ภาพที่ 2.3 ระบบ deep flow technique (DFT)

ที่มา : http://webhost.wu.ac.th/msomsak/soilless/Chapter03/Hydroponics.htm

2.5.2.3 ระบบ floating system เป็นการปลูกพรรณไม้น้ำที่รากของพรรณไม้น้ำแช่อยู่ในน้ำในถาดปลูก ระบบนี้ประกอบด้วยโฟมเจาะรูเพื่อปลูกพรรณไม้น้ำ และแผ่นโฟมดังกล่าวนี้ลอยอยู่ในถาดปลูกที่ใส่สารละลายธาตุอาหารพืช

ภาพที่ 2.4 ระบบ floating system

ที่มา : http://www.kmitl.ac.th/hydro/

ปัจจุบันการปลูกพรรณไม้น้ำเพื่อการค้าแบบพัฒนาส่วนใหญ่นิยมเพาะเลี้ยงกันในโรงเรือน ซึ่งสามารถควบคุมความชื้น แสงสว่างและปุ๋ยได้โดยอัตโนมัติ สามารถป้องกันแมลงศัตรูพืชได้ดี และผลผลิตที่ได้มีลักษณะเป็นกลุ่มหรือกอสวยงามเป็นที่นิยมของผู้ซื้อ (วันเพ็ญ มีนกาญจน์. 2546)

ยุทธนา เกียรติธร (2547) ทำการทดลองเปรียบเทียบปลูกต้นใบพายเขาใหญ่ในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน 4 ระบบ คือ DFT แบบท่อ, sand culture, NFT และ DFT แบบถาดโฟม พบว่าการเจริญเติบโตของต้นใบพายเขาใหญ่ที่ปลูกในระบบ DFT แบบท่อดีที่สุด โดยน้ำหนักสดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด เช่นเดียวกับนงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และมัลลิกา มิตรน้อย (2548) ทดลองเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอะโกลนีม่า ด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน 4 ระบบ คือ DFT, NFT, sand culture และ floating system พบว่า ต้นอโกลนีมาที่ปลูกในระบบ DFT มีน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 2.48 กรัมต่อต้น รองลงมาคือ floating system sand culture และ NFT โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 2.46, 2.29 และ 2.01 กรัมต่อต้น ตามลำดับ

2.6 ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำ

2.6.1 ปัจจัยด้านพันธุกรรม

พันธุกรรมจัดเป็นปัจจัยของพืชเอง เพราะเกี่ยวข้องกับเรื่องของยีน เพราะยีนจะเป็นตัวถ่ายทอดพันธุกรรม เนื่องจากเป็นตัวควบคุมคุณลักษณะและลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของพ่อและแม่ไปสู่ลูกหลาน ควบคุมปฏิกิริยาทางชีวเคมีโดยการควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์และกำหนดโครงสร้างของโปรตีนภายในเซลล์พืชซึ่งความรู้เกี่ยวกับการถ่ายทอดพันธุกรรมนี้สามารถนำมาใช้ปรับปรุงพันธุ์พืชได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามการควบคุมของยีนอาจเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม ดังนั้นทั้งยีนและสภาพแวดล้อมจึงมีผลต่อพันธุกรรมของพืช (ดิเรก ทองอร่าม. 2548)

2.6.2 ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม

2.6.2.1 ธาตุอาหาร เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ธาตุอาหารหลัก ซึ่งพรรณไม้น้ำต้องการปริมาณมากในการเจริญเติบโต ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โปตัสเซียม (K) แมกนีเซียม (Mg) กัมมะถัน (S) และแคลเซียม (Ca) ธาตุอาหารหลักที่สำคัญคือ ไนโตรเจน เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเร่งให้ใบลำต้น เจริญได้ดี ส่วนธาตุอาหารรอง พรรณไม้น้ำต้องการในปริมาณน้อยและขาดธาตุอาหารเหล่านี้ไม่ได้ ได้แก่ คลอรีน (Cl) เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) โมลิบดินัม (Mo) และโบรอน (B) ธาตุอาหารรองที่สำคัญคือ เหล็ก ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่ช่วยให้ใบมีสีเขียว แต่ถ้ามีการให้ธาตุอาหารเหล่านี้มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อพรรณไม้น้ำได้ (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549) นับได้ว่าธาตุอาหารพืชเป็นหัวใจของการปลูก เพราะถ้าพืชไม่ได้รับธาตุอาหารก็จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ไปตามปกติ ปัจจุบันมีการคิดค้นสูตรอาหารสำหรับการปลูกแบบไร้ดินมากมายหลายสูตร แต่การเลือกใช้สูตรใด นอกจากขึ้นอยู่กับฤดู แสง อุณหภูมิ สถานที่ปลูก ยังขึ้นอยู่กับชนิดของพืชด้วย จากการทดลองของนงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และคณะ (2552) เปรียบเทียบการเจริญเติบโต

107462

ของพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานา ในระบบปลูก DFT ด้วยสูตรสารละลายธาตุอาหาร 4 สูตร คือ สูตร Netherlands (1 : 0.50 : 1.82) สูตร Australia (1 : 0.41 : 0.85) สูตร KMITL2 (1 : 0.50 : 1.47) และสูตร Belgium (1 : 0.55 : 2.01) พบว่า พรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL2 มีการเจริญเติบโตดีที่สุด

2.6.2.2 ค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity; EC) เป็นการบอกค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย ซึ่งแสดงถึงปริมาณความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหาร ถ้า EC สูงแสดงว่าสารละลายมีความเข้มข้นสูงคือมีธาตุต่างๆ ละลายอยู่มาก ค่า EC ที่ใช้ในการปลูกพืชแบบไร้ดินจะมีความแตกต่างกันมากในแต่ละพื้นที่ โดยทั่วไปค่า EC ที่เหมาะสมสำหรับปลูกพรรณไม้น้ำมีค่าเท่ากับ 0.5-1.5 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร ขึ้นอยู่กับชนิดพืช (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549) การทดลองของยุทธนา เกียรติธร (2547) ปลูกพรรณไม้น้ำใบพายเขาใหญ่ในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC 0.5-2.0 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร พบว่า ค่า EC 1.0 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร ทำให้ต้นใบพายเขาใหญ่ มีการเจริญเติบโตดีที่สุด เช่นเดียวกับมัลลิกา มิตรน้อย (2550) รายงานว่าค่า EC 2.0 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร ทำให้ต้นอเมซอนแอฟริกามีการเจริญเติบโตดีที่สุด นอกจากนี้ 1.0 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตรเหมาะสำหรับต้นรากดำใบยาว (มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และนงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549) และต้นไส้ปลาไหล 0.75 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร (สุรสิทธิ์ หงษ์เวียงจันทร์. 2552)

2.6.2.3 ค่า pH เป็นค่าบอกความเป็นกรดเป็นด่างของสารละลายธาตุอาหาร มีผลทางอ้อมต่อการเจริญเติบโต เพราะเกี่ยวข้องกับความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช จะควบคุมให้อยู่ในช่วง 5.5-6.5 เป็นช่วงที่ธาตุอาหารในสารละลายอยู่ในรูปที่พืชใช้ประโยชน์มากที่สุด สำหรับการปลูกแบบไร้ดิน (อิทธิสุนทร นันทกิจ. 2545) ค่า pH ของสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมสำหรับปลูกพรรณไม้น้ำคือ 6.5-7.4 (วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. 2543) พรรณไม้น้ำอเมซอนแอฟริกามีการเจริญเติบโตดีที่สุด เมื่อได้รับสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH อยู่ในช่วง 7.0-7.5 (มัลลิกา มิตรน้อย. 2550)

2.6.2.4 อุณหภูมิ มีผลต่ออัตราการเผาผลาญอาหารพืช (metabolism) ถ้าอุณหภูมิยิ่งสูงอัตราการเผาผลาญอาหารจะเร็วขึ้น อย่างไรก็ตามพรรณไม้น้ำแต่ละชนิดสามารถปรับตัวได้ในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำอยู่ระหว่าง 25-29 องศาเซลเซียส (วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. 2543)

2.6.2.5 ความชื้น เป็นปัจจัยที่สำคัญมากต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำ มีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโต หากรากไม่สามารถดูดน้ำได้ทันกับอัตราการคายน้ำของพืช จะทำให้การเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำหยุดชะงัก และทำให้พรรณไม้น้ำเหี่ยวเฉาได้ ปริมาณความชื้นที่เหมาะสมประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ การเพิ่มความชื้นภายในระบบปลูกพรรณไม้น้ำ ทำโดยการสเปรย์น้ำทุกๆ 15-20 นาที ครั้งละ 10-15 นาที (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549)

2.6.2.6 แสง เป็นปัจจัยที่สำคัญมากในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพรรณไม้น้ำเพื่อสร้างอาหารของพรรณไม้น้ำ โดยมีผลต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างของพรรณไม้น้ำเป็นอย่างมาก (สุชาดา ศรีเพ็ญ. 2530) นอกจากนี้ปริมาณความเข้มแสงยังมีผลต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ ถ้าแหล่งน้ำนั้นได้รับแสงสว่างอย่างเพียงพอ พรรณไม้น้ำจะใช้ออกซิเจนที่เกิดจากการสังเคราะห์แสงอย่างเพียงพอเช่นกัน ส่วนใหญ่พรรณไม้น้ำต้องการความเข้มแสงประมาณ 3,000-7,500 ลักซ์ ซึ่งเป็นช่วงความเข้มแสงค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับผัก (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549) สำหรับพรรณไม้น้ำที่เลี้ยงไว้ในตู้แต่ละชนิดต้องการปริมาณหรือความเข้มแสงที่แตกต่างกัน เช่น พรรณไม้น้ำกลุ่มมอส และพืชชายน้ำ เช่น โลบิเลีย เจริญเติบโตดีที่สุดที่ระดับความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ส่วนพืชใต้น้ำ เช่น สาหร่ายคาบอมบา เจริญเติบโตดีที่สุดที่ระดับความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และคณะ. 2548)

2.6.2.7 ปริมาณก๊าซ ก๊าซที่สำคัญคือออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซออกซิเจนเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญเพื่อช่วยในการหายใจในตอนกลางคืนหรือขณะที่ไม่มีแสงสว่างเมื่อขบวนการสังเคราะห์แสงหยุดลง ปริมาณออกซิเจนในน้ำที่มีพรรณไม้น้ำจะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มแสงเป็นสำคัญ ออกซิเจนควรจะมีค่ามากกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะมีผลต่อการดูดซับธาตุอาหารของราก (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549) ส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นั้นจะถูกใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อการเจริญเติบโต ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมสำหรับพรรณไม้น้ำคือ 5-15 มิลลิกรัมต่อลิตร (วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. 2543) แต่พรรณไม้น้ำที่อยู่ใต้น้ำจะมีข้อจำกัดในการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จึงควรเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปในตู้ที่เลี้ยง เพื่อให้พรรณไม้น้ำดำรงชีวิตอยู่ได้ดีในตู้ พรรณไม้น้ำที่เลี้ยงไว้ในตู้แต่ละชนิดต้องการปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่แตกต่างกัน เช่น พรรณไม้น้ำกลุ่มมอส เจริญเติบโตดีที่สุดที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และพืชใต้น้ำ เช่น สาหร่ายคาบอมบา เจริญเติบโตดีที่สุดที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนพืชชายน้ำ เช่น โลบิเลีย เจริญเติบโตดีที่สุดที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และคณะ. 2548)

2.6.2.8 วัสดุปลูก หน้าที่ของวัสดุปลูก คือ เป็นที่อยู่ของรากพรรณไม้น้ำ วัสดุปลูกต้องมีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดี เช่น ไม่ทรุดตัวง่าย อุ้มน้ำได้ดี และไม่เป็นแหล่งสะสมโรค สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ วัสดุที่เหมาะสมสำหรับพรรณไม้น้ำ ได้แก่ ทรายหยาบ รองลงมาคือ ใยหิน (rock wool) เพอร์ไลท์ และฟองน้ำ ตามลำดับ (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549) จากการทดลองของมณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และคณะ (2540) ปลูกต้นดาวกระจายด้วยวัสดุปลูกชนิดต่างๆ ได้แก่ ทรายหยาบขนาด 0.5-1 มิลลิเมตร กรวดเล็กขนาด 1-2 มิลลิเมตร กรวดใหญ่ 3-5 มิลลิเมตร และปะการังขนาด 1-2 มิลลิเมตร พบว่า ต้นดาวกระจายมีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อปลูกในกรวดเล็กขนาด 1-2 มิลลิเมตร

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พรรณไม้น้ำทดลอง

3.1.1 เนื้อเยื่อเริ่มต้นบริเวณตาข้างของอนูเบียสนานาที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ จำนวน 120 ต้น

3.1.2 อนูเบียสนานาอายุ 6 สัปดาห์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 3.1) จำนวน 480 ต้น

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 ชุดเครื่องมือและสารเคมีสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

3.2.1.1 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) รุ่น HI 9025/1

3.2.1.2 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ สำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

3.2.1.3 อาหารเหลวกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog. 1962)

3.2.1.4 สารควบคุมการเจริญเติบโต BA (6-benzyladenine)

3.2.1.5 ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal; AC)

3.2.1.6 กรดเกลือ (HCl)

3.2.1.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3.2.2 อุปกรณ์และสารเคมีในโรงเรือนพรรณไม้น้ำแบบกึ่งปิดขนาด 6x12 เมตร

3.2.2.1 ชุดรางปลูกแบบ DFT ทำมาจากท่อ PVC ขนาด 2 นิ้ว ยาว 3 เมตร จำนวน 12 ราง ด้านบนเจาะช่องปลูกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว จำนวน 20 ช่อง โดยมีระบบหมุนเวียนสารละลายธาตุอาหาร (ภาพที่ 3.2)

3.2.2.2 ถังใส่สารละลายธาตุอาหารขนาด 50 ลิตร จำนวน 12 ถัง

3.2.2.3 ปั๊มน้ำขนาด 2,500 ลิตรต่อชั่วโมง จำนวน 12 ปั๊ม

3.2.2.4 เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity meter)

3.2.2.5 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) รุ่น HI 98150

3.2.2.6 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL2

3.2.2.7 กรดไนตริก (HNO_3) และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)

ภาพที่ 3.1 พรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาอายุ 6 สัปดาห์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ภาพที่ 3.2 ชุดรางปลูกพรรณไม้น้ำไร้ดินแบบ DFT

3.3 วิธีดำเนินการ

3.3.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ AC ที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียสนานา

3.3.1.1 การวางแผนการทดลอง

จัดชุดการทดลองแบบ 4x3 factorial in completely randomized design (CRD) โดยศึกษา 2 ปัจจัย คือ สารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ AC 0, 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร ในอาหารเหลวกึ่งแข็งสูตร MS โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 12 ชุดการทดลองๆ ละ10 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เติม BA และ AC)
ชุดการทดลองที่ 2 เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ชุดการทดลองที่ 3 เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ชุดการทดลองที่ 4 เติม BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ชุดการทดลองที่ 5 เติม AC 2.5 กรัมต่อลิตร
ชุดการทดลองที่ 6 เติม AC 2.5 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ชุดการทดลองที่ 7 เติม AC 2.5 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ชุดการทดลองที่ 8 เติม AC 2.5 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ชุดการทดลองที่ 9 เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร
ชุดการทดลองที่ 10 เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ชุดการทดลองที่ 11 เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ชุดการทดลองที่ 12 เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

โดยทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

3.3.1.2 วิธีการทดลอง

(1) ต้นอนูเบียสนานาที่ผ่านการฟอกแล้ว (ภาคผนวกที่ ก.1.2) นำมาตัดตาข้างเพื่อปลูกบนอาหารเหลวกึ่งแข็งสูตร MS (ตารางผนวกที่ ก.1) เลี้ยงในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงวันละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จึงนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

(2) นำต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อของอนูเบียสนานาอายุ 4 สัปดาห์จากข้อ 1 มาตัดใบและราก ปลูกบนอาหารเหลวกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ AC 0, 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร ตามชุดการทดลองที่กำหนดขวดละ 1 ต้น เลี้ยงในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงวันละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

3.3.1.3 การเก็บข้อมูล

(1) นับจำนวนต้น และจำนวนใบ ระหว่างการทดลองทุกๆ 2 สัปดาห์

(2) บันทึกจำนวนราก ความยาวราก และความสูงต้น เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

3.3.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบการปลูกพืชไร้ดินแบบ DFT

3.3.2.1 การวางแผนการทดลอง

จัดชุดการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD)โดยมีค่า EC ของสารละลายธาตุอาหารเป็นปัจจัยในการศึกษา แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ระดับค่า EC 0.5 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร

ชุดการทดลองที่ 2 ระดับค่า EC 1.0 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร

ชุดการทดลองที่ 3 ระดับค่า EC 1.5 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร

ชุดการทดลองที่ 4 ระดับค่า EC 2.0 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร

โดยทำการทดลองเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์

3.3.2.2 วิธีการทดลอง

(1) นำต้นอนูเบียสนานาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุประมาณ 6 สัปดาห์ จำนวน 240 ต้น แยกต้นเดี่ยวออกล้างให้สะอาด ตัดรากและใบออกบางส่วนเพื่อเร่งให้รากใหม่งอกเร็วขึ้น พันด้วย rock wool ใส่ลงถ้วยปลูกนำไปอนุบาลในกระบะที่คลุมด้วยพลาสติกใส เพื่อควบคุมความชื้น หลังจากนั้นเปิดพลาสติกคลุมออกเมื่อพรรณไม้น้ำสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความชื้นปกติ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

(2) คัดเลือกต้นอนูเบียสนานาจากข้อ 1 ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน มาใช้ทดลองเลี้ยงในระบบ DFT ที่มีสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 (ตารางภาคผนวกที่ ข.1) ปรับค่า EC ตามชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น ในระหว่างการทดลองจะควบคุมค่า pH 6.5-7.0 โดยใช้กรดไนตริก 10 เปอร์เซ็นต์ และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีการถ่ายสารละลายธาตุอาหารทิ้งแต่เติมน้ำให้ได้ตามที่กำหนด ปรับค่า EC ของสารละลายธาตุอาหาร ให้ได้ตามที่กำหนดทุกๆ สัปดาห์

3.3.2.3 การเก็บข้อมูล

(1) บันทึกผลการทดลอง โดยชั่งน้ำหนัก วัดความหนาใบ ก่อนและสิ้นสุดการทดลอง ส่วนจำนวนต้นอ่อน จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ ความสูงต้น บันทึกก่อนและระหว่างการทดลองทุกๆ 2 สัปดาห์ โดยการสุ่มตัวอย่างซ้ำละ 5 ต้น

(2) วิธีการเก็บข้อมูล

(2.1) ความหนาใบ ใช้ vernier caliper วัดบริเวณที่หนาที่สุดของใบ

(2.2) ความกว้างใบ ใช้ไม้บรรทัดวัดบริเวณที่กว้างที่สุดของใบ

(2.3) ความยาวใบ ใช้ไม้บรรทัดวัดจากบริเวณโคนใบจนถึงปลายใบ

(2.4) ความสูงของต้น วัดจากบริเวณโคนต้นจนถึงปลายของใบที่ยาวที่สุด สำหรับความหนาใบ ความกว้างใบ และความยาวใบ จะใช้ใบที่ 3 นับจากด้านในของต้น เป็นตัวแทนของการบันทึกผลการทดลอง

3.3.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับค่า pH ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบการปลูกไร้ดินแบบ DFT

3.3.3.1 การวางแผนการทดลอง

จัดชุดการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยมีค่า pH ของสารละลายธาตุอาหารเป็นปัจจัยในการศึกษา แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ระดับค่า pH 5.5-6.0

ชุดการทดลองที่ 2 ระดับค่า pH 6.5-7.0

ชุดการทดลองที่ 3 ระดับค่า pH 7.5-8.0

โดยทำการทดลองเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์

3.3.3.2 วิธีการทดลอง

(1) นำต้นอนูเบียสนานาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุประมาณ 6 สัปดาห์ จำนวน 240 ต้น แยกต้นเดี่ยวออกล้างให้สะอาด ตัดรากและใบออกบางส่วนเพื่อเร่งให้รากใหม่งอกเร็วขึ้น พันด้วย rock wool ใส่ลงถ้วยปลูกนำไปอนุบาลในกระบะที่คลุมด้วยพลาสติกใส เพื่อควบคุมความชื้น หลังจากนั้นเปิดพลาสติกคลุมออกเมื่อพรรณไม้น้ำสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความชื้นปกติ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

(2) คัดเลือกต้นอนูเบียสนานาจากข้อ 1 ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน มาใช้ทดลองเลี้ยงในระบบ DFT ที่มีค่า EC ของสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองที่ 2 ปรับค่า pH ตามชุดการทดลองๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น โดยใช้กรดไนตริก 10 เปอร์เซ็นต์ และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่า pH ให้ได้ตามที่กำหนดทุกๆวัน ตลอดการทดลองไม่มีการถ่ายสารละลายธาตุอาหารทิ้งแต่เติมน้ำให้ได้ตามที่กำหนด

3.3.3.3 การเก็บข้อมูล เหมือนกับข้อ 3.3.2.3

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.4.1 นำข้อมูลจากการทดลองที่ 1 ได้แก่ จำนวนต้น จำนวนใบ จำนวนราก ความยาวราก และความสูงต้นของพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานามาวิเคราะห์โดยใช้ general linear model

3.4.2 นำข้อมูลจากการทดลองที่ 2 และ 3 ได้แก่ จำนวนต้น ความสูงต้น จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ น้ำหนักสด และความหนาใบของพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานามาวิเคราะห์

ความแปรปรวนของข้อมูล (analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองตามวิธี duncan's new multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

3.5 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำและโรงเรือนพรรณไม้น้ำ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.6 ระยะเวลาในการทำวิจัย

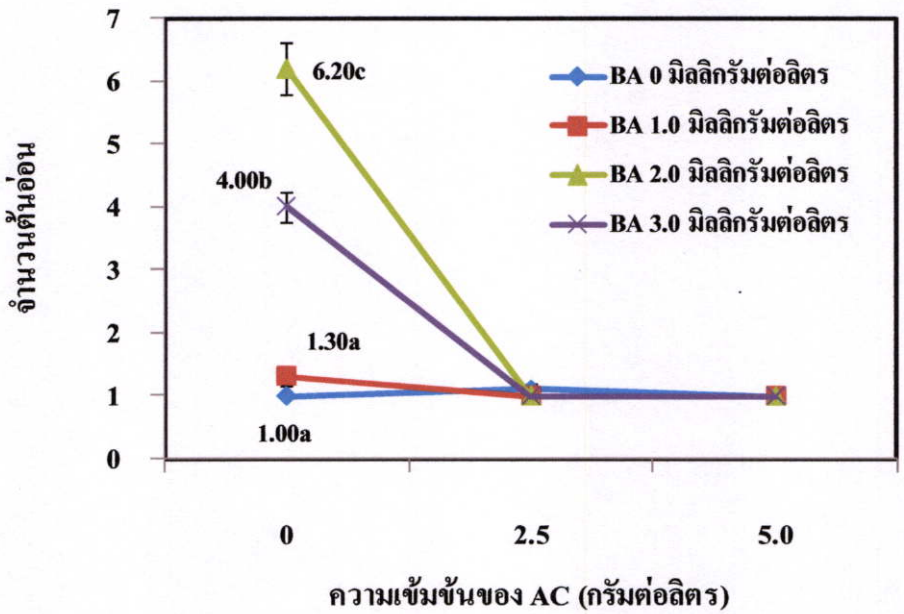
เดือนมีนาคม 2551 – เดือนสิงหาคม 2552

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

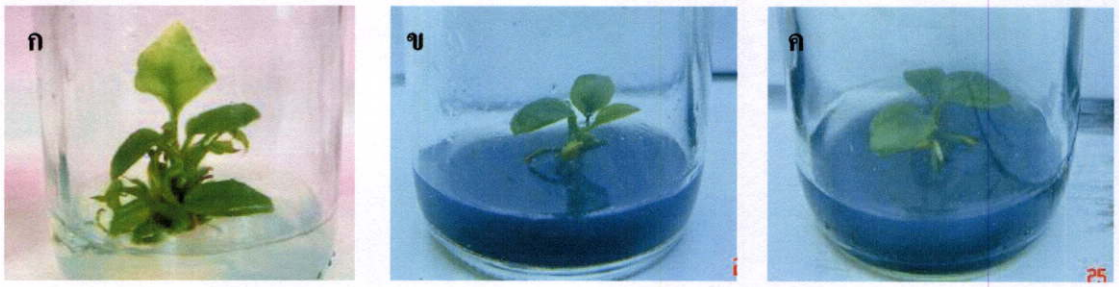
4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ AC ที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียสนานา

4.1.1 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนของอนูเบียสนานา

จากการทดลองนำต้นอนูเบียสนานามาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ AC 0, 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ AC มีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัย (ตารางภาคผนวกที่ ค.1 และภาพที่ 4.1) กล่าวคือ การเติม BA ร่วมกับ AC ในอาหารสูตร MS มีอิทธิพลต่อการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนของอนูเบียสนานาอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยชุดการทดลองที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้สูงสุดเฉลี่ย 6.20±0.40 ต้น (ภาพที่ 4.2ก) และชุดการทดลองที่เติม AC ทุกความเข้มข้นจะชักนำให้เกิดต้นอ่อนลดลง



ภาพที่ 4.1 ผลของ BA และ AC ต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนของอนูเบียสนานา เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์; อักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.2 ต้นอ่อนของอนูเบียสนานาที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ (ก) เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + AC 2.5 กรัมต่อลิตร (ค) เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + AC 5.0 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ BA พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนสูงสุด รองลงมาคือ 3.0, 1.0 และ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีต้นอ่อนเฉลี่ย 2.73±0.75, 2.00±0.43, 1.10±0.08 และ 1.03±0.05 ต้น ตามลำดับ ซึ่งจำนวนต้นอ่อนของอนูเบียสนานาในชุดการทดลองที่เติม BA 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนต้นอ่อนมากกว่าชุดการทดลองที่เติม BA 0 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ($P<0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ AC ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ชุดการทดลองที่ไม่เติม AC ชักนำให้เกิดต้นอ่อนสูงสุด รองลงมาคือ 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร โดยมีต้นอ่อนเฉลี่ย 3.13±0.66, 1.03±0.04 และ 1.00±0.00 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ซึ่งจำนวนต้นอ่อนของอนูเบียสนานาในชุดการทดลองที่เติม AC 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร มีจำนวนต้นอ่อนน้อยกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติม AC ($P<0.05$)

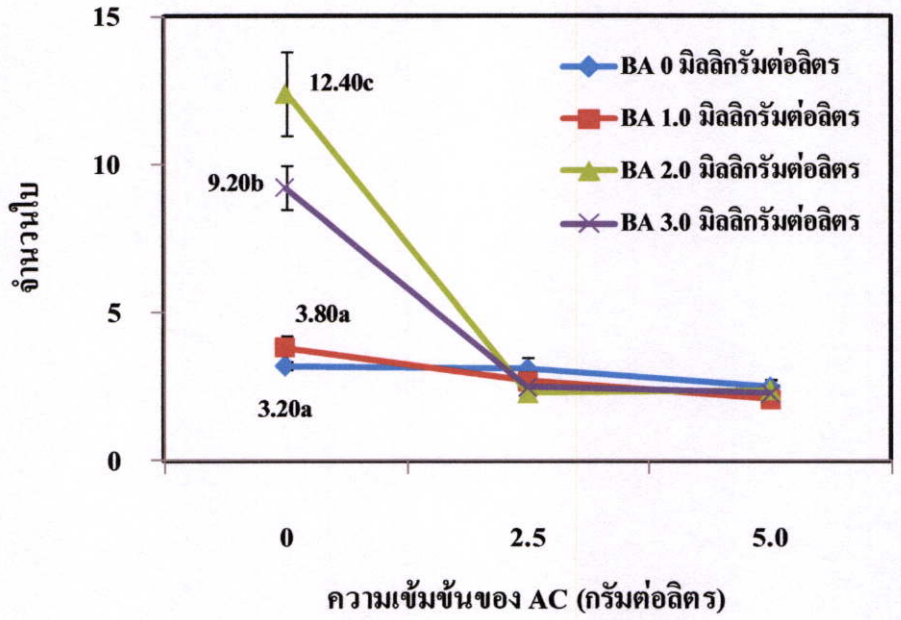
ตารางที่ 4.1 จำนวนต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC ความเข้มข้นต่างกัน

BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	AC (กรัมต่อลิตร)			
	0	2.5	5.0	Mean±SE
0	1.00±0.00	1.10±0.10	1.00±0.00	1.03±0.05[a]
1.0	1.30±0.15	1.00±0.00	1.00±0.00	1.10±0.08[a]
2.0	6.20±0.40	1.00±0.00	1.00±0.00	2.73±0.75[c]
3.0	4.00±0.25	1.00±0.00	1.00±0.00	2.00±0.43[b]
Mean±SE	3.13±0.66[b]	1.03±0.04[a]	1.00±0.00[a]	

*ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.1.2 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อการชักนำให้เกิดใบของอนูเบียสนานา

จากการทดลองนำต้นอนูเบียสนานามาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ AC 0, 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ AC มีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัย (ตารางภาคผนวกที่ ค.2 และภาพที่ 4.3) กล่าวคือ การเติม BA ร่วมกับ AC ในอาหารสูตร MS มีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดใบใหม่ของอนูเบียสนานาอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยชุดการทดลองที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้เกิดใบใหม่สูงสุดเฉลี่ย 12.40±1.43ใบต่อต้น และชุดการทดลองที่เติม AC ทุกความเข้มข้นจะชักนำให้เกิดใบใหม่ลดลง



ภาพที่ 4.3 ผลของ BA และ AC ต่อการชักนำให้เกิดใบของอนูเบียสนานา เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์; อักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ BA พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการชักนำให้เกิดใบใหม่สูงสุด รองลงมาคือ 3.0, 0 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย 5.70±1.57, 4.67±1.02, 2.93±0.25 และ 2.87±0.32 ใบต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งจำนวนใบของอนูเบียสนานาในชุดการทดลองที่เติม BA 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบมากกว่าชุดการทดลองที่เติม BA 0 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ($P<0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ AC ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ชุดการทดลองที่ไม่เติม AC ชักนำให้เกิดใบใหม่สูงสุด รองลงมาคือ 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย 7.15±1.34, 2.65±0.22 และ 2.33±0.17 ใบต่อต้น ตามลำดับ

(ตารางที่ 4.2) ซึ่งชุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้น 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร จำนวนใบมากกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติม AC ($P<0.05$)

ตารางที่ 4.2 จำนวนใบในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC ความเข้มข้นต่างกัน

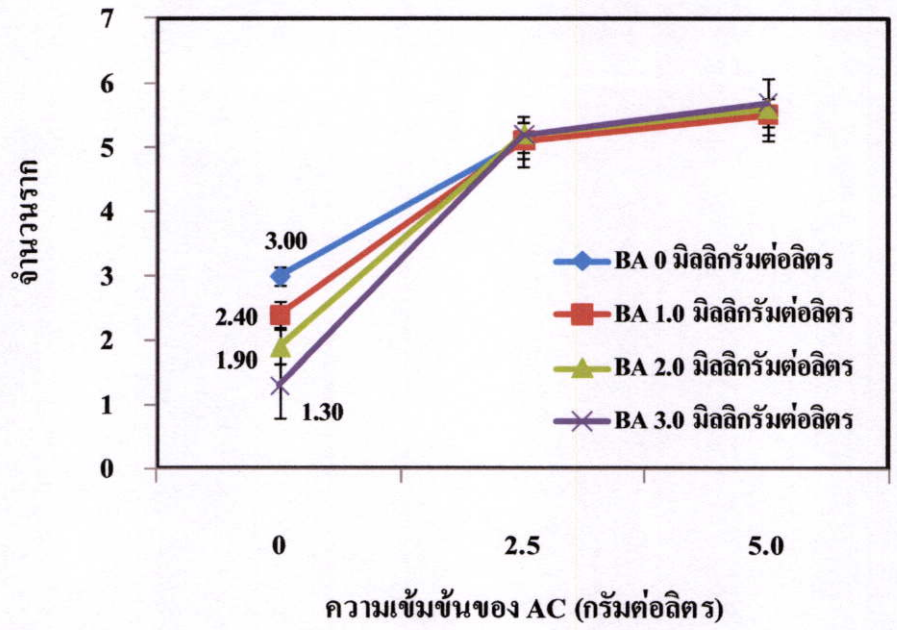
BA	AC (กรัมต่อลิตร)			
(มิลลิกรัมต่อลิตร)	0	2.5	5.0	Mean±SE
0	3.20±0.13	3.10±0.37	2.50±0.22	2.93±0.25[a]
1.0	3.80±0.44	2.70±0.15	2.10±0.17	2.86±0.32[a]
2.0	12.40±1.43	2.30±0.15	2.40±0.22	5.70±1.57[c]
3.0	9.20±0.74	2.50±0.16	2.30±0.15	4.67±1.02[b]
Mean±SE	7.15±1.34[b]	2.65±0.22[a]	2.33±0.17[a]	

*ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.1.3 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของอนูเบียสนานา

จากการทดลองนำต้นอนูเบียสนานามาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ AC 0, 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ AC ไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัย (ตารางภาคผนวกที่ ค.3 และภาพที่ 4.4) กล่าวคือ ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการชักนำให้เพิ่มจำนวนรากของอนูเบียสนานาอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) โดยชุดการทดลองที่เติม BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ AC 5.0 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากสูงสุดเฉลี่ย 5.70±0.38 รากต่อต้น และจำนวนรากมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ AC

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ BA พบว่า ชุดการทดลองที่ไม่เติม BA มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากสูงสุด รองลงมาคือ 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนรากเฉลี่ย 4.53±0.39, 4.33±0.47, 4.23±0.49 และ 4.07±0.49 รากต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ AC ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ชุดการทดลองที่เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุด รองลงมาคือ 2.5 และ 0 กรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนรากเฉลี่ย 5.60±0.65, 5.15±0.56 และ 2.15±0.36 รากต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ซึ่งชุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้น 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติม AC ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.4 ผลของ BA และ AC ต่อการชักนำให้เกิดรากของอนูเบียสนานา เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ตารางที่ 4.3 จำนวนรากในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC ความเข้มข้นต่างกัน

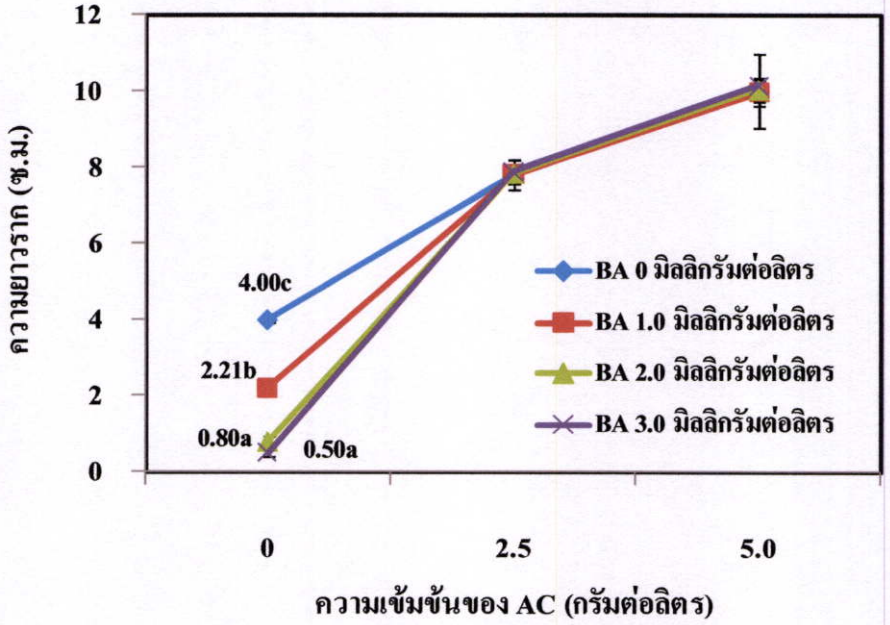
BA	AC (กรัมต่อลิตร)			
(มิลลิกรัมต่อลิตร)	0	2.5	5.0	Mean±SE
0	3.00±0.13	5.10±0.28	5.50±0.28	4.50±0.39[a]
1.0	2.40±0.02	5.10±0.39	5.50±0.28	4.33±0.47[a]
2.0	1.90±0.28	5.20±0.29	5.60±0.49	4.23±0.49[a]
3.0	1.30±0.52	5.20±0.29	5.70±0.38	4.07±0.49[a]
Mean±SE	2.15±0.36[a]	5.15±0.56[b]	5.60±0.65[b]	

*ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.1.4 ผลของ BA และ AC ที่มีต่อความยาวรากของอนูเบียสนานา

จากการทดลองนำต้นอนูเบียสนานามาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ AC 0, 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ AC มีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัย (ตารางภาคผนวกที่ ค.4 และภาพที่ 4.5) กล่าวคือการเติม BA ร่วมกับ AC ในอาหารสูตร MS มีอิทธิพลต่อความยาวของรากอนูเบียสนานาอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยชุดการทดลองที่เติม BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ AC 5.0 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้รากมี

ความยาวสูงสุดเฉลี่ย 10.15±0.20 เซนติเมตรต่อต้น และความยาวของรากมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ AC (ภาพที่ 4.6)



ภาพที่ 4.5 ผลของ BA และ AC ต่อความยาวรากอนูเบียสนานา เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์; อักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ภาพที่ 4.6 ความยาวรากของอนูเบียสนานาที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ (ก) ไม่เติม BA และ AC (ข) เติม AC 2.5 กรัมต่อลิตร (ค) เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ BA พบว่า ชุดการทดลองที่ไม่เติม BA มีผลต่อการชักนำให้รากมีความยาวสูงสุด รองลงมาคือ 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีความยาวรากเฉลี่ย 7.28±0.74, 6.65±1.00, 6.23±1.18 และ 6.18±1.22 เซนติเมตรต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลองที่เติม BA 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวรากน้อยกว่าชุดการทดลองที่เติม BA 0 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (P<0.05) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ AC ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า

ชุดการทดลองที่เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้รากมีความยาวสูงสุด รองลงมาคือ 2.5 และ 0 กรัมต่อลิตร โดยมีความยาวรากเฉลี่ย 10.04±0.25, 7.84±0.29 และ 1.88±0.42 เซนติเมตรต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) ซึ่งทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 4.4 ความยาวรากเฉลี่ย (ซ.ม.) ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC ความเข้มข้นต่างกัน

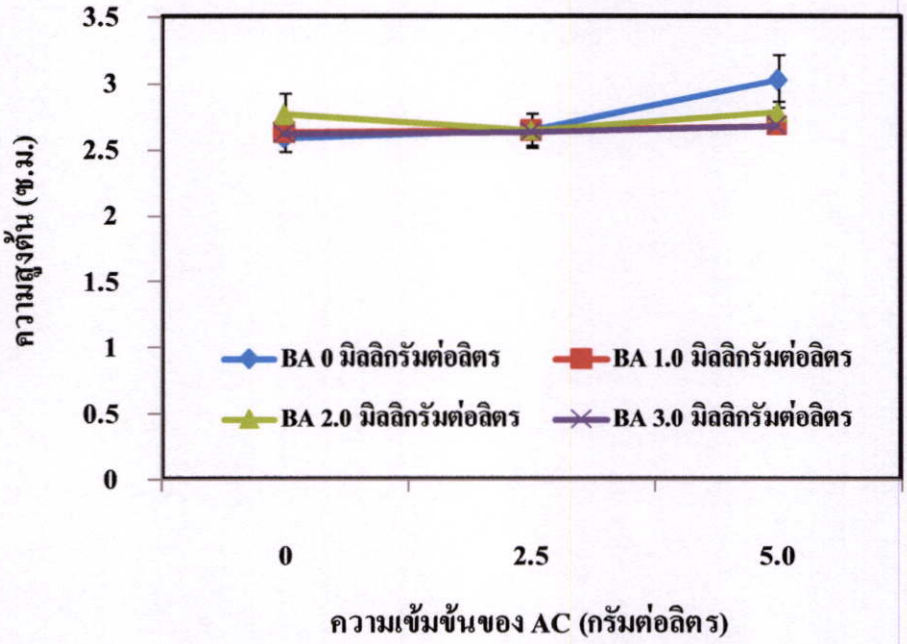
BA	AC (กรัมต่อลิตร)			
(มิลลิกรัมต่อลิตร)	0	2.5	5.0	Mean±SE
0	4.00±0.08	7.81±0.25	10.02±0.97	7.28±0.74[c]
1.0	2.21±0.18	7.80±0.40	9.95±0.36	6.65±1.00[b]
2.0	0.80±0.10	7.84±0.25	10.05±0.31	6.23±1.18[ab]
3.0	0.50±0.08	7.90±0.28	10.15±0.20	6.18±1.22[a]
Mean±SE	1.88±0.42[a]	7.84±0.29[b]	10.04±0.25[c]	

*ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

4.1.5 ผลของ BA และ AC ที่มีผลต่อความสูงต้นของอนูเบียสนานา

จากการทดลองนำต้นอนูเบียสนานามาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ AC 0, 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ AC ไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัย (ตารางภาคผนวกที่ ค.5 และภาพที่ 4.7) กล่าวคือไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อความสูงของต้นอนูเบียสนานาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยชุดการทดลองที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ AC 5.0 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ความสูงของต้นสูงสุดเฉลี่ย 2.78±0.09 เซนติเมตรต่อต้น และความสูงของต้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ AC

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ BA พบว่า ชุดการทดลองที่ไม่เติม BA มีผลต่อการชักนำให้ความสูงต้นสูงสุด รองลงมาคือ 2.0, 1.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีความสูงต้นเฉลี่ย 2.75±0.15, 2.73±0.13, 2.64±0.13 และ 2.63±0.11 เซนติเมตรต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ AC ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ชุดการทดลองที่เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ความสูงต้นสูงสุด รองลงมาคือ 2.5 และ 0 กรัมต่อลิตร โดยมีความสูงต้นเฉลี่ย 2.79±0.15, 2.64±0.13 และ 2.64±0.11 เซนติเมตรต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) ซึ่งชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่ 4.7 ผลของ BA และ AC ต่อความสูงของต้นอนูเบียสนานา เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ตารางที่ 4.5 ความสูงต้นเฉลี่ย (ซ.ม.)ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC ความเข้มข้นต่างกัน

BA	AC (กรัมต่อลิตร)			
(มิลลิกรัมต่อลิตร)	0	2.5	5.0	Mean±SE
0	2.58±0.09	2.64±0.13	3.02±0.20	2.75±0.15
1.0	2.62±0.15	2.64±0.11	2.68±0.15	2.64±0.13
2.0	2.76±0.17	2.65±0.12	2.78±0.09	2.73±0.13
3.0	2.60±0.11	2.63±0.08	2.68±0.14	2.63±0.11
Mean±SE	2.64±0.11	2.64±0.13	2.79±0.15	

*ข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

การศึกษาผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ AC ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นและราก จากชิ้นเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของอนูเบียสนานาในอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ AC มีอิทธิพลร่วมกันในการชักนำให้เกิดต้น ใบ และความยาวราก กล่าวคืออาหารสูตร MS ที่มีการเติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการเพิ่มจำนวนต้น และใบ มากกว่าอาหารในชุดการทดลองอื่น จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงให้เห็นว่า การใช้ BA หรือสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินเพียงอย่างเดียวเพียงพอต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียสนานา และสามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเริ่มต้นส่วนตาข้าง

สามารถพัฒนาไปเป็นต้นอ่อน และแตกใบมากที่สุด เนื่องจากไซโตไคนินเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีหน้าที่กระตุ้นการแบ่งเซลล์ จึงทำให้เนื้อเยื่อบริเวณใบและต้นของอนูเบียสนานามีการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามถ้าใช้ไซโตไคนินในปริมาณที่มากเกินระดับที่เหมาะสมจะมีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์ (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2538) สอดคล้องกับกาญจนรี พงษ์ฉวี และณฐกร ประดิษฐ์สรรพ์ (2547) ทำทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอดของอนูเบียสนานาในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0, 0.4, 0.9, 1.8 และ 3.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า อนูเบียสนานาในอาหารที่เติม BA 1.8 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) คือ 6.8 ต้น และมีรากเกิดขึ้น 2.9 ราก เช่นเดียวกับมัลลิกา มิตรน้อย (2550) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงอเมซอนแอฟริกาในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดของอเมซอนแอฟริกาที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้ชิ้นเนื้อเกิดต้นอ่อนในปริมาณมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ 9 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ส่วนการเพาะเลี้ยงอะโกลนีม่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดของอะโกลนีม่าสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็วในปริมาณมากอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในอาหารที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และมัลลิกา มิตรน้อย. 2548)

จากผลทดลอง พบว่าการเติม AC ลงในอาหารสูตร MS ทุกระดับความเข้มข้นมีบทบาทกับรากโดยตรง คือ กระตุ้นให้เนื้อเยื่อเริ่มต้นส่วนตาข้างมีจำนวนรากและความยาวรากเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน สอดคล้องกับพรรณวดี มุศิริ (2550) ทำทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียสคอนเจนซิสในอาหารสูตร MS ที่เติม AC 0, 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร พบว่าอาหารที่เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนรากมากที่สุด 25.8 ราก เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่เติม AC มีจำนวนรากเกิดขึ้นน้อยที่สุด 10 ราก เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงต้นข้าวโพดด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม AC 5.0 กรัมต่อลิตร สามารถทำให้รากยาวมากขึ้น 53.77 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมให้รากยาว 15 มิลลิเมตร (Mohamed-Yasseen. 2001) ทั้งนี้เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน หรือ IAA พรรณไม้น้ำสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เองที่บริเวณเนื้อเยื่อเจริญ เช่น ตา ปลายยอด และปลายราก ในสภาวะที่มีดออกซินจะเคลื่อนที่จากบริเวณปลายยอดลงมาสู่ด้านล่างของต้น ส่งผลให้เซลล์บริเวณปลายรากเกิดการแบ่งตัวและขยายตัวมากขึ้น (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2538) ประกอบกับการเติม AC ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถรักษาค่า pH ของอาหารให้คงที่หลังจากผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ จึงส่งผลให้พรรณไม้น้ำดูดซับ IAA ไปใช้ได้มาก (Arthur *et al.* 2006) ในทางตรงกันข้าม การเติม AC ทุกระดับความเข้มข้น ร่วมกับ BA ในอาหารสูตร MS ทำให้จำนวนต้นอ่อนลดลง เพราะว่าการทำงานของ AC กับไซโตไคนินจะเป็นปฏิปักษ์

ต่อกัน (antagonizes cytokinin activity) จึงทำให้ BA ที่เติมในอาหารถูกดูดซับไว้ (Takayama and Misawa. 1980) เนื่องจาก BA หรือไซโตไคนิน มีโครงสร้างเป็นสารประกอบอโรมาติกเช่นเดียวกับสารประกอบฟีนอล ซึ่งสารดังกล่าวเป็นสารทุติยภูมิของพืช (secondary metabolite) จึงทำให้ AC สามารถดูดซับได้ทั้ง BA และสารประกอบฟีนอล โดยประสิทธิภาพในการดูดซับขึ้นอยู่กับโครงสร้างรูพรุน หมู่ฟังก์ชัน และความมีขั้ว (Dabrowski *et al.* 2005) ลักษณะการดูดซับเป็นการจับกันอย่างหลวมๆ ด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์ (van der waals) ระหว่างสารอินทรีย์และคาร์บอนที่บริเวณผิวของ AC สำหรับปฏิกิริยาระหว่าง AC กับ BA ในกระบวนการจะมีการให้และรับอิเล็กตรอน โดยหมู่คาร์บอนิลของ AC ซึ่งทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอน และวงแหวนอโรมาติกของ BA เป็นตัวรับอิเล็กตรอน ดังนั้น BA ในอาหารสูตร MS จึงไม่มีบทบาทต่อการเพิ่มจำนวนต้นของอนูเบียสนานา เนื่องจาก BA สร้างพันธะที่หนาแน่นกับคาร์บอนบริเวณผิวของ AC (Girods *et al.* 2009) สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอมบริโอของต้นสนลูกผสมในอาหารกึ่งแข็ง 3 สูตร ได้แก่ อาหารสูตร MS (ชุดควบคุม) อาหารสูตร MS + 2,4-D และอาหารสูตร MS + AC 1 เปอร์เซ็นต์ หลังจาก 1 สัปดาห์ นำเอมบริโอมาวิเคราะห์หาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ ด้วยวิธี ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) พบว่า AC มีผลทำให้ 2,4-D ลดลง โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ในเนื้อเยื่อเอมบริโอมีค่าน้อยที่สุด เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS + AC 1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคืออาหารสูตร MS (ชุดควบคุม) และอาหารสูตร MS + 2,4-D โดยมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.0004, 0.009 และ 10,343 นาโนโมลาร์ ตามลำดับ

4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบการปลูกพืชไร้ดินแบบ DFT

4.2.1 ระดับของค่า EC ต่อจำนวนต้นของอนูเบียสนานา

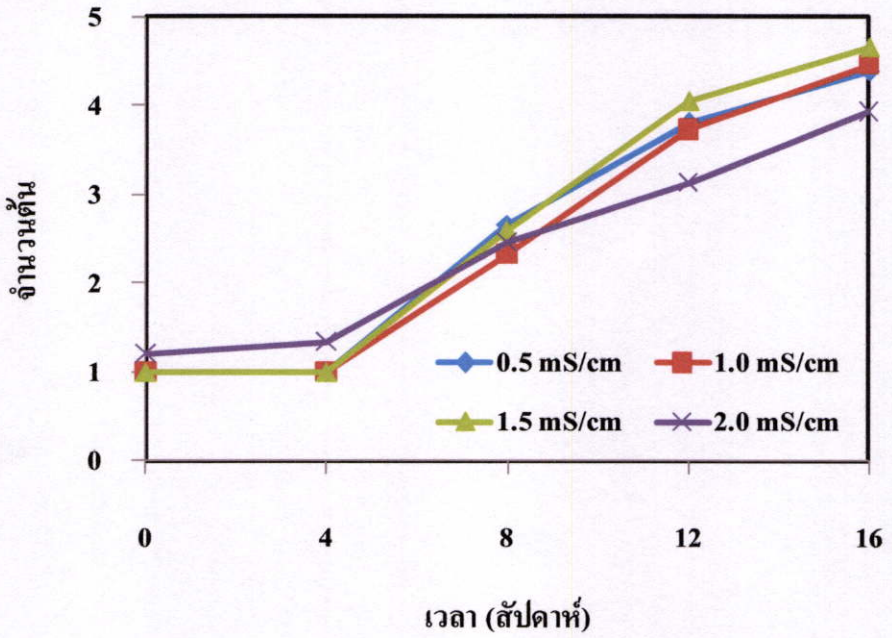
จากการทดลองศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mS/cm เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีจำนวนต้นมากที่สุด รองลงมาคือ 1.0, 0.5 และ 2.0 mS/cm โดยมีจำนวนต้นเฉลี่ย 4.66±0.11, 4.46±0.64, 4.40±0.34 และ 3.93±0.419 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.8) เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า จำนวนต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางที่ 4.6 จำนวนต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน

ค่าการนำไฟฟ้า	เวลา (สัปดาห์)				
(mS/cm)	0	4	8	12	16
0.5	1.00±0.00	1.00±0.00[a]	2.66±0.29	3.80±0.23	4.40±0.34
1.0	1.00±0.00	1.00±0.00[a]	2.33±0.46	3.73±0.29	4.46±0.64
1.5	1.00±0.00	1.00±0.00[a]	2.60±0.11	4.06±0.33	4.66±0.11
2.0	1.20±0.10	1.33±0.15[b]	2.46±0.48	3.13±0.46	3.93±0.41
	ns	*	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.8 จำนวนต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์

4.2.2 ระดับของค่า EC ต่อความสูงต้นของอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mS/cm เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีความสูงต้นมากที่สุด รองลงมาคือ 1.0, 0.5 และ 2.0 mS/cm โดยมีความสูงต้นเฉลี่ย 10.05±0.20, 9.72±0.18, 9.48±0.08 และ 8.68±0.41

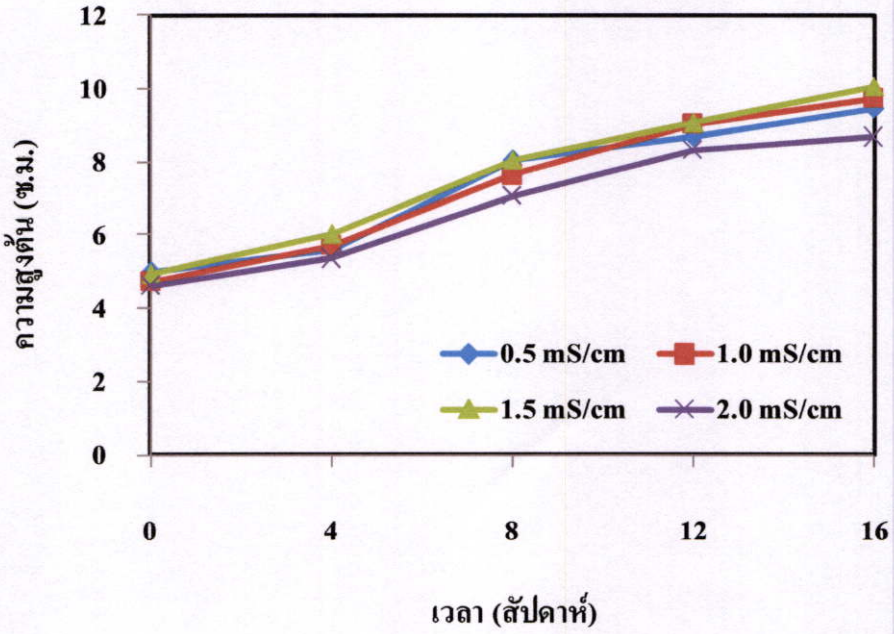
เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.0 และ1.5 mS/cm มีความสูงต้นเฉลี่ยมากกว่าชุดการทดลองที่มีค่า EC 2.0 mS/cm ($P<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับชุดการทดลองที่มีค่า EC 0.5 mS/cm (ตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.9)

ตารางที่ 4.7 ความสูงต้นเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน

ค่าการนำไฟฟ้า	เวลา (สัปดาห์)				
(mS/cm)	0	4	8	12	16
0.5	4.98±0.13	5.59±0.15^{ab}	8.02±0.29^{b}	8.70±0.26	9.48±0.08^{ab}
1.0	4.71±0.14	5.71±0.16^{ab}	7.64±0.17^{ab}	9.02±0.32	9.72±0.18^{b}
1.5	4.94±0.18	6.04±0.18^{b}	8.05±0.20^{b}	9.10±0.59	10.05±0.20^{b}
2.0	4.63±0.19	5.36±0.17^{a}	7.08±0.33^{a}	8.32±0.53	8.68±0.41^{a}
	ns	*	*	ns	*

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.9 ความสูงต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์

4.2.3 ระดับของค่า EC ต่อจำนวนใบของอนูเบียสนานา

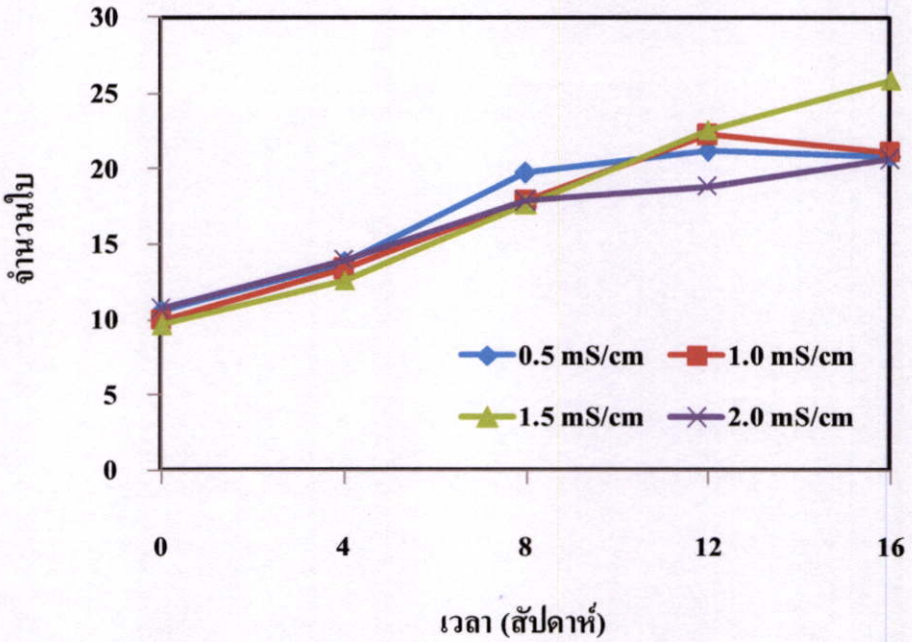
จากการทดลองศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mS/cm เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีจำนวนใบมากที่สุด รองลงมาคือ 1.0, 0.5 และ 2.0 mS/cm โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย 25.93±0.90, 21.13±0.17, 20.86±1.00 และ 20.66±4.04 ใบต่อต้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า EC 0.5 และ 2.0 mS/cm มีจำนวนใบเฉลี่ยน้อยกว่าชุดการการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm ($P<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.0 mS/cm (ตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.10)

ตารางที่ 4.8 จำนวนใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน

ค่าการนำไฟฟ้า	เวลา (สัปดาห์)				
(mS/cm)	0	4	8	12	16
0.5	10.60±0.43	13.73±0.49	19.73±0.49	21.20±0.90^{a}	20.86±1.00^{a}
1.0	9.93±0.47	13.33±0.80	17.93±0.66	22.26±0.92^{a}	21.13±0.17^{ab}
1.5	9.60±0.43	12.60±0.57	17.65±0.57	22.60±0.87^{ab}	25.93±0.90^{b}
2.0	10.66±0.18	13.90±0.56	17.86±0.25	18.86±0.02^{a}	20.66±4.04^{a}
	ns	ns	ns	*	*

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.10 จำนวนใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์

4.2.4 ระดับของค่า EC ต่อความกว้างใบของอนูเบียสนานา

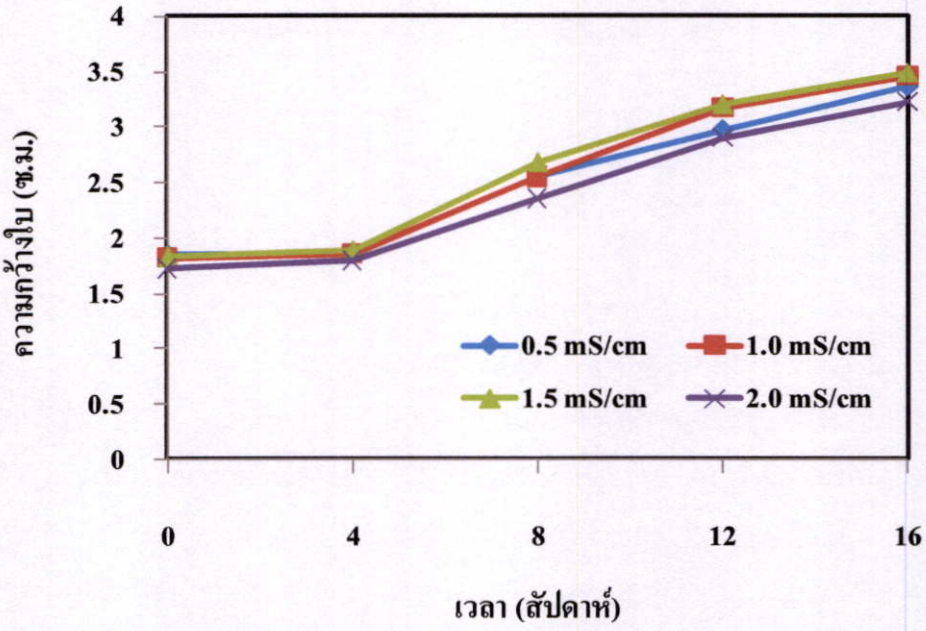
จากการทดลองศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mS/cm เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีความกว้างใบมากที่สุด รองลงมาคือ 1.0, 0.5 และ 2.0 mS/cm โดยมีความกว้างใบเฉลี่ย 3.49±0.12, 3.46±0.17, 3.37±0.02 และ 3.22±0.10 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.11) เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ความกว้างใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางที่ 4.9 ความกว้างใบเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน

ค่าการนำไฟฟ้า	เวลา (สัปดาห์)				
(mS/cm)	0	4	8	12	16
0.5	1.86±0.03	1.85±0.04	2.56±0.08^{ab}	2.96±0.04	3.37±0.02
1.0	1.82±0.04	1.86±0.05	2.55±0.08^{ab}	3.17±0.14	3.46±0.17
1.5	1.83±0.05	1.89±0.10	2.68±0.09^{b}	3.21±0.06	3.49±0.12
2.0	1.72±0.07	1.79±0.09	2.35±0.07^{a}	2.90±0.11	3.22±0.10
	ns	ns	*	ns	ns

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.11 ความกว้างใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มี EC ต่างกัน ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์

4.2.5 ระดับของค่า EC ต่อความยาวใบของอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mS/cm เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีความยาวใบมากที่สุด รองลงมาคือ 1.0, 0.5

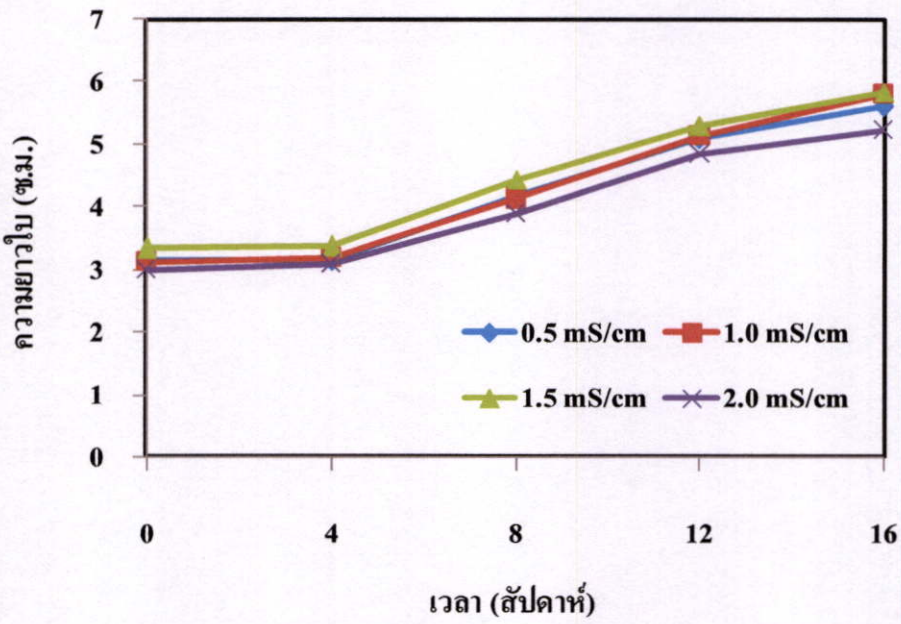
และ 2.0 mS/cm โดยมีความยาวใบเฉลี่ย 5.84±0.12, 5.80±0.02, 5.60±0.09 และ 5.24±0.54 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10 และภาพที่ 4.12) เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ความยาวใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.10 ความยาวใบเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน

ค่าการนำไฟฟ้า	เวลา (สัปดาห์)				
(mS/cm)	0	4	8	12	16
0.5	3.16±0.06	3.14±0.07	4.16±0.12^{ab}	5.09±0.19	5.60±0.09
1.0	3.12±0.09	3.18±0.09	4.13±0.09^{ab}	5.14±0.11	5.80±0.02
1.5	3.33±0.14	3.37±0.11	4.44±0.10^{b}	5.30±0.20	5.84±0.12
2.0	3.00±0.15	3.10±0.13	3.90±0.20^{a}	4.85±0.27	5.24±0.54
	ns	ns	*	ns	ns

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.12 ความยาวใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์

4.2.6 ระดับของค่า EC ต่อน้ำหนักสดของอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mS/cm เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาคือ 1.0, 0.5 และ 2.0 mS/cm โดยมีน้ำหนักสิ้นสุดเฉลี่ย 39.94±3.10, 38.90±3.02, 37.88±1.63 และ 35.91±1.20 กรัมต่อถ้วยปลูก ตามลำดับ ซึ่งทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาคือ 1.0, 0.5 และ 2.0 mS/cm โดยมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 9.44±0.82, 8.40±1.71, 7.38±0.37 และ 5.41±0.77 กรัมต่อถ้วยปลูก ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดการทดลองที่มีค่า EC 0.5 และ 1.0 mS/cm ($P>0.05$) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองที่มีค่า EC 2.0 mS/cm (ตารางที่ 4.11)

ตารางที่ 4.11 น้ำหนักเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน

ค่าการนำไฟฟ้า (mS/cm)	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัมต่อถ้วยปลูก)	น้ำหนักสิ้นสุด (กรัมต่อถ้วยปลูก)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อถ้วยปลูก)
0.5	30.50±1.66	37.88±1.63	7.38±0.37^{ab}
1.0	30.50±1.31	38.90±3.02	8.40±1.71^{ab}
1.5	30.50±2.64	39.94±3.10	9.44±0.82^{b}
2.0	30.50±0.49	35.91±1.20	5.41±0.77^{a}
	ns	ns	*

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.2.7 ระดับของค่า EC ต่อความหนาใบของอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า EC ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mS/cm เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาคือ 1.0, 0.5 และ 2.0 mS/cm โดยมีความหนาใบสิ้นสุดเฉลี่ย 0.787±0.052, 0.731±0.044, 0.721±0.056 และ 0.511±0.095 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีความหนาใบมากกว่าชุดการทดลองที่มีค่า EC 0.5 และ1.0 mS/cm ($P>0.05$) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองที่มีค่า EC 2.0 mS/cm และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ

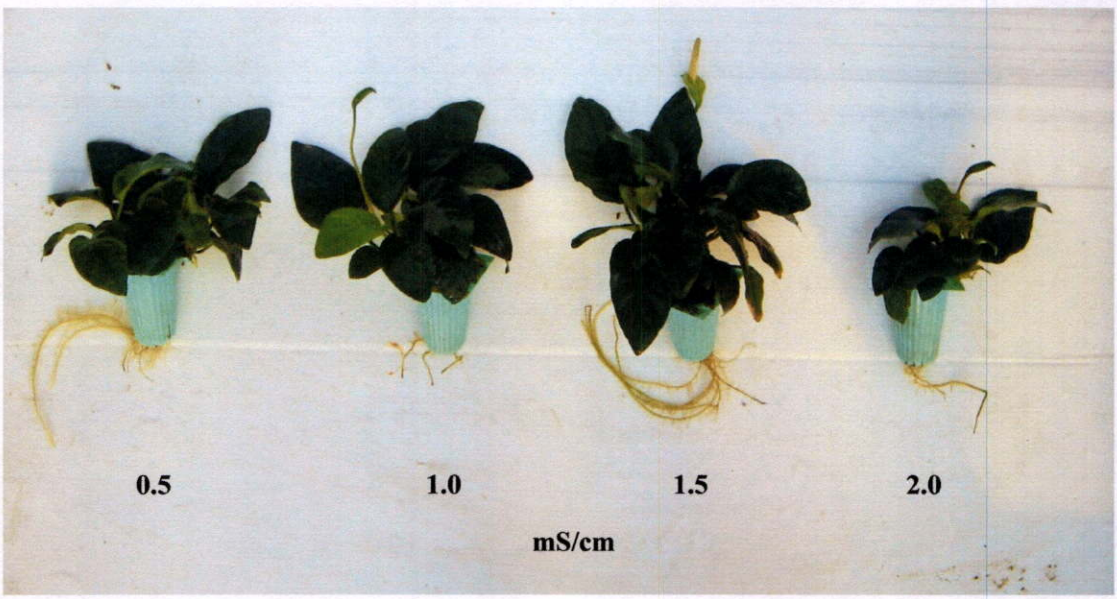
ความหนาใบที่เพิ่มขึ้น พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีความหนาใบที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาคือ 1.0, 0.5 และ 2.0 mS/cm โดยมีความหนาใบเฉลี่ย 0.691±0.609, 0.635±0.04, 0.625±0.059 และ 0.415±0.098 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลองที่มีค่า EC 1.5 mS/cm มีความหนาใบมากกว่าชุดการทดลองที่มีค่า EC 0.5 และ 1.0 mS/cm ($P>0.05$) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองที่ระดับค่า EC 2.0 mS/cm (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.12 ความหนาใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน

ค่าการนำไฟฟ้า (mS/cm)	ความหนาใบเริ่มต้น (มิลลิเมตร)	ความหนาใบสิ้นสุด (มิลลิเมตร)	ความหนาใบที่เพิ่มขึ้น (มิลลิเมตร)
0.5	0.096±0.003	0.721±0.056^{ab}	0.625±0.055^{ab}
1.0	0.096±0.004	0.731±0.044^{ab}	0.635±0.046^{ab}
1.5	0.096±0.004	0.787±0.052^{b}	0.691±0.609^{b}
2.0	0.096±0.004	0.511±0.095^{a}	0.415±0.098^{a}
	ns	*	*

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.13 การเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC ต่างกัน

จากผลการทดลองปลูกพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาในระบบ DFT ที่มีการควบคุมค่า EC ของสารละลายธาตุอาหาสูตร KMITL2 เท่ากับ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mS/cm เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า สารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC 1.5 mS/cm ทำให้อนูเบียสนานามีการเจริญเติบโตดีที่สุด ($P<0.05$) รองลงมาคือ 1.0, 0.5 และ 2.0 mS/cm โดยมีจำนวนใบเท่ากับ 25.93, 21.13, 20.86 และ 20.66 ใบ และความสูงต้นเท่ากับ 10.05, 9.72, 9.48 และ 8.68 เซนติเมตร ตามลำดับ

ค่า EC สามารถใช้วัดปริมาณธาตุอาหารที่ละลายอยู่ในสารละลายได้ และเป็นตัวกำหนดว่าปริมาณธาตุอาหารนั้นเหมาะสมเพียงใดต่อการที่พืชนำไปใช้ ถ้าค่า EC สูงเกินไปจะทำให้ผลผลิตลดลง (ดิเรก ทองอร่าม. 2548) จากการทดลองระดับค่า EC ที่เหมาะสมต่อการปลูกอนูเบียสนานา คือ 1.5 mS/cm แสดงว่าเป็นระดับที่มีปริมาณธาตุอาหารมากเพียงพอต่อความต้องการของพรรณไม้น้ำ โดยทั่วไปค่า EC ที่เหมาะสมสำหรับพรรณไม้น้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 0.5-1.5 mS/cm ขึ้นอยู่กับชนิดพรรณไม้น้ำ (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549) เช่น ใบพายเขาใหญ่ 0.5 mS/cm (มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ. 2546) ไส้ปลาไหล 0.75 mS/cm (สุรสิทธิ์ หงส์เวียงจันทร์. 2552) รากดำใบยาวและพรมมิ 1.0 mS/cm (มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และนงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549; กิตติ กฤตจรูญรักษ์. 2548) จากผลการทดลองสอดคล้องกับตรัยรัตน์ ส้มพลับ (2551) ปลูกอนูเบียสคอนเจนซิสในระบบ DFT ที่มีการควบคุมค่า EC ของสารละลายธาตุอาหาสูตร KMITL2 เท่ากับ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mS/cm เป็นระยะเวลา 14 สัปดาห์ พบว่า สารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC 1.5 mS/cm ทำให้อนูเบียสคอนเจนซิสมีการเจริญเติบโตดีที่สุด

จากผลการทดลองต้นอนูเบียสนานาสามารถเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อค่า EC เพิ่ม แต่เริ่มลดลงเมื่อ EC มีค่าถึง 2.0 mS/cm ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มค่า EC เป็นเพียงการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหาร แต่ไม่ได้หมายความว่ารากจะสามารถดูดใช้ธาตุอาหารต่างๆ ให้มากขึ้น บางครั้งพืชอาจจะเพิ่มความสามารถในการดูดธาตุอาหารให้สูงขึ้นได้ แต่ความสามารถในการดูดธาตุอาหารไม่ได้อยู่ที่ค่า EC (ดิเรก ทองอร่าม. 2548) การตอบสนองทางด้านสรีรวิทยาของพืชเมื่อได้รับปริมาณธาตุอาหารมากเกินไป เป็นสาเหตุที่ทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง โดยการที่ระบบรากมีการถูกทำลาย เนื่องจากความต่างศักย์ของน้ำ (water potential) ในถังสารละลายมีค่าต่ำกว่าความต่างศักย์ของน้ำ (water potential) ภายในราก ทำให้การเคลื่อนที่ของน้ำด้วยแรงดันราก (root pressure) เป็นไปได้ยาก เพราะโดยปกติน้ำมีความสำคัญต่อพัฒนาการของพืช จะเคลื่อนที่จากที่มีค่าความต่างศักย์ของน้ำสูงในดินไปยังที่มีค่าความต่างศักย์ของน้ำต่ำในราก (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2538) จากการทดลองของ Schwarz and Grosch (2003) ศึกษาค่า EC 1.5, 5.0 และ 9.0 mS/cm ของสารละลายธาตุอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตของรากมะเขือเทศ *Phythium aphanidermatum* ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า ค่า EC ของสารละลายธาตุอาหารที่สูงที่สุดคือ 9.0 mS/cm มีผลทำให้โครงสร้างรากเปลี่ยนแปลงไป เช่น รากฝอย (adventitious roots) รากแก้ว (tap roots) และรากแขนง (lateral roots) มีจำนวนลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับค่า EC 1.5 mS/cm ให้จำนวน

รากทั้งหมด 89 และ 147 ราก ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Dewir *et al.* (2005) ที่ทดลองเลี้ยงต้น *Spathiphyllum* ในระบบปลูกแบบไร้ดินที่มีค่า EC 0.6, 1.2, 1.8 และ 2.4 mS/cm พบว่ารากเจริญเติบโตดีที่สุดที่ 1.2 mS/cm และเริ่มลดลงเมื่อค่า EC มากกว่า 1.8 mS/cm โดยที่ค่า EC 1.2 mS/cm ให้จำนวนราก 137 ราก ยาว 134 มิลลิเมตร และน้ำหนักแห้ง 190 มิลลิกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับค่า EC 1.8 mS/cm ให้จำนวนราก 52 ราก ยาว 94 มิลลิเมตร และน้ำหนักแห้ง 128 มิลลิกรัม หากพืชขาดระบบรากที่สมบูรณ์จะทำให้ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารไปยังส่วนต่างๆ ของพืชลดลง จากการทดลองของ Lycoskoufis *et al.* (2005) พบว่าบริเวณใบของต้น *Capsicum annuum* มีการสะสมธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมลดลง แต่ไม่ได้ลดลงจนทำให้ขาดธาตุอาหารเหล่านี้ เมื่อพืชตกอยู่ในสภาวะเครียดเนื่องมาจากธาตุอาหารที่มีปริมาณมากเกินไป พืชจะสร้างเอนไซม์ต่อต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ทำให้เนื้อเยื่อเซลล์ถูกทำลาย (cellular damage) ส่งผลกระทบต่ออัตราการสังเคราะห์แสง การปิดเปิดของปากใบ และอัตราการคายน้ำ (Dewir *et al.* 2005) แต่ถ้าภายใต้สภาวะความต่างศักย์ของน้ำต่ำ (low water potential) พืชจะตอบสนองด้วยการสร้างสารพวกกรดแอบไซซิกเพิ่มขึ้นที่บริเวณราก ซึ่งมีผลต่อการปิดปากใบ และยังช่วยให้รากเจริญเติบโตดี ในขณะเดียวกันกรดแอบไซซิกจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยอดพืช (นันทนา อังกินันทน์. 2549) จากการทดลองของ Maggio *et al.* (2007) ปลูกมะเขือเทศในระบบปลูกแบบไร้ดินที่มีการควบคุมปริมาณธาตุอาหาร พบว่า ต้นมะเขือเทศที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC 9.6 mS/cm สามารถสร้างกรดแอบไซซิกอย่างรวดเร็วที่บริเวณใบ และเมื่อทำการเพิ่มปริมาณธาตุอาหาร รากจะถูกกระตุ้นให้สร้างกรดแอบไซซิกมากขึ้นเช่นกัน

ลักษณะของพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาที่ตลาดต้องการจะพิจารณาจากความสูงของต้นและจำนวนใบ เป็นเกณฑ์มาตรฐานในการจำหน่าย สำหรับอนูเบียสนานาขนาดทั่วไปต้องมีความสูงของต้นไม่น้อยกว่า 5 เซนติเมตร และมีจำนวนใบไม่น้อยกว่า 8 ใบต่อต้น โดยเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดินที่มีค่า EC 0.8 mS/cm เป็นระยะเวลา 10 เดือน จึงสามารถส่งจำหน่ายได้ทั้งในและต่างประเทศ (ชาลี ลิ้ม. 2552) ส่วนอนูเบียสนานาที่จำหน่ายในตลาดเกษตรกรมี 3 ขนาด คือ S, M และ L โดยมีความสูงของต้นเท่ากับ 3, 6 และ 7 นิ้ว ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 ขนาดต้องมีจำนวนใบไม่น้อยกว่า 6 ใบต่อต้น (สมเกียรติ สีสนอง. 2552) เมื่อพิจารณาผลผลิตที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่าอนูเบียสนานามีลักษณะตรงกับความต้องการของตลาดพรรณไม้น้ำ กล่าวได้ว่าการปลูกอนูเบียสนานาให้ได้ผลผลิตดีที่สุด ไม่จำเป็นต้องให้ธาตุอาหารในปริมาณมาก นอกจากจะทำให้การเจริญเติบโตช้าแล้วยังเป็นการสูญเสียธาตุอาหารไปโดยเปล่าประโยชน์

4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับค่า pH ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบการปลูกไร้ดินแบบ DFT

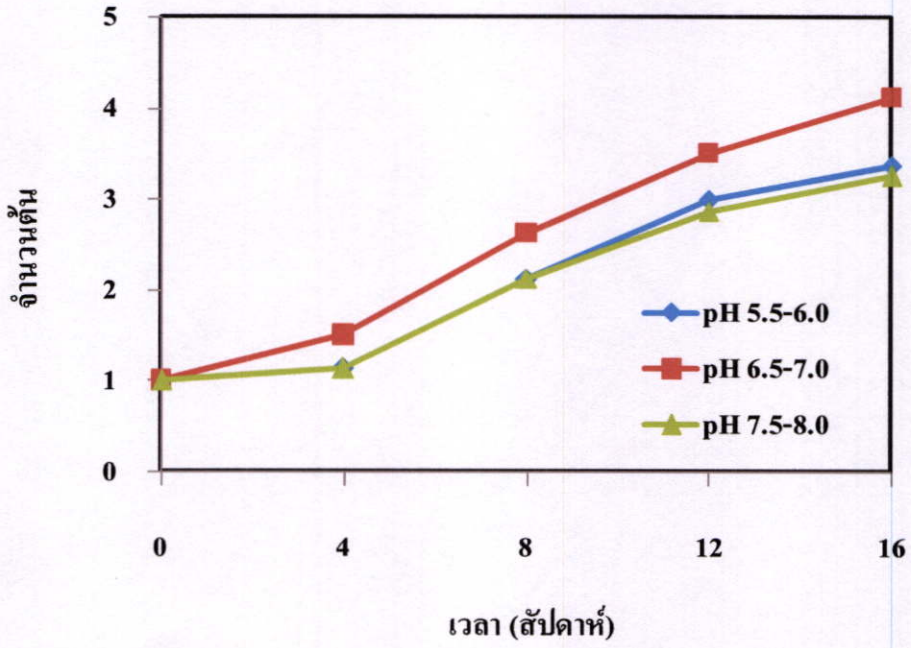
4.3.1 ระดับของค่า pH ต่อจำนวนต้นของอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า pH ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 3 ระดับ ได้แก่ 5.5-6.0, 6.5-7.0 และ7.5-8.0 เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า pH 6.5-7.0 มีจำนวนต้นมากที่สุด รองลงมาคือ 5.5-6.0 และ 7.5-8.0 โดยมีจำนวนต้นเฉลี่ย 4.12±0.62, 3.38±0.51 และ 3.25±0.66 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.13 และภาพที่ 4.14) เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า จำนวนต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.13 จำนวนต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน

ค่า pH	เวลา (สัปดาห์)				
	0	4	8	12	16
5.5-6.0	1.00±0.00	1.13±0.02	2.13±0.13	3.00±0.54	3.38±0.51
6.5-7.0	1.00±0.00	1.50±0.20	2.63±0.23	3.50±0.35	4.12±0.62
7.5-8.0	1.00±0.00	1.13±0.12	2.13±0.13	2.87±0.31	3.25±0.66
	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่ 4.14 จำนวนต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์

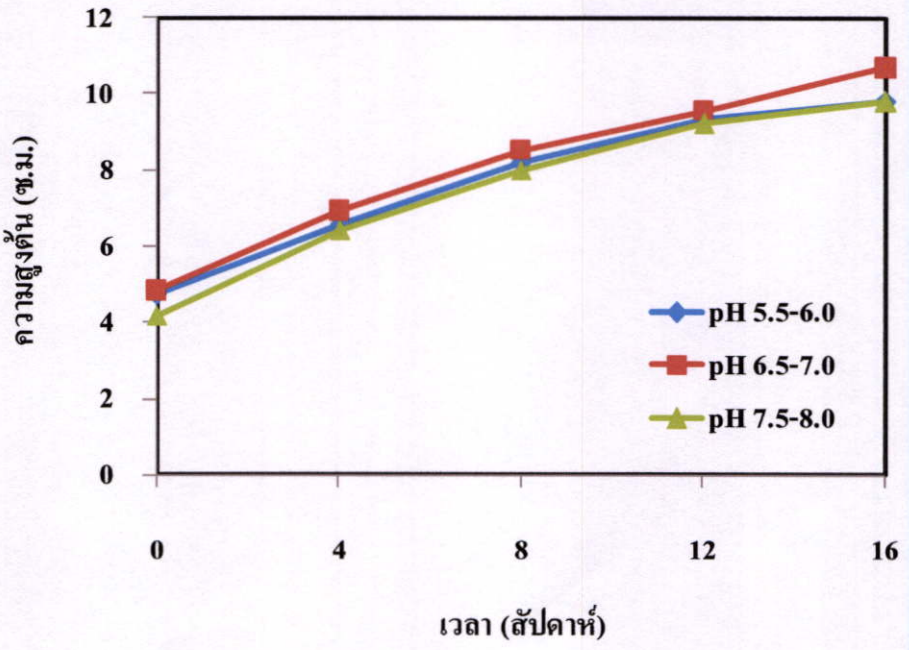
4.3.2 ระดับของค่า pH ต่อความสูงต้นของอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า pH ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 3 ระดับ ได้แก่ 5.5-6.0, 6.5-7.0 และ7.5-8.0 เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า pH 6.5-7.0 มีความสูงต้นมากที่สุด รองลงมาคือ 5.5-6.5 และ 7.5-8.0 โดยมีความสูงต้นเฉลี่ย 10.69±0.68, 9.83±0.17 และ 9.80±0.40 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.14 และภาพที่ 4.15) เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าความสูงต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.14 ความสูงต้นเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน

ค่า pH	เวลา (สัปดาห์)				
	0	4	8	12	16
5.5-6.0	4.72±0.20	6.58±0.50	8.18±0.32	9.33±0.27	9.83±0.17
6.5-7.0	4.83±0.32	6.92±0.28	8.53±0.28	9.57±0.33	10.69±0.68
7.5-8.0	4.17±0.21	6.42±0.18	7.99±0.19	9.23±0.35	9.80±0.40
	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่ 4.15 ความสูงต้นเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์

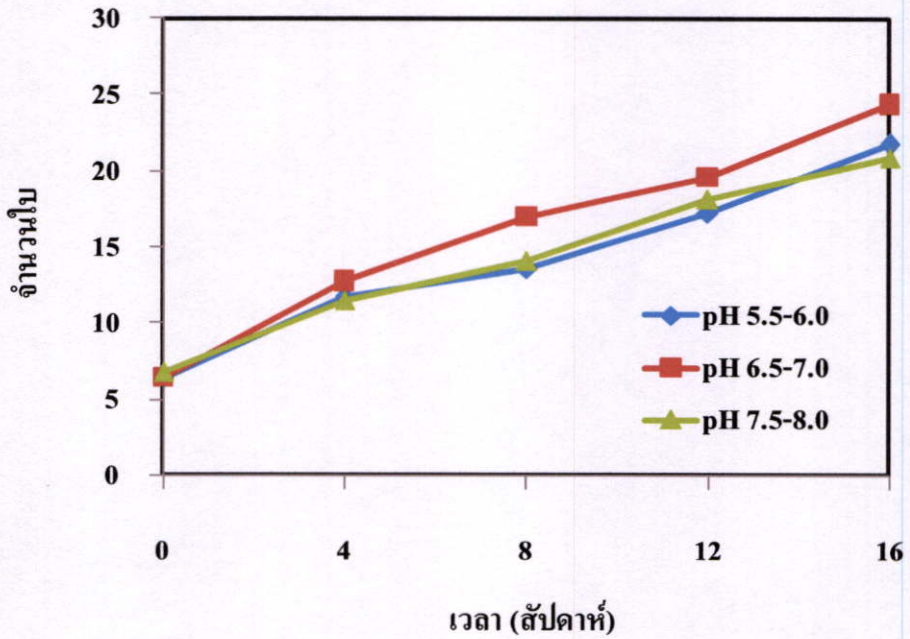
4.3.3 ระดับของค่า pH ต่อจำนวนใบของอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า pH ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 3 ระดับ ได้แก่ 5.5-6.0, 6.5-7.0 และ7.5-8.0 เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าชุดการทดลองที่มีค่า pH 6.5-7.0 มีจำนวนใบมากที่สุด รองลงมาคือ 5.5-6.5 และ 7.5-8.0 โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย 24.38±1.84, 21.75±2.95 และ 20.88±1.54 ใบต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.15 และภาพที่ 4.16) เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า จำนวนใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.15 จำนวนใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน

ค่า pH	เวลา (สัปดาห์)				
	0	4	8	12	16
5.5-6.0	6.37±0.23	11.75±0.52	13.60±0.98	17.25±1.33	21.75±2.95
6.5-7.0	6.37±0.74	12.75±1.25	17.00±0.71	19.62±2.61	24.38±1.84
7.5-8.0	6.75±0.32	11.50±0.54	14.12±1.32	18.12±2.23	20.88±1.54
	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่ 4.16 จำนวนใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์

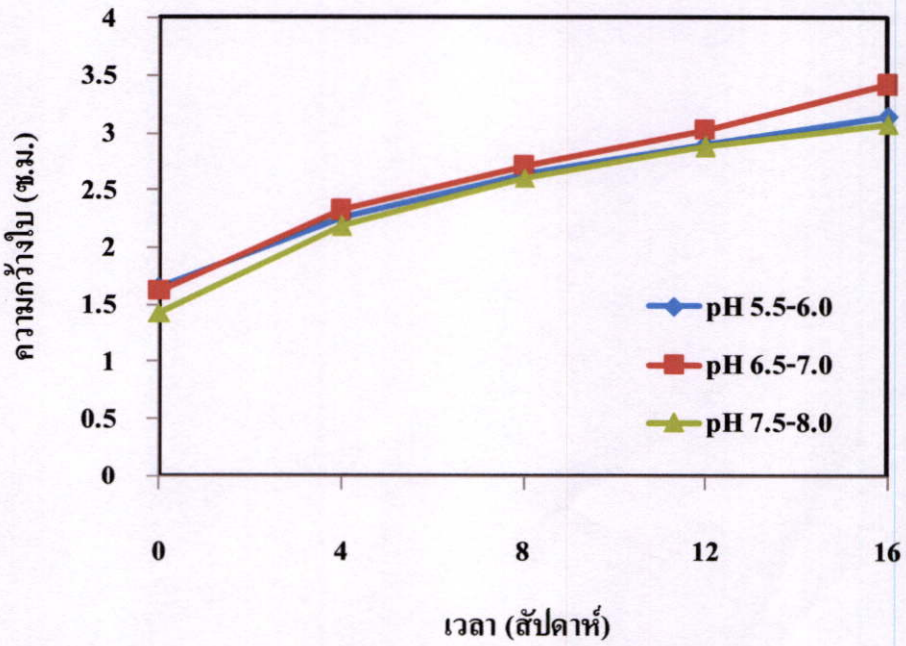
4.3.4 ระดับของค่า pH ต่อความกว้างใบของต้นอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า pH ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 3 ระดับ ได้แก่ 5.5-6.0, 6.5-7.0 และ7.5-8.0 เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า pH 6.5-7.0 มีความกว้างใบมากที่สุด รองลงมาคือ 5.5-6.5 และ 7.5-8.0 โดยมีความกว้างใบเฉลี่ย 3.42±0.16, 3.15±0.11 และ 3.08±0.11 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.16 และภาพที่ 4.17) เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ความกว้างใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.16 ความกว้างใบเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน

ค่า pH	เวลา (สัปดาห์)				
	0	4	8	12	16
5.5-6.0	1.65±0.07	2.26±0.08	2.64±0.14	2.91±0.12	3.15±0.11
6.5-7.0	1.62±0.07	2.32±0.12	2.71±0.11	3.03±0.20	3.42±0.16
7.5-8.0	1.43±0.05	2.18±0.08	2.61±0.06	2.88±0.17	3.08±0.11
	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่ 4.17 ความกว้างใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน ตลอดระยะเวลา 16สัปดาห์

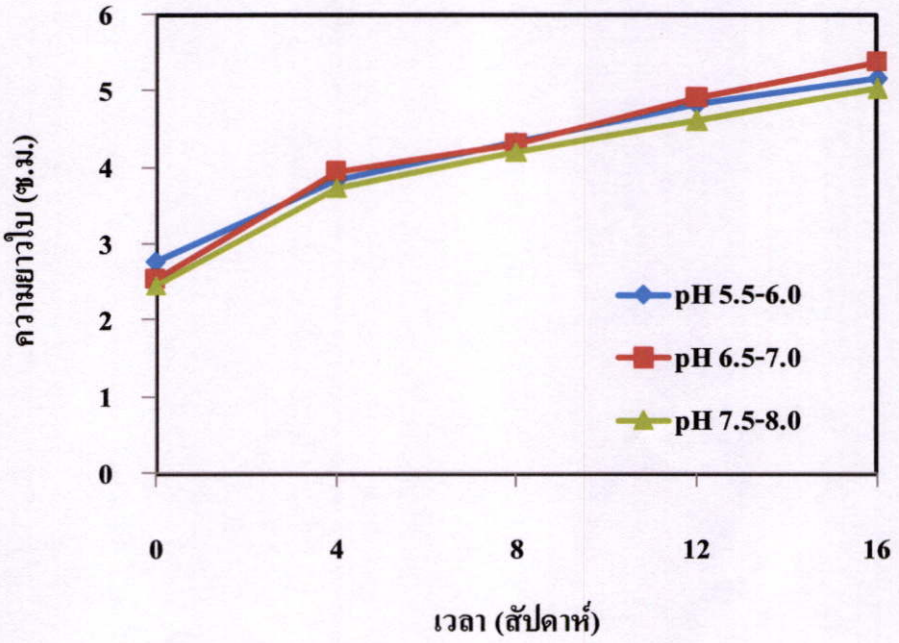
4.3.5 ระดับของค่า pH ต่อความยาวใบของอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า pH ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 3 ระดับ ได้แก่ 5.5-6.0, 6.5-7.0 และ7.5-8.0 เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า pH 6.5-7.0 มีความยาวใบมากที่สุด รองลงมาคือ 5.5-6.5 และ 7.5-8.0 โดยมีความยาวใบเฉลี่ย 5.38±0.20, 5.16±0.26 และ 5.03±0.17 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.17 และภาพที่ 4.18) เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ความยาวใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.17 ความยาวใบเฉลี่ย (ซ.ม.) ของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน

ค่า pH	เวลา (สัปดาห์)				
	0	4	8	12	16
5.5-6.0	2.77±0.16	3.85±0.18	4.35±0.23	4.83±0.16	5.16±0.26
6.5-7.0	2.55±0.13	3.96±0.20	4.32±0.20	4.91±0.22	5.38±0.20
7.5-8.0	2.47±0.18	3.75±0.17	4.22±0.12	4.62±0.08	5.03±0.17
	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่ 4.18 ความยาวใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์

4.3.6 ระดับของค่า pH ต่อน้ำหนักสดของอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า pH ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 3 ระดับ ได้แก่ 5.5-6.0, 6.5-7.0 และ 7.5-8.0 เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าชุดการทดลองที่มีค่า pH 6.5-7.0 มีการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาคือ 5.5-6.0 และ 7.5-8.0 โดยมีน้ำหนักสิ้นสุดเฉลี่ย 39.50±0.69, 37.69±0.95 และ 36.57±0.36 กรัมต่อถ้วยปลูก ตามลำดับ ซึ่งทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า pH 6.5-7.0 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาคือ 6.5-7.0 และ 7.5-8.0 โดยมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 9.15±0.88, 7.69±0.89 และ 6.57±0.97 กรัมต่อถ้วยปลูก ตามลำดับ (ตารางที่ 4.18) ซึ่งทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.18 น้ำหนักเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน

ค่า pH	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัมต่อถ้วยปลูก)	น้ำหนักสิ้นสุด (กรัมต่อถ้วยปลูก)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อถ้วยปลูก)
5.5-6.0	30.00±0.18	37.69±0.95	7.69±0.89
6.5-7.0	30.00±1.00	39.50±0.69	9.15±0.88
7.5-8.0	30.00±0.71	36.57±0.36	6.57±0.97
	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

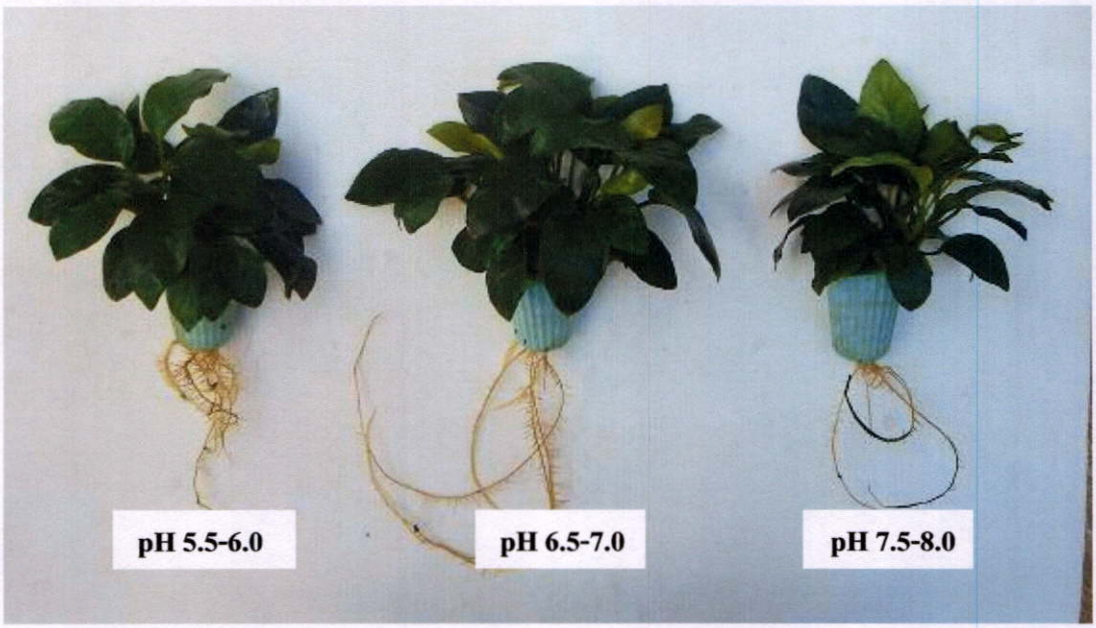
4.3.7 ระดับของค่า pH ต่อความหนาใบของอนูเบียสนานา

จากการทดลองศึกษาระดับค่า pH ในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา ทั้ง 3 ระดับ ได้แก่ 5.5-6.0, 6.5-7.0 และ 7.5-8.0 เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าชุดการทดลองที่มีค่า pH 6.5-7.0 มีการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาคือ 5.5-6.0 และ 7.5-8.0 โดยมีความหนาใบสิ้นสุดเฉลี่ย 0.787±0.130, 0.722±0.200 และ 0.712±0.100 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความหนาใบที่เพิ่มขึ้น พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่า pH 6.5-7.0 มีความหนาใบที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาคือ 6.5-7.0 และ 7.5-8.0 โดยมีความหนาใบที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 0.692±0.120, 0.627±0.200 และ 0.617±0.100 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.19) ซึ่งทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.19 ความหนาใบเฉลี่ยของอนูเบียสนานาในสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน

ค่า pH	ความหนาใบเริ่มต้น (มิลลิเมตร)	ความหนาใบสิ้นสุด (มิลลิเมตร)	ความหนาใบที่เพิ่มขึ้น (มิลลิเมตร)
5.5-6.0	0.095±0.004	0.722±0.200	0.627±0.200
6.5-7.0	0.095±0.004	0.787±0.130	0.692±0.120
7.5-8.0	0.095±0.004	0.712±0.100	0.617±0.100
	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่ 4.19 การเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH ต่างกัน

จากผลการทดลองปลูกพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาในระบบ DFT ที่มีการควบคุมค่า pH ของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL2 เท่ากับ 5.5-6.0, 6.5-7.0 และ 7.5-8.0 เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า สารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH 6.5-7.0 ทำให้อนูเบียสนานามีแนวโน้มเจริญเติบโตดีที่สุด โดยสังเกตจากจำนวนต้น ความสูงต้น จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ ความหนาใบ และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น มีมากกว่าชุดการทดลองที่มีค่า pH 5.5-6.0 และ 7.5-8.0 ตามลำดับ (P>0.05)

ค่า pH ของสารละลายธาตุอาหารมีความสำคัญมาก เพราะควบคุมความเป็นประโยชน์ของแร่ธาตุอาหาร และมีผลต่อการละลายของธาตุบางชนิด พืชแต่ละชนิดมีความต้องการสารละลายธาตุอาหารที่มี pH เฉพาะ ซึ่งจะทำให้พืชชนิดนั้นๆ เจริญเติบโตดีที่สุด จากการทดลองช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการปลูกอนูเบียสนานา คือ 6.5-7.0 แสดงว่าเป็นช่วงที่ธาตุอาหารต่างๆ สามารถคงรูป

ในสารละลายที่รากสามารถดูดไปใช้ประโยชน์ได้มาก ส่งผลให้อนูเบียสนานาที่เลี้ยงใน pH ช่วงนี้มีการเจริญเติบโตมากกว่าช่วง pH 5.5-6.0 และ 7.5-8.0 โดยทั่วไปแล้วค่า pH ที่เหมาะสมต่อการปลูกพืชแบบไร้ดิน คือ 6 แต่แตกต่างกันไปตามชนิดของพืช (ดิเรก ทองอร่าม. 2548) เช่น การปลูกผักสลัด pH ของสารละลายธาตุอาหารควรอยู่ระหว่าง 5.5-6.0 ถ้าค่า pH ต่ำหรือสูงเกินกว่าพืชที่ปลูกจะแสดงอาการขาดธาตุอาหาร เนื่องจากความเป็นประโยชน์ของแร่ธาตุอาหารพืช มีปริมาณที่เหมาะสมในช่วงนี้ (ทัศนุพันธุ์ กุศลสถิตย์. 2543) pH ที่เหมาะสมต่อพรรณไม้น้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 6.5-7.5 (วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. 2543) จากการทดลองของมัลลิกา มิตรน้อย (2550) ศึกษาระดับค่า pH ของสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำอเมซอนแอฟริกาในระบบปลูก DFT ที่มีค่า pH 5.0-5.5, 6.0-6.5 และ 7.0-7.5 หลัง 10 สัปดาห์ พบว่าอเมซอนแอฟริกาที่ปลูกในสารละลายที่มีค่า pH 7.0-7.5 มีน้ำหนัก ความยาวต้น และความยาวใบเฉลี่ย มากกว่าที่ปลูกในสารละลายที่มีค่า pH 5.0-5.5 และ 6.0-6.5

เมื่อพิจารณาสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า pH 5.5-6.0 และ 7.5-8.0 ซึ่งเป็นช่วงที่ต่ำและสูงกว่าระดับที่เหมาะสมต่อการปลูกอนูเบียสนานาคือ 6.5-7.0 การเจริญเติบโตใน pH ช่วงนี้จึงช้าเนื่องจากเกิดความไม่สมดุลของธาตุอาหารและความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารเปลี่ยนแปลงไป เช่น ระดับ pH มีผลกระทบต่อธาตุฟอสฟอรัส ($H_2PO^-_4$) อย่างชัดเจน เมื่อสารละลายมี pH ต่ำกว่า 5.0 ธาตุอะลูมินัม (Al^+_3) จะทำปฏิกิริยาตกตะกอนกับ $H_2PO^-_4$ ทำให้ฟอสเฟตลดความเป็นประโยชน์ลง นอกจากนี้ธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณมาก ได้แก่ โพแทสเซียม (K^{2+}) แคลเซียม (Ca^{2+}) และแมกนีเซียม (Mg^{2+}) ธาตุเหล่านี้อาจไม่เพียงพอต่อความต้องการพืช เนื่องจากในสภาพที่เป็นกรดไฮโดรเจนไอออน (H^+) จะแลกเปลี่ยนกับไอออนบวกได้ต่ำ (มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544) เช่นเดียวกับ Arduini *et al.* (1998) ศึกษาอิทธิพลของ pH 3.5, 4.5, 5.5 และ 6.5 ต่อการเจริญของรากและการดูดธาตุอาหารของต้น *Pinus pinaster* พบว่า pH ของสารละลายธาตุอาหารที่ต่ำที่สุดคือ 3.5 มีผลทำให้รากมีความยาวลดลง และสามารถดูดธาตุอาหารไปใช้ได้น้อย เมื่อนำรากมาตรวจสอบ พบว่ามีการสะสมธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และ แมงกานีส ในรากต่ำ นอกจากนี้ยังมีรายงานความเป็นพิษจากธาตุแมงกานีส หากค่า pH ต่ำกว่า 5.5 ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พิษของธาตุแมงกานีส ทำให้ใบอ่อนย่นเป็นคลื่น (crinkle) เกิดรอยด่างสีน้ำตาลที่ใบแก่ (brown spots) และยับยั้งการเจริญเติบโตของต้น *Glycine max* (Yang *et al.* 2009) สำหรับผักบางชนิดจะแสดงอาการขาดธาตุแมงกานีสที่ราก เช่น การปลูกผักกะหล่ำ *Lactuca sativa* ในสารละลายธาตุอาหารที่มีธาตุแมงกานีส 10 ไมโครโมลาร์ เลี้ยงภายใน 1 ชั่วโมง ปรับค่า pH ให้ลดลงจาก 6 เป็น 4 พบว่าความสามารถของรากที่ดูดธาตุแมงกานีสไปใช้ลดลง 43 เปอร์เซ็นต์ เมื่อค่า pH ลดลง เนื้อเยื่อของรากจะยืดตัวน้อย และไม่มีการแตกแขนงของราก (Konno *et al.* 2006) ส่วนการปลูกผักกาดหอมในโรงเรือนปิดที่มีระบบลดอุณหภูมิ พบว่า การใช้ความเข้มของสารละลายธาตุอาหารที่ 1.5 mS/cm ร่วมกับ pH 5.8 ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด และพบอาการยอดไหม้ (tip burn) ในผักกาดหอมเกิด

รุนแรงมากขึ้นเมื่อปลูกในสารละลายที่มีความเข้มข้นของสารละลายและ pH สูงขึ้น (ปริชาติ ดิษฐกิจ และธรรมศักดิ์ ทองเกตุ. 2548)

ในช่วงการเจริญเติบโตทางใบและลำต้น (vegetative growth) พืชจะมีการดูดใช้ไนเตรท (NO^-_3) แล้วปล่อยไบคาร์บอเนต (HCO^-_3) ออกมามีผลทำให้ pH ของสารละลายธาตุอาหารเพิ่มขึ้น ถ้าสารละลายธาตุอาหารมีค่า pH มากกว่า 7 ติดต่อกันนาน 2-3วัน จะทำให้พืชดูดธาตุแมงกานีส เหล็ก และฟอสฟอรัสไม่เป็นปกติ เพราะเมื่อ pH สูงเกินไปจะทำให้การละลายตัวของอนุมูลคาร์บอเนตและฟอสเฟต ลดลงโดยจะตกตะกอนกับธาตุแคลเซียม และแมกนีเซียม (อิทธิสุนทรนันทกิจ. 2545) ส่วนระบบรากจะถูกทำลาย เมื่ออยู่ใน pH มากกว่า 8.5 ซึ่งส่งผลกระทบต่อกระบวนการดูดซึมธาตุอาหารไม่ดี (Kopittke and Menzies. 2004) หากเซลล์พืชได้รับไบคาร์บอเนตมาก จะทำให้ระดับ pH ในสารละลายในเซลล์พืชสูงเกินไป มีผลทำให้ธาตุเหล็กที่รากพืชดูดได้เป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์ (มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544) เช่นเดียวกับต้นองุ่นที่แสดงอาการขาดธาตุเหล็กเมื่อดินมีไบคาร์บอเนตสูง สำหรับอาการขาดธาตุเหล็ก ใบอ่อนมีสีเหลืองซีด ลำต้นสั้น น้ำหนักแห้งและความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ลดลง (Ksouri *et al.* 2005)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำอนูเบียสนานา โดยใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ลงในอาหารเหลวกึ่งแข็งสูตร MS เพื่อชักนำให้เกิดต้นอ่อนมากที่สุด จากนั้นนำมาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระบบปลูกไร้ดินแบบ DFT ที่มีการควบคุมค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL2 จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ ดังนี้

1. การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวในอาหารเหลวกึ่งแข็งสูตร MS เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียสนานา โดยสามารถเพิ่มจำนวนต้นอ่อนและใบใหม่ได้มากที่สุดเฉลี่ย 6.20±0.40 ต้น และ 12.40±1.43 ใบต่อต้น

2. ค่า EC ของสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา คือ 1.5 มิลลิซีเมนต่อเซนติเมตร โดยสามารถเพิ่มจำนวนใบและความสูงต้นมากที่สุดเฉลี่ย 25.93±0.90 ใบต่อต้น และ 10.05±0.20 เซนติเมตร

3. ค่า pH ของสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานา คือ 6.5-7.0 ทำให้จำนวนใบและความสูงต้นมีแนวโน้มเพิ่มมากที่สุดเฉลี่ย 24.38±1.84 ใบต่อต้น และ 10.69±0.68 เซนติเมตร

ข้อเสนอแนะ

การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน หรือ BA ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS พบว่า การเติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว สามารถเพิ่มจำนวนต้นอ่อนของอนูเบียสนานาได้มากที่สุด ซึ่งในการศึกษาต่อไปควรมีการเติมไซโตไคนินชนิดอื่น เช่น Kinetin, TDZ และ 2iP เป็นต้น เพื่อเป็นการพัฒนาสูตรอาหารให้เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ให้มากที่สุด และควรศึกษาปัจจัยอื่นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอนูเบียสนานาในระบบปลูกแบบไร้ดิน เช่น ความชื้นภายในโรงเรือน ความเข้มแสงที่ส่องผ่าน รวมทั้งอุณหภูมิและปริมาณก๊าซในถังสารละลายธาตุอาหาร

บรรณานุกรม

กาญจนรี พงษ์ฉวี และณฐกร ประดิษฐ์สรรพ์. 2547. "ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียส." หน้า 1-31. ใน **เอกสารวิชาการฉบับที่ 13.** กรุงเทพฯ : กรมประมง.

กาญจนรี พงษ์ฉวี, บังอร โชติพ่วง, ณัฐนันท์ คงขำ และวิจารณ์ ทองมีเอียด. 2543. "ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโลบิเลีย." หน้า 1-16. ใน **เอกสารวิชาการฉบับที่ 9.** กรุงเทพฯ : กรมประมง.

จิรา ณ หนองคาย. 2551. **ความอุดมสมบูรณ์ของดิน.** กรุงเทพฯ : โอเอสพริ้นติ้งเฮ้าส์.

ชาลี ลิ้ม ให้สัมภาษณ์, 30 ตุลาคม 2552. วันวิสาข์ บุญเรือง ผู้สัมภาษณ์. **ลักษณะของพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาที่ตลาดต้องการ.** Aquatic Plant Centre Co., Ltd.

ณฐกร ประดิษฐ์สรรพ์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. 2547. "การเพาะเลี้ยงชบาน้ำ." หน้า 1-26. ใน **เอกสารวิชาการฉบับที่ 33.** กรุงเทพฯ : กรมประมง.

ดิเรก ทองอร่าม. 2548. **การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน:หลักการจัดการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตเชิงธุรกิจในประเทศไทย.** นนทบุรี : ธรรมรักษ์.

ตรัยรัตน์ ส้มพลับ. 2551. "ความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารพืชต่อการเจริญเติบโตพรรณไม้น้ำอนูเบียสคอนเจนซิสในระบบปลูกพืชแบบไร้ดิน." ปัญหาพิเศษ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549. "การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำและระบบปลูกพรรณไม้น้ำ." หน้า 9-36. ใน **เอกสารประกอบการฝึกอบรมการเพาะเลี้ยงพรรณไม้น้ำ.** กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และยุทธนา เกียรติธร. 2548. "สัดส่วนของแอมโมเนียมต่อไนเตรตและความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำชนิดใบพายเขาใหญ่." **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.** ปีที่ 36 (5-6) พิเศษ : 151-154.

นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และมัลลิกา มิตรน้อย. 2548. "การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรรณไม้น้ำอะโกลนีม่า (*Aglaonema simplex*)." หน้า 267-274. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43.** สาขาประมง. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงนุช เลาหะวิสุทธิ์, อัจฉรี เรืองเดช และทิพาภรณ์ เต็มพร้อม. 2552. "ผลของสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส." หน้า 677-686. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยนเรศวร ครั้งที่ 5.** สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมและวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม. พิษณุโลก : มหาวิทยาลัยนเรศวร.

นันทนา อังกินันทน์. 2549. **ฮอร์โมนพืช**. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544. **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พรรณวดี มุศิริ. 2550. "ผลของน้ำตาลซูโคสและผงถ่านในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำอนูเบียสคอนเจนซิส." ปัญหาพิเศษ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พายัพ ยังปักษี และทัศนุพันธุ์ กุศลสถิต (ผู้รวบรวม). 2543. **คู่มือการปลูกพืชไร้ดินเชิงพาณิชย์**. สมุทรปราการ : ไฟว์อีดิเตอร์.

ปริชาติ ดิษฐกิจ และธรรมศักดิ์ ทองเกตุ. 2548. "ผลของความเข้มข้นและระดับค่า pH ของสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโต ปริมาณไนเตรท และวิตามินซีของผักกาดหอมคอสที่ปลูกในโรงเรือนปิดที่มีระบบลดอุณหภูมิ." **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**. ปีที่ 36 (5-6) พิเศษ : 1110-1113.

มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544. **ความอุดมสมบูรณ์ของดิน**. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.

มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ. 2540. "ชนิดและปริมาณน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส." หน้า 1-18. ใน **เอกสารวิชาการฉบับที่ 186**. กรุงเทพฯ : กรมประมง.

มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ. 2546. "การขยายพันธุ์ใบพายเขาใหญ่โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ." หน้า 1-21. ใน **เอกสารวิชาการฉบับที่ 16**. กรุงเทพฯ : กรมประมง.

มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และวรางคณา กาซัม. 2549. "การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นไส้ปลาไหล *Barclaya longifolia*." หน้า 417-428. ใน **การประชุมวิชาการของกรมประมงประจำปี 2549 ระหว่างวันที่ 25-27 กรกฎาคม**. กรุงเทพฯ : กรมประมง.

มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และนงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549. "การขยายพันธุ์รากดำใบยาว." หน้า 1-36. ใน **เอกสารวิชาการฉบับที่ 20**. กรุงเทพฯ : กรมประมง.

มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ, วันเพ็ญ มีนกาญน์ และศิริ วัดสว่าง. 2540. "ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นดาวกระจาย." หน้า 1-24. ใน **เอกสารวิชาการฉบับที่ 187**. กรุงเทพฯ : กรมประมง.

มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ, วิไลวรรณ เหมศิริ, นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และวรางคณา กาซัม. 2548. "ผลของความเข้มแสงและคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำในตู้." หน้า 294-301. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43**. สาขาประมง. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มัลลิกา มิตรน้อย. 2550. "การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอเมซอนแอฟริกา (*Echinodorus africanus* K. Ratag) ที่ปลูกในระบบการปลูกพืชไร้ดินแบบ DEEP FLOW TECHNIQUE." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

รังสฤษฎ์ กาวีตั๊ะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ : หลักการและเทคนิค.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ยุทธนา เกียรติธร. 2547. "ผลของสารละลายธาตุอาหารและระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำชนิดใบพายเขาใหญ่ (*Cryptocoryne crispatula* var. balansae)." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปฐพีวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วันเพ็ญ มีนกาญจน์. 2546. **การผลิตพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก.** กรุงเทพฯ : กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. 2543. **พรรณไม้น้ำสวยงาม.** กรุงเทพฯ : กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย. 2548. "การพัฒนาสูตรอาหารขยายโคลนอนูเบียส (*Anubias barteri* Engler, 1979)." หน้า 1-22. ใน **เอกสารวิชาการฉบับที่ 46.** กรุงเทพฯ : กรมประมง.

วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย และรัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์. 2551. "การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหอมน้ำ *Crinum thaianum*." หน้า 1-26. ใน **เอกสารวิชาการฉบับที่ 58.** กรุงเทพฯ : กรมประมง.

วรางคณา กาซัม และนงนุช เลาหะวิสุทธ์. 2552. "ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใส้ปลาไหล (*Barclaya longifolia*)." หน้า 396-404. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47.** สาขาประมง. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.** อุดรธานี : สถาบันราชภัฏอุดรธานี.

สุกัญญา พริกจำรูญ. 2548. **คู่มือการเพาะเลี้ยงและส่งออกพรรณไม้น้ำ-ปลาสวยงาม.** นนทบุรี : นีออนบุ๊คมีเดีย.

สุชาดา ศรีเพ็ญ. 2530. **พรรณไม้น้ำ.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมเกียรติ สีสนอง ให้สัมภาษณ์, 29 ตุลาคม 2552. วันวิสาข์ บุญเรือง ผู้สัมภาษณ์. **ลักษณะของพรรณไม้น้ำอนูเบียสนานาที่ตลาดต้องการ.** คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2538. **สรีรวิทยาของพืช.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรสิทธิ์ หงส์เวียงจันทร์. 2552. "การหมุนเวียนน้ำและความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำไส้ปลาไหล." ปัญหาพิเศษ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อิทธิสุนทร นันทกิจ. 2538. **การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน.** กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อิทธิสุนทร นันทกิจ. 2545. "การปลูกพืชในวัสดุปลูก." หน้า 46-97. ใน **เอกสารประกอบการฝึกอบรมการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน รุ่นที่ 4.** กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

โอปอล์ สิวะสุธรรม. 2549. "การขยายพันธุ์อเมซอนมาร์ตี้โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ." ปัญหาพิเศษ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Aderkas, P.V., Label, P. and Lelu, M. 2002. "Charcoal affects early development and hormonal concentrations of somatic embryos of hybrid larch." **Tree Physiology.** 22 : 431-434.

Arduini, L., Kettner, C., Godbold, D.L., Onnis, A. and Stefani, A. 1998. "pH influence on root growth and nutrient uptake of *Pinus pinaster* seedlings." **Chemosphere.** 36 : 733-738.

Arthur, G.D., Stirk, W.A. and Staden, J.V. 2006. "Effects of autoclaving and charcoal on root-promoting substances present in water extracts made from gelling agents." **Bioresource Technology.** 97 : 1924-1950.

Anonymous. 2009. **Deep Flow Technique.** [Online]. Available : http://webhost.wu.ac.th/msomsak/soilless/Chapter03/Hydroponics.htm.

Anonymous. 2009. **Nutrient Flow Technique.** [Online]. Available : http://www.hhydro.com/cgi-bin/hhydro/NFTFAQ.html.

Anonymous. 2009. **Soilless Culture Forum of Thailand (SCFT).** [Online]. Available : http://www.kmitl.ac.th/hydro/.

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

Dabrowski, A., Podkoscielny, P., Hubicki, Z. and Barczak, M. 2005. "Adsorption of phenolic compounds by activated carbon-a critical review." **Chemosphere.** 58 : 1049-1070.

Dewir, Y.H., Chakrabarty, D., Ali, M. B., Hahn, E.J. and Paek, K.Y. 2005. "Effects of hydroponic solution EC, substrates, PPF and nutrient scheduling on growth and photosynthetic competence during acclimatization of micropropagated *Spathiphyllum* plantlets." **Plant Growth Regulation.** 46 : 241-251.

Girods, P., Dufour, A., Fierro, V., Rogaume, Y., Rogaume, C., Zoulalian, A. and Celzard, A. 2009. "Activated carbons prepared from wood particleboard wastes : characterisation and phenol adsorption capacities." **Journal of Hazardour Materials.** 166 : 491-501.

Gopi, C. and Ponmurugan, P. 2006. "Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf callus of *Ocimum basilicum* L." **Journal of Biotechnology.** 126 : 260-264.

Groll, J., Gray, V.M., and Mycock, D.J. 2002. "Development of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) somatic embryos during culture with abscisic acid and activated charcoal." **Plant Physiology.** 159 : 437-443.

Han, B.H., Yu, H.J., Yae, B.W. and Peak, K.Y. 2004. "*In vitro* micropropagation of *Lilium longiflorum*'Georgia' by shoot formation as influenced by addition of liquid medium." **Scientia Horticulturae.** 103 : 39-49.

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

Ket, N.V., Hahn, E.J., Park, S.Y., Chakrabarty, D. and Paek, K.Y. 2004. "Micropropagation of an endangered orchid *Anoectochilus formosanus.*" **Biologia Plantarum.** 48 : 339-344.

Konno, M., Ooishi, M. and Inoue, Y. 2006. "Temporal and positional relationships between Mn uptake and low-pH-induced root hair formation in *Lactuca sativa* cv. grand rapids seedlings." **Journal of Plant Research.** 119 : 439-447.

Kopittke, P.M. and Menzies, N.W. 2004. "Control of nutrient solutions for studies at high pH." **Plant and Soil.** 266 : 343-354.

Ksouri, R., Gharsalli, M. and Lachaal, M. 2005. "Physiological responses of Tunisian grapevine varieties to bicarbonate-induced iron deficiency." **Journal of Plant Physiology.** 162 : 335-341.

Lycoskoufis, I.H., Savvas, D. and Mavrogianopoulos, G. 2005. "Growth, gas exchange, and nutrient status in pepper (*Capsicum annuum* L.) grown in recirculating nutrient solution as affected by salinity imposed to half of the root system." **Scientia Horticulturae.** 106 : 147-161.

Maggio, A., Raimondi, G., Martino, A. and Pascale, S.D. 2007. "Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold." **Environmental and Experimental Botany.** 59 : 276-282.

Mohamed-Yasseen, Y. 2001. "Influence of agar and activated charcoal on uptake of gibberellin and plant morphogenesis *in vitro*." **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant.** 37 : 204-205.

Murashige, T. 1974. "Plant propagation through tissue culture." **Annual Review of Plant Physiology.** 25 : 135-166.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. "A resived medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures." **Physiologia Plantarum.** 15 : 473-497.

Pan, M.J. and Staden, J.V. 1998. "The use of charcoal in *in vitro* culture-a review." **Plant Growth Regulation.** 26 : 155-163.

Pan, M.J. and Staden, J.V. 1999. "Effect of activated charcoal, autoclaving and culture media on sucrose hydrolysis." **Plant Growth Regulation.** 29 : 135-141.

Schwarz, D. and Grosch, R. 2003. "Influence of nutrient solution concentration and a root pathogen (*Pythium aphanidermatum*) on tomato root growth and morphology." **Scientia Horticulturae.** 97 : 109-120.

Takayana, S. and Misawa, M. 1980 "Effect of activated charcoal, physiological age of bulbs and sucrose concentration on differentiation and scale leaf formation *in vitro*." **Physiology Plant.** 48 : 121-125.

Tiwari, V., Tiwari, K.N. and Singh, B.D. 2001. "Comparative studies of cytokinins on *in vitro* propagation of *Bacopa monniera.*" **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** 66 : 9-16.

Thomas, T.D. 2008. "The role of activated charcoal in plant tissue culture." **Biotechnology Advances.** 26 : 618-631.

Unnikrishnan, S.K. 2002. **The Aquarium Plant.** Oriental Aquarium (s) Pte.Ltd., Singapore. 181 pp.

Wang, W., Wang, S., Wu, X., Jin, X. and Chen, F. 2007. "High frequency plantlet regeneration from callus and artificial seed production of rock plant *Pogonatherum paniceum* (Lam.) Hack. (Poaceae)." **Scientia Horticulturae.** 113 : 196-201.

Wann, S.R., Veazey, R.L. and Kaphammer, J. 1997. "Activated charcoal does not catalyze sucrose hydrolysis in tissue culture media during autoclaving." **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 50 : 221-224.

Yang, Z.B., You, J.F., Xu, M.Y. and Yang, Z.M. 2009. "Interaction between aluminum toxicity and manganese toxicity in soybean (*Glycine max*)." **Plant soil**. 319 : 277-289.

Zhu, Y., Hoshino, Y., Nakano, M., Takahashi, E. and Mii, M. 1997. "Highly efficient system of plant regeneration from protoplasts of grapevine (*Vitis vinifera* L.) through somatic embryogenesis by using embryogenic callus culture and activated charcoal." **Plant Science**. 123 : 151-157.

ภาคผนวก ก.
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

ก.1 ขั้นตอนการเตรียมอาหารและฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

ก.1.1 ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. ชั่งส่วนประกอบของอาหาร นำมาละลายในน้ำกลั่น แล้วรวมกับสารละลายเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมไว้ตามที่คำนวณได้ ในขวดปรับปริมาตร

2. เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ AC ตามชุดการทดลองที่กำหนดลงในสารละลายอาหาร และปรับปริมาตรสารละลายอาหารด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร

3. ปรับค่า pH ของสารละลายอาหารให้ได้ 5.6 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ และกรดเกลือ

4. ชั่งผงวุ้น 3.5 กรัม เติมลงในสารละลายอาหาร 500 มิลลิลิตร และต้มสารละลายอาหารเพื่อหลอมวุ้นให้ละลายจนหมด

5. เทอาหารลงในขวดที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ ปิดฝาแล้วนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นจึงนำไปใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ

ก.1.2 ขั้นตอนการฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ

1. ล้างสิ่งสกปรก ดินหรือทรายที่ติดมากับพรรณไม้น้ำออกให้สะอาดที่สุดด้วยน้ำไหล

2. นำพรรณไม้น้ำมาวางบนจานแก้ว ใช้มีดที่สะอาดและคม ตัดใบเสียทิ้ง และรากที่ยาวเกินไปออกเป็นบางส่วน จากนั้นล้างด้วยน้ำยาล้างผักให้สะอาด ตามด้วยน้ำสะอาดอีกครั้ง

3. นำชิ้นเนื้อเยื่อมาฟอกกำจัดเชื้อ 2 ครั้ง ได้แก่ ครั้งที่ 1 ฟอกด้วยคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ผสมสารจับใบ (tween20) 1 หยดต่อ100 มิลลิลิตร เขย่านาน 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆ ละ 2 นาที และครั้งที่ 2 ฟอกด้วยคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ ผสมสารจับใบ 1 หยดต่อ100 มิลลิลิตร เขย่านาน 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆ ละ 2 นาที

4. นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อจุ่มลงในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 วินาที แล้ววางทิ้งไว้ให้แห้งบนจานแก้วที่รองด้วยกระดาษทิชชูที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

5. ใช้มีดที่คมและผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตัดรอยแผลบริเวณที่สัมผัสกับน้ำยาคลอรอกซ์หรือส่วนที่เซลล์ถูกทำลายทิ้งไป จากนั้นตัดชิ้นเนื้อเยื่อบริเวณตาข้าง นำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อใช้เป็นต้นพันธุ์สำหรับงานทดลองต่อไป

ตารางผนวกที่ ก.1 องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
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
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
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-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Myo-inosital	100
Agar	7,000
Sucrose	30,000

ปรับ pH ของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้มีค่า 5.6

ที่มา : Murashige and Skoog (1962)

ภาคผนวก ข.

สารละลายธาตุอาหาร

ข.1 องค์ประกอบของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ต่อ 10 ลิตร	
ข.1.1 สารละลาย A		
1. Calcium Nitrate ($Ca(NO_3)_2.4H_2O$)	1.884	กิโลกรัม
2. Iron Chelate (Fe-EDDHA)	0.094	กิโลกรัม
ข.1.2 สารละลาย B		
1. Potassium Nitrate (KNO_3)	0.898	กิโลกรัม
2. Potassium Dihydrogenphosphate (KH_2PO_4)	0.326	กิโลกรัม
3. Magnesium Sulphate ($MgSO_4.7H_2O$)	0.524	กิโลกรัม
4. Zinc Sulphate ($ZnSO_4.7H_2O$)	2.378	กรัม
5. Copper Sulphate ($CuSO_4.5H_2O$)	0.508	กรัม
6. Manganese Sulphate ($MnSO_4.H_2O$)	7.097	กรัม
7. Boric Acid (H_3BO_3)	4.447	กรัม
8. Ammonium Molybdate ($(NH_4)_2MoO_4$)	0.171	กรัม

ที่มา : อิทธิสุนทร นันทกิจ (2538)

ภาคผนวก ค.

ตารางแสดงการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำ อนูเบียสนานาในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ AC โดยใช้ general linear model

ตารางภาคผนวกที่ ค.1 การวิเคราะห์จำนวนต้นอ่อนอนูเบียสนานาในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC โดยใช้ general linear model

Factor	df	Mean Square	F	P
Corrected Model	11	27.252	119.641	.000
Intercept	1	353.633	1552.537	.000
BA	3	19.611	86.098	.000
AC	2	59.508	261.256	.000
BA * AC	6	20.319	89.207	.000
Error	108	.228		

ตารางภาคผนวกที่ ค.2 การวิเคราะห์จำนวนใบอนูเบียสนานาในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC โดยใช้ general linear model

Factor	df	Mean Square	F	P
Corrected Model	11	106.554	39.861	.000
Intercept	1	1960.208	733.296	.000
BA	3	57.497	21.509	.000
AC	2	290.908	108.826	.000
BA * AC	6	69.631	26.048	.000
Error	108	2.673		

ตารางภาคผนวกที่ ค.3 การวิเคราะห์จำนวนรากอนูเบียสนานาในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC โดยใช้ general linear model

Factor	df	Mean Square	F	P
Corrected Model	11	26.808	19.315	.000
Intercept	1	2210.208	1592.412	.000
BA	3	1.142	.823	.484
AC	2	139.408	100.441	.000
BA * AC	6	2.108	1.519	.179
Error	108	1.388		

ตารางภาคผนวกที่ ค.4 การวิเคราะห์ความยาวรากอนูเบียสนานาในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC โดยใช้ general linear model

Factor	df	Mean Square	F	P
Corrected Model	11	136.759	191.141	.000
Intercept	1	5204.784	7274.425	.000
BA	3	7.704	10.768	.000
AC	2	713.672	997.459	.000
BA * AC	6	8.983	12.554	.000
Error	108	.715		

ตารางภาคผนวกที่ ค.5 การวิเคราะห์ความสูงต้นอนูเบียสนานาในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ AC โดยใช้ general linear model

Factor	df	Mean Square	F	P
Corrected Model	11	.143	.623	.806
Intercept	1	868.332	3782.361	.000
BA	3	9.533E-02	.415	.742
AC	2	.300	1.307	.275
BA * AC	6	.115	.499	.808
Error	108	.230		

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - นามสกุล	นางสาววันวิสาข์ บุญเรือง
วัน เดือน ปีเกิด	2 มิถุนายน 2528 ที่จังหวัดนครราชสีมา
ที่อยู่	50 หมู่ที่ 8 ตำบลสารภี อำเภอหนองบุญมาก จังหวัดนครราชสีมา 30410
ประวัติการศึกษา	2549 วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาวิทยาศาสตร์การประมง)
	ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง