

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอโนเบียสบาร์เทอร์บรอดลีฟ
(*Anubias barteri* var. 'broad leaf') ในระบบไบโอรีแอกเตอร์

MICROPROPAGATION OF *Anubias barteri* var. 'broad leaf'
IN TEMPORARY IMMERSION BIOREACTOR



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

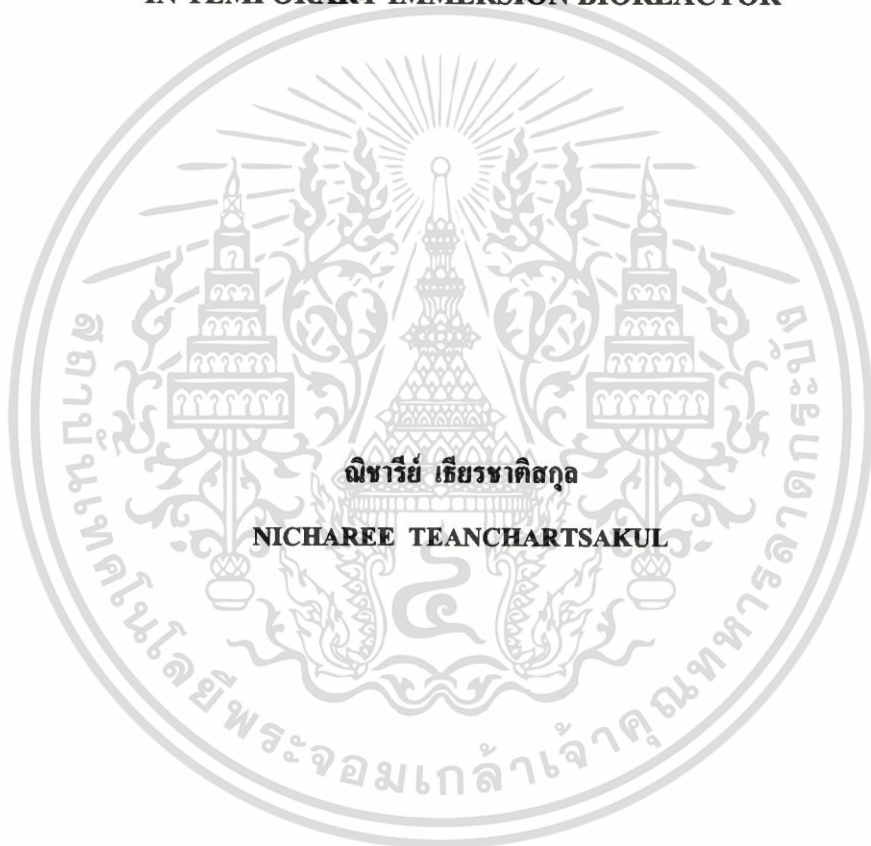
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AG-M-081-266

**การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดลีฟ
(*Anubias barteri* var. 'broad leaf') ในระบบไบโอรีแอกเตอร์**

**MICROPROPAGATION OF *Anubias barteri* var. 'broad leaf'
IN TEMPORARY IMMERSION BIOREACTOR**



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AG-M-081-266

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**MICROPROPAGATION OF *Anubias barteri* var. 'broad leaf'
IN TEMPORARY IMMERSION BIOREACTOR**



**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**

2018

KMITL-2018-AG-M-081-266

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2018

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดลีฟ
	<i>Anubias barteri</i> var. 'broad leaf' ในระบบไบโอรีแอกเตอร์
นักศึกษา	นางสาวณิชารีย์ เรียรชาติสกุล
รหัสประจำตัว	58604028
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมง
พ.ศ.	2561
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เกาหะวิสุทธิ์

บทคัดย่อ

Anubias spp. เป็นพรรณไม้น้ำสวยงามชนิดหนึ่งที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้น นิยมใช้ประดับตกแต่งในตู้ปลาและตู้พรรณไม้น้ำเป็นอันดับต้นๆ แต่มีข้อจำกัดคืออนุเบียสขยายพันธุ์ค่อนข้างยาก โดยแตกหน่อช้ามากในแต่ละปี จึงทำให้มีราคาแพงและปริมาณไม่เพียงพอต่อการส่งออก การนำเทคโนโลยีใหม่เข้ามาช่วยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ ได้แก่ ระบบไบโอรีแอกเตอร์ เพื่อทำให้พรรณไม้น้ำเจริญเติบโตได้เร็วขึ้น เพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ได้จำนวนมากในระยะเวลาที่น้อยกว่าระบบการเลี้ยงแบบเดิม และลดต้นทุนการผลิต โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราว พบว่าการพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์ด้วยการใส่ตัวกรองอากาศที่ออกจากบểลมเข้าขวดอาหารและขวดเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียส รวมทั้งทำกล่องครอบบểลม และติดตั้งหลอด UV ในห้องภายในกล่องโดยแบ่งส่วนเครื่องควบคุมระบบการทำงาน และส่วนการเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียสอย่างชัดเจนนั้นเป็นระบบที่ดีที่สุด และทำการศึกษาความถี่ในการให้อาหาร (3, 6, 12 ครั้ง/วัน) เปรียบเทียบกับระบบดั้งเดิมของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็งเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าการเพาะเลี้ยงอนุเบียสในระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราว โดยให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที มีการเจริญเติบโตดีกว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็งสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อน (8.50 ± 0.26 ต้น), จำนวนใบ (4.75 ± 0.25 ใบ) และความสูงต้น (28.14 ± 0.91 มิลลิเมตร) มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยอัตราการเพิ่มขึ้นของจำนวนต้นอ่อนเป็น 70.83 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีจำนวนมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนการศึกษาจำนวนรากพบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งมีจำนวนราก (4.33 ± 0.26 ราก) มากกว่าระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราว (2.17 ± 0.24 ราก) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และเมื่อนำต้นอนุเบียสออกปลูกในสภาพแวดล้อมพบว่า มีอัตราการรอด 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นทุนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราวใช้ต้นทุนมากกว่า แต่ให้ปริมาณมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Micropropagation of <i>Anubias barteri</i> var. ‘broad leaf’ in temporary immersion bioreactor
Student	Miss Nicharee Teanchartsakul
Student ID	58604028
Degree	Master of Science
Program	Fisheries Science
Year	2018
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nongnuch Laohavisuti

ABSTRACT

Anubias spp. is an aquatic plant used for decorate the aquarium. In nature, *Anubias* propagated very slowly but there is a great demand for export. The study on micropropagation of *Anubias barteri* “Board leaf” using temporary immersion bioreactor system was carried out. These experiments for develop temporary immersion bioreactor were conducted to find out the optimum feeding time (3, 6, 12 time/day) compared with traditional tissue culture (culture in semi-solid medium). After 6 weeks, the result showed that the growth rate of *Anubias* bioreactor system was significantly increased better than traditional tissue culture. Feeding for five minutes, six times a day showed that the *Anubias* tissue could increase 8.50 ± 0.26 shoots/explant, leaves number (4.75 ± 0.25 leaves) and height plant (28.14 ± 0.91 millimeter). Multiplication rate of shoots in temporary immersion bioreactor was 70.83%. Traditional tissue culture could significantly increase 4.33 ± 0.26 roots more than the roots in bioreactor system (2.17 ± 0.24). Survival rate during cultivation in green house was 100%. Traditional tissue cultures have lower production costs but the temporary immersion bioreactor system produced more shoots/explant.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะช่วยแก้ปัญหาตลอดจนให้ความรู้และประการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมชาย หวังวิบูลย์กิจ, ดร.มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนัญญา เจริญพรนิพัทธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรี เรืองเดช กรรมการสอบหัวข้อ และโครงร่างวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนข้อชี้แนะ จนในที่สุดทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ นางสาวรวงคณา กาซ่ม ที่คอยให้คำปรึกษาและชี้แนะแนวทางการทำการทดลองเสมอมา

สุดท้ายต้องขอขอบคุณมารดา และครอบครัวของข้าพเจ้าที่คอยสนับสนุนเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

ณิชารีย์ เรียงชาติสกุล

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญรูป.....	IV
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ลักษณะทั่วไปของพรรณไม้น้ำ <i>Amubias</i> sp.	4
2.2 การขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำ.....	5
2.2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....	5
2.2.2 ระบบไบโอรีแอคเตอร์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	6
2.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำในระบบ ไบโอรีแอคเตอร์.....	11
2.3.1 ระบบการเลี้ยงที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต.....	11
2.3.2 ความถี่ที่ให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต.....	13
2.3.3 ปริมาณการให้อากาศ.....	14
2.3.4 ความหนาแน่นของต้นพันธุ์เริ่มต้นในการเจริญเติบโต.....	15
2.4 การปลูกพรรณไม้น้ำในสภาวะแวดล้อมภายนอก.....	16
2.4.1 ระบบการเลี้ยงที่ใช้ปลูกพรรณไม้น้ำ.....	16
2.4.2 การย้ายปลูกจากระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ ออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก.....	18
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.1 พรรณไม้ น้ำ ทดลอง.....	19
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี.....	19
3.3 แผนการทดลอง.....	20
3.3.1 การทดลองที่ 1.....	20
3.3.2 การทดลองที่ 2.....	20
3.3.3 การทดลองที่ 3.....	20
3.3.4 การทดลองที่ 4.....	20
3.4 วิธีการทดลอง.....	20
3.4.1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์กึ่งจมชั่วคราว.....	20
3.4.2 การศึกษาความถี่ในการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นอนุเบียส.....	21
3.4.3 ศึกษาการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนุเบียสที่ เพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์.....	22
3.4.4 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอนุเบียสที่ออกปลูก ในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร กึ่งแข็งเปรียบเทียบกับระบบไบโอรีแอคเตอร์.....	22
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	23
3.6 สถานที่ทำการทดลอง.....	23
3.7 ระยะเวลาในการทดลอง.....	23
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	24
4.1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์กึ่งจมชั่วคราว.....	24
4.1.1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์ครั้งที่ 1.....	24
4.1.2 การพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์ครั้งที่ 2.....	24
4.1.3 การพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์ครั้งที่ 3.....	24
4.2 การศึกษาความถี่ในการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นอนุเบียส.....	26
4.2.1 ผลของความถี่ในการให้อาหารที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อน.....	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.2 ผลของควมถึในการให้อาหารที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดใบ.....	28
4.2.3 ผลของควมถึในการให้อาหารที่มีผลต่อควมสูง.....	30
4.2.4 ผลของควมถึในการให้อาหารที่มีผลต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง.....	32
4.3 เปรียบเทียบการออกรากและจำนวนรากของต้นอนุเบียสระหว่าง การเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอกเตอร์.....	34
4.4 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอนุเบียสที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อม ภายนอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งเปรียบเทียบกับ ระบบไบโอรีแอกเตอร์.....	36
4.5 เปรียบเทียบราคาต้นทุนในการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและ ระบบไบโอรีแอกเตอร์.....	37
บทที่ 5 วิจัยผลการทดลอง.....	40
5.1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์กึ่งจมชั่วคราว.....	40
5.2 การศึกษาควมถึในการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์ ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นอนุเบียส.....	40
5.3 เปรียบเทียบการออกรากและจำนวนรากของต้นอนุเบียส ระหว่างการเลี้ยง ในระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอกเตอร์.....	42
5.4 เปรียบเทียบอัตราการรอด และการเจริญเติบโตของ <i>Anubias barteri</i> var. 'broad leaf' ที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใน อาหารกึ่งแข็งเปรียบเทียบกับระบบไบโอรีแอกเตอร์.....	42
5.5 เปรียบเทียบราคาต้นทุนในการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง และระบบไบโอรีแอกเตอร์.....	43
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย.....	44
บรรณานุกรม.....	45
ประวัติผู้เขียน.....	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงผลของวิธีการเพาะเลี้ยงที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตห่วยย่อยของ <i>Lilium oriental hybrid "Casablanca"</i> หลังจากการเพาะเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์.....	9
2.2 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	12
2.3 ความถี่ในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช.....	13
2.4 ผลของปริมาณการให้อากาศที่มีผลต่อการสะสมชีวมวลของราก <i>E. koreanum</i>	14
2.5 ผลของความแตกต่างของปริมาณในการให้อากาศที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ของ Siberian ginseng (<i>Eleutherococcus senticosus</i>).....	15
4.1 เปรียบเทียบจำนวนต้นอ่อนของอนุเบียส (ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	27
4.2 เปรียบเทียบจำนวนต้นอ่อนของอนุเบียส (ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	28
4.3 เปรียบเทียบจำนวนใบของอนุเบียส (ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	30
4.4 เปรียบเทียบความสูงของอนุเบียส (มิลลิเมตร/ชิ้นเนื้อเยื่อ) เมื่อเลี้ยงใน TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	31
4.5 เปรียบเทียบน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของอนุเบียส (เปอร์เซ็นต์) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	33
4.6 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนุเบียส <i>Anubias barteri</i> 'broad leaf' ระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบ TIB.....	35
4.7 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของ <i>Anubias barteri</i> 'broad leaf' ระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบ TIB เมื่อนำออกปลูกสภาพแวดล้อม ภายนอก.....	37
4.8 รายละเอียดต้นทุนการผลิตพรรณไม้น้ำโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อระบบดั้งเดิมและ ระบบไบโอรีแอคเตอร์กึ่งจมชั่วคราว.....	38
4.9 สรุปต้นทุนและผลตอบแทนในการผลิตพรรณไม้น้ำโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว.....	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะต้นอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดคี่ฟ.....	5
2.2 ชนิดของไบโอรีแอคเตอร์ A. mechanically agitated bioreactors (a.) stirred tank reactor (b.) rotary drum tank reactor (B.) air driven bioreactor (a.) bubble column (b.) concentric tube airlift reactor (c.) external loop airlift reactor (d.) propeller loop reaction (e.) jet loop reaction C. non-agitated bioreactor (a.) packed bed (b.) fluidized bed (c.) membrane reactor.....	8
2.3 ผลของชนิดของระบบการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ balloon type bubble bioreactor ชนิดต่างๆที่ส่งผลต่อชีวมวลของ <i>A. formosanus</i>	10
2.4 แสดงการพัฒนาของห้วยย่อย A. อาหารแข็ง, B. อาหารเหลว, C. การเพาะเลี้ยงด้วย ระบบไบโอรีแอคเตอร์ชนิด immersion และ D. การเพาะเลี้ยงด้วยระบบ ไบโอรีแอคเตอร์ ชนิด ebb and flood (ให้อาหาร 4 ครั้งต่อวัน 15 นาที).....	10
2.5 ระบบ deep flow technique.....	16
2.6 ระบบ nutrient film technique.....	17
2.7 ระบบ sand culture.....	17
4.1 ระบบไบโอรีแอคเตอร์กึ่งจมชั่วคราวในการพัฒนาระบบครั้งที่ 3.....	25
4.2 ระบบไบโอรีแอคเตอร์กึ่งจมชั่วคราวในการพัฒนาระบบครั้งที่ 3.....	25
4.3 ระบบไบโอรีแอคเตอร์กึ่งจมชั่วคราวในการพัฒนาระบบครั้งที่ 3.....	26
4.4 เปรียบเทียบจำนวนต้นอ่อนของอนุเบียส (ต้น/ชิ้นเนื้อเชื้อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	27
4.5 เปรียบเทียบจำนวนใบของอนุเบียส (ใบ/ชิ้นเนื้อเชื้อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	30
4.6 เปรียบเทียบความสูงของอนุเบียส (มิลลิเมตร/ชิ้นเนื้อเชื้อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	32
4.7 เปรียบเทียบน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของอนุเบียส (เปอร์เซ็นต์) เมื่อเลี้ยง ในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	33
4.8 ลักษณะเนื้อเชื้อพรรณไม้น้ำสกุลอนุเบียสเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (A) การเพาะเลี้ยงใน อาหารกึ่งแข็ง (B) ระบบ TIB ที่ให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน (C) ระบบ TIB ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน. และ (D) ระบบ TIB ที่ให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่

หน้า

- 4.9 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนุเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบ TIBเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (A) พรรณไม้ไม้สกุลอนุเบียส *Anubias barteri* var. 'broad leaf' ในระบบ TIB (B) พรรณไม้สกุลอนุเบียสในระบบการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง..... 36



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ตลาดพรรณไม้น้ำสวยงามในปัจจุบันนั้นได้มีการขยายตัวมากขึ้น และยังมีแนวโน้มที่จะขยายตัวมากขึ้นเรื่อยๆ ในต่างประเทศทั้งญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และประเทศในแถบยุโรปนิยมจัดตู้พรรณไม้น้ำที่ตกแต่งด้วยพรรณไม้น้ำชนิดต่างๆ หลากหลายรูปแบบและสีสันคล้ายกับการจัดสวน พรรณไม้น้ำที่นิยมจะมีหลากหลายชนิด รูปแบบต่างๆ กัน พรรณไม้น้ำที่นิยมกันมากมักจะเป็นพรรณไม้น้ำที่มีสีสันสวยงาม และมีความทนทานสามารถปลูกประดับอยู่ในตู้ได้เป็นเวลานาน พรรณไม้น้ำกลุ่มอโนเบียส *Anubias* sp. เป็นพรรณไม้น้ำสวยงามอีกชนิดหนึ่งที่มีสีสันสวยงาม นิยมใช้ประดับตกแต่งในตู้ปลาและตู้พรรณไม้น้ำ แต่มีข้อจำกัด คือ อโนเบียสขยายพันธุ์ค่อนข้างยาก การนำมาเพาะเลี้ยงยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร เนื่องจากอโนเบียสขยายพันธุ์ด้วยการแตกหน่อ โดยแตกหน่อช้ามากในแต่ละปี จึงทำให้มีราคาแพงและปริมาณไม่เพียงพอต่อการส่งออก ซึ่งปัจจุบันสามารถผลิตต้นพันธุ์อโนเบียสโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สำเร็จแล้ว เนื่องจากสามารถกำหนดปริมาณการผลิตและคุณภาพของผลผลิตได้ ลดปัญหาเรื่องโรคและแมลงศัตรูรบกวน เช่น ไร้เดือนฝอย ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออกพรรณไม้น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศแถบยุโรป ซึ่งอาจทำลายสินค้าทั้งหมด และลดความน่าเชื่อถือของผลผลิตอโนเบียสจากประเทศไทยได้

แม้ว่าในปัจจุบันสามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลอโนเบียสได้สำเร็จแล้วก็ตาม แต่มีปริมาณต้นพันธุ์ที่ยังน้อยมาก ดังนั้นการเพาะขยายพันธุ์อโนเบียสที่ขยายพันธุ์ได้ช้า และเป็นพรรณไม้น้ำมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ โดยทำการศึกษากำหนดเทคโนโลยีใหม่เข้ามาช่วยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ ได้แก่ ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจุ่มชั่วคราว (temporary immersion bioreactor: TIB) ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์นั้นสามารถควบคุมคุณภาพพรรณไม้น้ำอโนเบียสส่งออกให้ได้มาตรฐานจะทำให้พรรณไม้น้ำเจริญเติบโตได้เร็วกว่าเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ได้มากในระยะเวลาที่น้อยกว่าระบบการเลี้ยงแบบเดิม ช่วยลดต้นทุนการผลิต และสามารถควบคุมคุณภาพพรรณไม้น้ำอโนเบียสส่งออกให้ได้มาตรฐาน เพื่อช่วยฟื้นฟูเศรษฐกิจของประเทศ ทั้งยังสามารถส่งเสริมให้เป็นอาชีพหลัก หรืออาชีพเสริมเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงพรรณไม้น้ำ ตลอดจนพัฒนาธุรกิจการส่งออกพรรณไม้น้ำให้ยั่งยืนต่อไป โดยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบดั้งเดิมมีหลายลักษณะ เช่น ระบบที่อาหารกับต้นไม้อาศัยอยู่ในภาชนะเดียวกัน (batch) แต่ระบบในรูปแบบนี้ไม่เหมาะสมกับพืชบางชนิด จึงมีการพัฒนาระบบมากขึ้น เป็นระบบที่อาหารกับต้นไม้อาศัยแยกภาชนะ (fed-batch) และพัฒนาจนเป็นระบบ

ไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราวในปัจจุบัน (Sajc *et al.* 2000) ซึ่งเป็นระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบกึ่งอัตโนมัติที่มีการให้อาหารเหลวในการเพาะเลี้ยงเป็นช่วงเวลาเพื่อไม่ให้ต้นพืชจมอยู่ในอาหารเหลวตลอดเวลา ระบบนี้มีการพัฒนาและใช้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น (Etienne and Berthouly. 2002) ซึ่งมีหลักการทำงาน คือ มีภาชนะแยกระหว่างอาหารกับชิ้นส่วนของพืชออกเป็น 2 ภาชนะ และเชื่อมด้วยท่อซิลิโคน โดยการให้อาหารแก่ชิ้นส่วนพืชนั้นใช้แรงดันอากาศดันอาหารจากภาชนะใส่อาหารไปยังภาชนะเลี้ยงต้นพืชเพื่อให้พืชได้รับอาหารเหลวเพียงชั่วคราว เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดจะใช้แรงดันดันอาหารกลับสู่ภาชนะเก็บอาหารเช่นเดิมสามารถเปลี่ยนอาหารใหม่ได้ง่าย ทำให้พรรณไม้น้ำเจริญเติบโตได้เร็วกว่า เพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ได้มากในระยะเวลาที่น้อยกว่าระบบการเลี้ยงแบบเดิม (Etienne and Berthouly. 2002) ช่วยลดต้นทุนการผลิต ลดการนำน้ำของต้นพืช และสามารถเปลี่ยนอาหารได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่ต้องมีการย้ายขวด นอกจากนี้ยังสามารถลดค่าแรงงานในการย้ายเนื้อเยื่อ รวมถึงลดภาชนะและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ลดพื้นที่ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (นพมณี โจปบุญญานนท์. 2549) ซึ่งสภาพภายในขวดต้องเป็นสภาพที่ปลอดเชื้อ ดังนั้นอากาศที่ผ่านเข้าออกในระบบไบโอรีแอกเตอร์จะถูกกรองด้วยแผ่นกรองอากาศ (Alvard *et al.* 1993) ซึ่งอากาศที่เข้าไปจะผ่านการกรองด้วยตัวกรองฆ่าเชื้อ (Cui *et al.* 2014) จึงไม่ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนระหว่างการเพาะเลี้ยง แต่ถ้าเกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย หรือรา ในขวดใดขวดหนึ่งในระบบ แบคทีเรียหรือราในขวดนี้จะสามารถแพร่กระจายไปยังขวดอื่นๆได้ เนื่องจากลมที่ใช้ในการดันอาหารไปเลี้ยงชิ้นเนื้อเยื่อนั้นเป็นลมจากที่เดียวกัน ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์เป็นระบบที่ต้องมีความปลอดเชื้อสูงมาก จึงมีการพัฒนาระบบให้มีความปลอดเชื้อเพิ่มมากขึ้น เพื่อเพิ่มผลผลิตด้านการเจริญเติบโต อัตราการรอด และลดอัตราการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นในระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราว

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อศึกษาการพัฒนากระบวนไบโอรีแอกเตอร์ แบบจมชั่วคราว
- 1.2.2 เพื่อศึกษาจำนวนครั้งของการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราวที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดลีฟ
- 1.2.3 เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดลีฟที่ใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็งกับระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราว
- 1.2.4 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของต้นอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดลีฟที่ย้ายปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็งกับระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราวเมื่อนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.5 เพื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็งกับระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราว

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 สามารถพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์ แบบจมชั่วคราวเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งแก่เกษตรกรในการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดลิว

1.3.2 สามารถทราบจำนวนครั้งของการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราวที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดลิว

1.3.3 สามารถทราบระบบการเลี้ยงที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงต้นอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดลิว

1.3.4 สามารถทราบการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของต้นอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดลิวที่ใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราว เมื่อนำออกไปปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก

1.3.5 สามารถทราบต้นทุนการผลิตจากวิธีวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็งกับระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราว



บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พรรณไม้น้ำ หมายถึงพืชที่ขึ้นอยู่ในน้ำ โดยอาจจะจมอยู่ใต้น้ำทั้งหมด หรือ โผล่บางส่วน ขึ้นมาอยู่เหนือน้ำ ลอยอยู่ที่ผิวน้ำหรือเป็นพืชที่ขึ้นอยู่ตามริมน้ำชายตลิ่ง นอกจากนี้ก็ยังมีรวมทั้งพืชที่เจริญเติบโตอยู่ในบริเวณที่ลุ่มน้ำขังและอีกด้วย

2.1 ลักษณะทั่วไปของพรรณไม้น้ำ *Anubias* sp.

พรรณไม้น้ำ *Anubias* sp. จัดอยู่ในวงศ์ Aracace จัดเป็นพืชมีดอก ใบเลี้ยงเดี่ยวมีขนาดเล็กจนถึงปานกลาง ลำต้นเป็นเหง้าใต้ดิน (rhizome) (ปรัชญา รัศมีธรรมวงศ์, 2537) ใบมีสีเขียวแตกออกจากโคนต้นเป็นกอ (rosettes) (กาญจนรี พงษ์ฉวี, 2547) ใบรูปไข่ (ovate) ไปจนถึงใบรูปหอก (lanceolate) โคนใบเป็นรูปมน (auriculate) หรือรูปหัวใจ (cordate) มีกาบใบหุ้มก้านใบ ก้านใบ และใบมีสีเขียวเข้มเหนียวแข็งแรง ดอกมีขนาดเล็ก ออกเป็นช่อแบบสเปดิคัส (spadix) ช่อดอกมีขนาดยาวหรือสั้นกว่าก้านประดับ ไม่มีกลีบดอก ดอกตัวผู้มีเกสร 5-6 อัน ดอกตัวเมียมี 1 คาร์เพล รังไข่มี 2-3 ช่อง มีกาบประดับสีขาวจนถึงสีเขียว การขยายพันธุ์อนุเบียงทำได้โดยการตัดแยกหน่อหรือตัดแบ่งไรโซมที่มีอายุมากไปเพาะชำให้แตกหน่อ หรือใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ปรัชญา รัศมีธรรมวงศ์, 2537)

อนุเบียงบาร์เทอร์บรอดลีฟ (*Anubias barteri* var. 'broad leaf') เป็นพรรณไม้น้ำที่มีลักษณะลำต้นเป็นเหง้าใต้ดิน และเจริญขึ้นมาเหนือดิน ใบแตกจากโคนต้นเป็นกอ ลักษณะใบหนา สีเขียวเข้ม มีความกว้างของใบมากกว่าชนิดอื่นๆ



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะต้นอนุเบียสบาร์เทอร์โรคลิฟ

2.2 การขยายพันธุ์พรรณไม้

การขยายพันธุ์พืช หมายถึง การเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ให้มีจำนวนมากขึ้น โดยคงไว้ซึ่งคุณสมบัติ ลักษณะ และคุณภาพในการผลิตให้ดีเท่าเดิมหรือดียิ่งขึ้นไป การขยายพันธุ์พืชสามารถคัดพันธุ์พืช ที่มีลักษณะที่ดีให้มีจำนวนเพิ่มขึ้น และทำให้พืชดั้งเดิมไม่สูญพันธุ์ ในการขยายพันธุ์พืชน้ำสามารถทำได้ทั้งอาศัยเพศ (sexual propagation) และไม่อาศัยเพศ (asexual propagation) แบบอาศัยเพศ โดยใช้วิธีการเพาะเมล็ด แต่จะทำให้ต้นอ่อนที่ได้มีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกันออกไป (กาญจนรี พงษ์ฉวี, 2547) ซึ่งการขยายพันธุ์พืชน้ำที่ได้ลักษณะเหมือนกับพ่อแม่ นิยมใช้การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เช่น การตัดชำต้น การแยกหน่อ แแบ่งไรโซม การแยกหัว รวมทั้งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นต้น ซึ่งมีแนวทางในการดำเนินการ 2 ลักษณะคือ การขยายพันธุ์พืชน้ำแบบดั้งเดิม และการขยายพันธุ์แบบพัฒนา

2.2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) เป็นการนำเซลล์เนื้อเยื่อหรืออวัยวะส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญของพืชมาเลี้ยงในอาหารที่สังเคราะห์ขึ้น ซึ่งประกอบด้วย แร่ธาตุ วิตามิน น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโต (นพฉณี โทบุญญานนท์, 2547) ในสภาพปลอดเชื้อภายใต้การควบคุมในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิ แสงสว่าง ความชื้น เป็นต้น จากนั้นชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชจะเจริญไปเป็น ยอด ราก หรือแคลลัสที่สามารถเจริญเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้ ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชที่นำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นจะต้องนำมาฆ่าเชื้อเพื่อให้เนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเห็นาไปใช้ประโยชน์ทางการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการปลอดเชื้อ โรคมากที่สุด ซึ่งจะมีโอกาสประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพิ่มมากขึ้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้บนอาหารวุ้นกึ่งแข็ง (agar medium) หรือในอาหารเหลว (liquid medium) ซึ่งการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวนิยมทำบนเครื่องเขย่า (shaker) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ช่วง เวลาหนึ่ง ต้องมีการถ่ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ (subculturing) เนื่องจากอาหารในขวดเดิมมีสารอาหารน้อยลง และมีของเสียที่เซลล์ขับออกมาเพิ่มมากขึ้น (รังสฤษฎ์ กาวิตะ. 2545) พรรณไม้ที่มีหลายชนิดที่นำมาทำเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ในปัจจุบัน เช่น อเมซอน (*Echinodorus horemanii* Rataj) โดยทำการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด ได้แก่ กลุ่มไซโคไคนิน (BA) ความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกลุ่มออกซิน (NAA) ความเข้มข้นต่างกัน 2 ระดับ ได้แก่ 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อการชักนำการเจริญเติบโตของต้นอ่อนของอเมซอน พบว่า การเติม BA มีแนวโน้มทำให้การเกิดยอดใหม่เพิ่มสูงขึ้นมากกว่าการไม่เติม BA (วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย. 2555) หรือการทดลองผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Anubias nana* (กาญจนรี พงษ์ณี. 2546) พบว่า BA และ KINETIN มีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดยอด และลดการเกิดรากลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ NAA มีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดรากและลดการเกิดยอดลงอย่างมีนัยสำคัญ ปัจจุบันเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีบทบาทมากในด้านการขยายพันธุ์พืชเชิงอุตสาหกรรมให้ได้ปริมาณผลผลิตจำนวนมาก และเพียงพอต่อความต้องการของตลาด การอนุรักษ์พันธุ์พืช การปรับปรุงพันธุ์พืช เพื่อให้ได้พันธุ์พืชที่ทนทานและต้านทานโรค

2.2.2 ระบบไบโอรีแอกเตอร์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ระบบไบโอรีแอกเตอร์เป็นระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบกึ่งอัตโนมัติที่มีการให้อาหารเหลวในแต่ละช่วงระยะเวลาเพื่อไม่ให้ต้นพืชจมอยู่ในอาหารเหลวตลอดเวลา (นพณิ โทบุญญานนท์. 2549) ซึ่งแตกต่างกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็ง โดยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบนี้ต้องควบคุมสภาวะแวดล้อมในการเจริญเติบโต ทั้งอุณหภูมิ ออกซิเจน ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อัตราการไหลของแก๊ส และระดับของออกซิเจนที่ละลายในอาหาร การทำงานของระบบไบโอรีแอกเตอร์สามารถป้อนอาหารจากภาชนะหนึ่งไปยังภาชนะหนึ่งได้โดยที่ไม่มีการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยง

ระบบไบโอรีแอกเตอร์สำหรับการเพาะเลี้ยงต้นพืช ในระยะแรกเป็นการนำถังหมักมาดัดแปลงเป็นถังเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชได้มากและมีต้นทุนต่ำ และได้มีการพัฒนาระบบของภาชนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง โดยในอาหารเหลวที่มีระบบการทำงานแบบอัตโนมัติ สามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์พืชในทางอุตสาหกรรมได้ (Etienne and Berthouly. 2002) ซึ่งความสำคัญของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์คือสามารถเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่มีขนาดเล็กและขนาดใหญ่ อีกทั้งระบบไบโอรีแอกเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

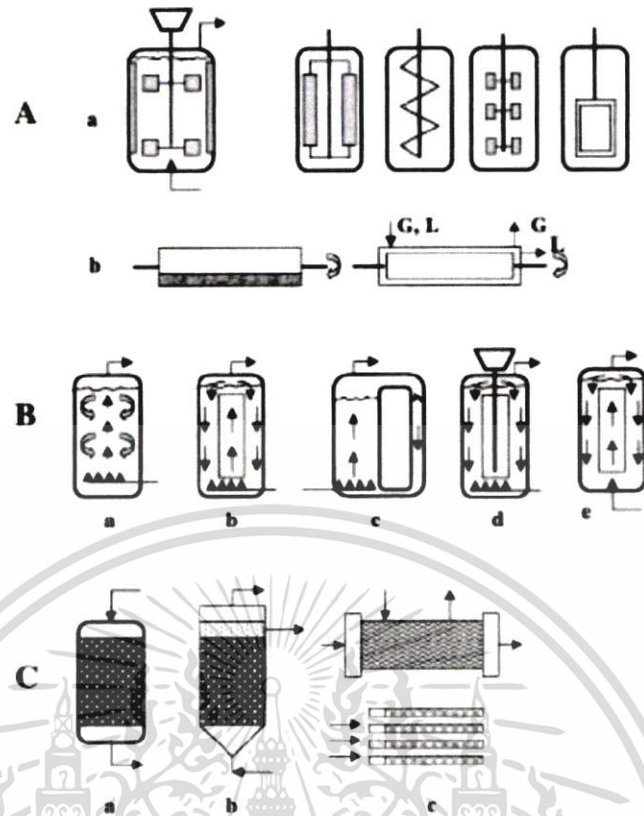
ยังสามารถควบคุมปัจจัยในการเจริญเติบโต เช่น ออกซิเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ แต่ระบบนี้ยังคงมีความเสี่ยงในด้านการปนเปื้อนและยังค่าใช้จ่ายสูงในการเพาะเลี้ยง

2.2.2.1 ชนิดของระบบไบโอรีแอกเตอร์

mechanically agitated bioreactor มีลักษณะเป็นแบบ stirring tank reactor ภาชนะที่สามารถทำให้เกิดการกระตุ้นการเกิดการผสมกันในระบบเป็นการพัฒนามาจากส่วนที่หมุนได้ของเครื่องสูบน้ำ ในด้านการควบคุมและความยืดหยุ่น และสามารถทำงานได้อย่างอิสระ ซึ่งจะช่วยปรับในเรื่องการผสมของสารและการให้อากาศ (รูปที่ 2.2 A) (Sajc *et al.* 2000) อีกทั้งมีลักษณะแบบ rotary drum tank reactor ภาชนะที่สามารถหมุนได้รอบ ซึ่งมีลักษณะเป็นท่อ ด้านแนวนอนทำให้มีพื้นที่อัตราความจุมากกว่าแบบอื่นๆ ส่วนในการเคลื่อนที่ของมวลนั้นใช้พลังงานน้อย (รูปที่ 2.2 b) ซึ่งข้อดีของไบโอรีแอกเตอร์ลักษณะนี้คือ จะใช้จำนวนตัวบ่มซึ่งใช้เป็นตัวตัดอาหารน้อย และพืชจะสามารถใช้แสงในการสังเคราะห์ด้วยแสงได้อย่างเต็มที่ (Sajc *et al.* 2000)

air driven bioreactor มีระบบการทำงานนี้จะเหมาะสมกับการใช้ในสถานะที่มีความหนาแน่นต่ำ ซึ่งในปัจจุบันยังคงอยู่ภายใต้งานวิจัยเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านวิศวกรรม โดยหลักการการทำงานจะเป็นการผสมผสาน นำเครื่องรับพลังงานไฟฟ้าที่มีความสามารถสูง ซึ่งมีที่มีลักษณะเป็นของแข็งที่มีความหนาแน่นสูงและเคลื่อนที่ได้ดี (รูปที่ 2.2 B) (Sajc *et al.* 2000)

non-agitated bioreactor มี ระบบนี้จะเหมาะสมกับการใช้กับเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ เซลล์ที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ แต่ยังคงมีขีดจำกัดในเรื่องการเคลื่อนที่ของมวลที่อยู่หนึ่งนั้นยังคงเป็นเรื่องยาก และยากในการนำส่วนประกอบที่เป็นแก๊สออกมา (รูปที่ 2.2 C) อีกทั้งมีขีดจำกัดโดยยังเป็นที่อยู่ของเซลล์ที่ไม่ต้องการอีกด้วย โดยลักษณะในการทำงานของไบโอรีแอกเตอร์ชนิดนี้จะทำงานร่วมกับ airlift reactor (Sajc *et al.* 2000)



รูปที่ 2.2 ชนิดของไบโอรีแอกเตอร์ A. mechanically agitated bioreactors (a.) stirred tank reactor (b.) rotary drum tank reactor (B.) air driven bioreactor (a.) bubble column (b.) concentric tube airlift reactor (c.) external loop airlift reactor (d.) propeller loop reaction (e.) jet loop reaction C. non-agitated bioreactor (a.) packed bed (b.) fluidized bed (c.) membrane reactor

ที่มา : Sajc *et al.* (2000)

รูปแบบการให้อาหารในเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์มี 2 แบบ ได้แก่ ระบบที่อาหารกับต้นไม้วางอยู่ในภาชนะเดียวกัน (batch), ระบบที่อาหารกับต้นไม้วางแยกภาชนะ (fed-batch), การใช้วิธี batch เหมาะสมกับการเลี้ยงในลักษณะที่มีสภาวะแวดล้อมที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ส่วน fed batch ใช้สภาวะที่จะต้องควบคุมปริมาณอาหาร (Sajc *et al.* 2000) ชนิดของระบบไบโอรีแอกเตอร์ที่ใช้ในงานวิจัยในปัจจุบัน เช่น bulb-type bubble bioreactor , airlift bioreactor, ebb and flood, immersion, temporary immersion bioreactor (TIB) โดยระบบไบโอรีแอกเตอร์แต่ละชนิดส่งผลต่อผลผลิตของพืชแตกต่างกันออกไป โดยในการทดลองของ Lian *et al.* (2003) ทำการศึกษาผลของการเพาะเลี้ยง *Lilium oriental hybrid* "Casablanca" ในระบบ immersion, ebb and flood, suspension, solid ที่ส่งผลต่อการพัฒนาหัวย่อยของ *Lilium oriental hybrid* "Casablanca" พบว่า ในการเพาะเลี้ยงรูปแบบ ebb and flood นั้นส่งผลให้มีการเจริญเติบโตและจำนวนหัวย่อยมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ immersion, suspension และ solid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการเรียนการสอน เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่บนเว็บไซต์ของมหาวิทยาลัยสุโขทัย

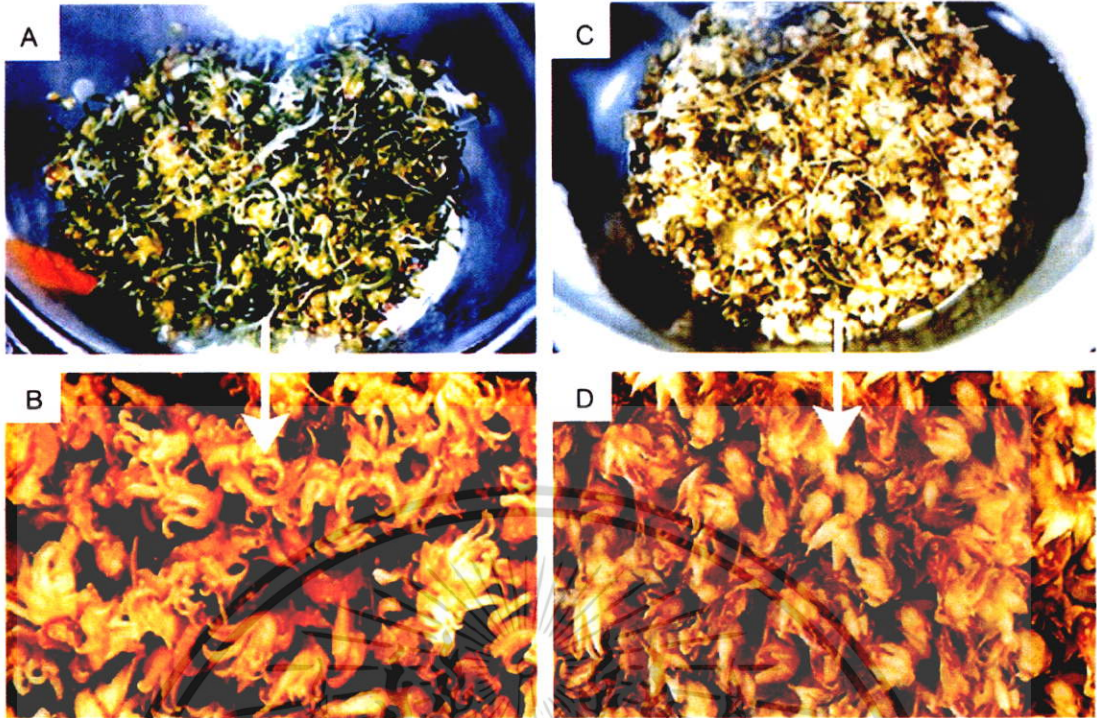
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงรูปแบบ ebb and flood ต้นพันธุ์จะได้รับสารอาหารพร้อมทั้งมีปริมาณอากาศเข้าไปในระบบพร้อมกัน เพราะฉะนั้นต้นพันธุ์จึงสามารถนำทั้งสารอาหารและก๊าซที่จำเป็นไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ (ตารางที่ 2.1 และรูปที่ 2.3) ซึ่งแตกต่างกับการทดลองของ Yoon *et al.* (2007) ทำการศึกษาผลของการเพาะเลี้ยง *Anoectochilus formosanus* ในระบบไฮโดรแอคเตอร์ ชนิด immersion, raft และ ebb and flood พบว่า การเพาะเลี้ยงรูปแบบ immersion นั้นส่งผลให้มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด โดยมีปริมาณน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 919 g/l และ 72.5 g/l ตามลำดับ (รูปที่ 2.4) เมื่อเปรียบเทียบกับ raft และ ebb and flood เนื่องจากการเพาะเลี้ยงรูปแบบ immersion ทำให้ต้นพันธุ์ได้รับสารอาหารตลอดเวลา จึงสามารถนำสารอาหารที่ได้นั้นนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ แต่อาจเกิดอาการน้ำเน่าในต้นพันธุ์จนสร้างความเสียหายได้ (Cui *et al.* 2014) ดังนั้นในแต่ละระบบจะมีความเหมาะสมในพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป

ตารางที่ 2.1 ผลของวิธีการเพาะเลี้ยงที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตห่วยย่อยของ *Lilium* oriental hybrid “Casablanca” หลังจากการเพาะเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์

Culture method	Bulblet formation (%)	Number of bulblet (vessel)	Segment fresh mass (g)	Growth
suspension	0	0	32.8b	3.0b
immersion	0	0	46.4b	2.9b
ebb and flood	51.7b	1025.5a	70.9a	4.1a
solid	78.7a	81.9b	14.0c	3.4ab

ที่มา: Lian *et al.* (2003)



รูปที่ 2.3 แสดงการพัฒนาของห้วย่อย A. อาหารแข็ง, B. อาหารเหลว, C. การเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ชนิด immersion และ D. การเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ชนิด ebb and flood (ให้อาหาร 4 ครั้งต่อวัน 15 นาที)

ที่มา: Lian *et al.* (2003)



รูปที่ 2.4 ผลของชนิดของระบบการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ balloon type bubble bioreactor ชนิดต่างๆที่ส่งผลต่อชีวมวลของ *A. formosamus*

ที่มา: Yoon *et al.* (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์อีกด้านหนึ่งของระบบไบโอรีแอคเตอร์คือ การที่อาหารเหลวผสมกับก๊าซออกซิเจน ทำให้ระบบมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์มีการเจริญเติบโตดีขึ้น (Sajc *et al.* 2000) ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ นั้นสามารถสร้างต้นพันธุ์ได้เพิ่มมากขึ้นในระยะเวลาที่สั้นลง ช่วยลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงและลดต้นทุนในด้านแรงงานคนในการขยายพันธุ์เนื้อเยื่อ ทำให้มีต้นทุนในการผลิตที่ต่ำลง และถ้านำระบบนี้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำหายากต่างๆยังช่วยลดความเสี่ยงในการสูญพันธุ์ได้อีกด้วย ระบบไบโอรีแอคเตอร์ยังคงมีประโยชน์ได้แก่ พืชได้รับอาหารอย่างทั่วถึงทุกชั้นส่วนของพืช มีการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากการกรองอากาศด้วยแผ่นกรองเชื้อลดการขาดอากาศของพืช เนื่องจากมีการเติมอากาศเข้าไปในขวด ผ่านแผ่นกรองเชื้อสามารถเปลี่ยนอาหารใหม่ได้ง่าย ลดต้นทุนการผลิตในการจ้างแรงงานในการถ่ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ และลดการสะสมของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และแก๊สเอทธิลีน เพราะเป็นระบบเปิดทำให้อัตราการเพิ่มปริมาณต้นมากขึ้น

ถึงแม้ว่าระบบไบโอรีแอคเตอร์จะมีข้อดีจำนวนมาก แต่ยังมีจุดอ่อนในเรื่องต่างๆ (Sajc *et al.* 2000) มากเช่นกัน ทั้งในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ราคาของเครื่องมือ และอุปกรณ์ แต่ยังมีข้อเสียได้แก่ มีความเสี่ยงในการเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆได้ง่าย พืชแต่ละชนิดมีความต้องการปริมาณอาหารไม่เท่ากัน จึงจำเป็นต้องศึกษาลักษณะของพืชแต่ละชนิดก่อนการเพาะเลี้ยง ซึ่งจะแตกต่างกับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบปกติ ซึ่งถ้าพืชชนิดนั้นได้รับปริมาณอาหารมากเกินไป จะทำให้อัตราการเกิดต้นลดลงได้ และจำเป็นจะต้องปรับระบบการให้อากาศ และแรงดันอากาศที่ให้อย่างเหมาะสม โดยถ้าขาดอากาศในอาหารเหลวจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นขนาดเล็ก

2.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์

2.3.1 ระบบการเลี้ยงที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีรูปแบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลากหลายระบบ เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบอาหารกึ่งแข็ง เพาะเลี้ยงในระบบอาหารเหลว เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ประสบความสำเร็จจำเป็นต้องเลือกระบบการเลี้ยงที่เหมาะสมกับพืชชนิดนั้นๆอีกด้วย (Zobayed *et al.* 2004) (ตารางที่ 2.2)

ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแต่ละชนิดส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วย อาทิ เช่น ถ้าพืชบางชนิดเป็นพืชบก นำไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว อาจส่งผลให้พืชเกิดอาการน้ำท่วม และตายได้ (Shaik *et al.* 2010) ดังนั้นระบบไบโอรีแอคเตอร์กึ่งจมชั่วคราวที่มีระบบการหมุนเวียนอากาศภายในภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยง ต้นพันธุ์จึงสามารถใช้ประโยชน์จากก๊าซที่เข้าไปในระบบ ช่วยในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำหรือเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และในด้วระบบนั้นจะอาศัยการทำงานของบีมลคณอาหารซึนไปสัมผัสกับด้นพ้นธุ์ทำให้ได้รับปริมาณสารอาหารได้อย่างเต็มที่ และด้นพ้นธุ์จะไม่สัมผัสอาหารตลอดเวลา ทำให้ปรับด้ว และสามารถอยู่รอดได้ในสภาวะที่เปลี่ยนเปลงไปจากเดิม จึงเป็นระบบทางเลือกหนึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สามารถทำให้ประสบผลสำเร็จในการขยายพ้นธุ์ (Murch *et al.* 2004)

ตารางที่ 2.2 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเจริญเติบโต ในด้านต่างๆ	ชนิดพืช	ผลการทดลอง	ที่มา
	<i>Crescentia cujete</i>	temporary immersion bioreactor	Murch <i>et al.</i> (2004)
	<i>Lessertia</i> (<i>Sutherlandia</i>)	temporary immersion bioreactor	Shaik <i>et al.</i> (2010)
การเจริญเติบโต ในเรื่องของ น้ำหนักสด, น้ำหนักแห้ง	<i>frutescens</i> <i>Hypericum</i> <i>perforatum</i> <i>Hydrastis</i> <i>canadensis</i>	temporary immersion bioreactor temporary immersion bioreactor liquid culture	Zobayeda <i>et al.</i> (2004) He <i>et al.</i> (2007)
	<i>Crescentia cujete</i>	temporary immersion bioreactor	Murch <i>et al.</i> (2004)
การเจริญเติบโต ในด้านความสูง ของด้นอ่อน และ จำนวนด้นอ่อน	<i>Lessertia</i> (<i>Sutherlandia</i>) <i>frutescens</i>	temporary immersion bioreactor	Shaik <i>et al.</i> (2010)
การเจริญเติบโต ในด้านอัตราการ เจริญเติบโตที่ เพิ่มขึ้นของด้น อ่อน	<i>Hydrastis</i> <i>canadensis</i>	temporary immersion bioreactor	He <i>et al.</i> (2007)

2.3.2 ความถี่ที่ให้อาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต

ความถี่ของการให้อาหารพืชในระบบไบโอรีแอกเตอร์กึ่งจมชั่วคราวนั้น เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ถ้าพืชได้รับอาหารมากเกินไป หรือน้อยเกินไป จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ (ตารางที่ 2.3) ยาน่า นั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 ความถี่ในการให้อาหารในระบบไบโอรีแอกเตอร์ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

การเจริญเติบโตใน ด้านต่างๆ	ชนิดพืช	ความถี่ในการให้ อาหาร	ที่มา
การเจริญเติบโตใน ด้านความสูงของต้น อ่อน และจำนวนต้น อ่อน	<i>Rhodiola crenulata</i>	3/300 นาที/นาที	Zhao <i>et al.</i> (2009)
การเจริญเติบโตใน ด้านน้ำหนักสดและ น้ำหนักแห้ง	<i>Datura stramonium</i> <i>Rhodiola crenulata</i>	15/105 นาที/นาที 3/60 นาที/นาที	Georgiev <i>et al.</i> (2006) Zhao <i>et al.</i> (2009)
การเจริญเติบโตใน ด้านอัตราการ เจริญเติบโตที่ เพิ่มขึ้นของต้นอ่อน	<i>Chlorophytum borivilianum</i> <i>Beta vulgaris L.</i>	15/60 นาที/นาที 15/75 นาที/นาที	Ashraf <i>et al.</i> (2013) Pavlov <i>et al.</i> (2005)

จากการทดลองของ Pavlov *et al.* (2006) ทำการศึกษาความถี่ในการให้อาหารของต้นบีทรูท พบว่าความถี่ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ ให้อาหารนาน 15 นาที/75 นาที สังเกตว่าบีทรูท จะได้รับอาหารนานกว่าพืชชนิดอื่นๆ เนื่องจากบีทรูทเป็นพืชที่มีการสะสมอาหารบริเวณราก หรือเรียกว่าหัวสะสมอาหาร ซึ่งแตกต่างจากการเพาะเลี้ยง *Rhodiola crenulata* มีความถี่ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตอยู่ที่ 3/60 นาที/นาที เนื่องจากพืชชนิดนี้เป็นพืชไม่กึ่ง ไม่มีลักษณะการสะสมอาหาร ในลำต้นหรือราก (Zhao *et al.* 2009) เพราะฉะนั้นในพืชแต่ละชนิดมีความต้องการปริมาณอาหาร ไม่เท่ากัน ถ้าพืชได้รับอาหารมากเกินไปอาจทำให้พืชเกิดอาการเน่า และเสียหายได้ แต่ถ้าพืชได้รับ อาหารน้อยเกินไปพืชอาจเกิดอาการเหี่ยวใบแห้ง และตายได้ (Ashraf *et al.* 2013) เช่นเดียวกัน ดังนั้นเราจึงจำเป็นต้องหาสภาวะ หรือความถี่ที่เหมาะสมที่สุดในการให้อาหารสำหรับในพืชแต่ละ ชนิด เพื่อให้พืชเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (Zhao *et al.* 2009)

2.3.3 ปริมาตรในการให้อากาศ

ปริมาตรในการให้อากาศส่งผลต่อผลผลิตของพืชในระบบไบโอรีแอกเตอร์เป็นอย่างมาก เนื่องจากในระบบไบโอรีแอกเตอร์นั้นมีระบบการหมุนเวียนอาหาร และอากาศภายในระบบเลี้ยง (Sajc *et al.* 2000) ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยจากการทดลอง Lee *et al.* (2011) ได้ทำการศึกษาในเรื่องการให้ปริมาตรอากาศที่มีผลกับชีวมวลในพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Eleutherococcus koreanum Nakai โดยกำหนดปริมาตรในการให้อากาศ คือ 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที (vvm), และ 0.05/0.1/0.2/0.3/0.4 vvm (เพิ่มปริมาตรอากาศทุกๆ 1 สัปดาห์) พบว่า ปริมาตรการให้อากาศที่ 0.05-0.4 vvm เหมาะสมมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชมากที่สุด (ตารางที่ 2.4) สอดคล้องกับ Shohale *et al.* (2013) ได้ทำการศึกษาในเรื่อง ปริมาตรในการให้อากาศที่มีผลต่อชีวมวล ของ somatic embryo ของ Siberian ginseng (*Eleutherococcus senticosus*) โดยกำหนดปริมาตรในการให้อากาศ คือ 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.3 vvm, 0.05/0.1/0.2/0.3 vvm (เพิ่มปริมาตรอากาศทุก 10 วัน พบว่าหลังจากการเพาะเลี้ยง (40-45 วัน) น้ำหนักสด, น้ำหนักแห้ง ปริมาตรอากาศที่เข้าไปมีผลต่อการเจริญเติบโต เมื่อปรับปริมาตรอากาศโดยปรับทุก 10 วัน (0.05/0.1/0.2/0.3 vvm) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของ Siberian ginseng (*Eleutherococcus senticosus*) สูงขึ้นเมื่อให้ปริมาตรอากาศเข้าไปในระบบ (ตารางที่ 2.5) เนื่องจากการให้อากาศเข้าไปหมุนเวียนเปลี่ยนในระบบทำให้ลดการขาดอากาศของพืช และเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่เป็นอากาศที่ดีในระบบ จึงทำให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (Thanb *et al.* 2014)

ตารางที่ 2.4 ผลของปริมาตรการให้อากาศที่มีผลต่อการสะสมชีวมวลของของราก *E. koreanum*

Aeration volume (vvm)	Fresh weight (g/l)	Dry weight (g/l)	Percentage dry weight
0.05	44.21 ^b ^a	5.51 ^c	12.46
0.1	47.13 ^a	5.99 ^{ab}	12.70
0.2	47.52 ^a	6.2 ^a	13.09
0.4	43.7 ^b	5.81 ^{bc}	13.27
0.05-0.4	48.89 ^a	6.37 ^a	13.02

ที่มา: Lee *et al.* (2011)

ตารางที่ 2.5 ผลของความแตกต่างของปริมาตรในการให้อากาศที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ
Siberian ginseng (*Eleutherococcus senticosus*)

Aeration volumn (vvm)	Initial $k_L a$ (h^{-1})	Biomass (g/l)			Growth ratio
		FW	DW	%DW	
0.05	4.95	97.74 ^a	11.13 ^a	11.38	16.66
0.1	7.84	96.10 ^a	10.10 ^a	10.50	15.03
0.2	11.42	90.71 ^b	10.06 ^a	11.09	14.96
0.3	16.81	78.60 ^c	8.35 ^b	10.69	12.25
0.05/0.1/02/0.3	5.0-16.58	99.28 ^a	11.35 ^a	10.97	15.42

ที่มา: Shohale *et al.* (2013)

2.3.4 ความหนาแน่นของต้นพันธุ์เริ่มต้นในการเจริญเติบโต

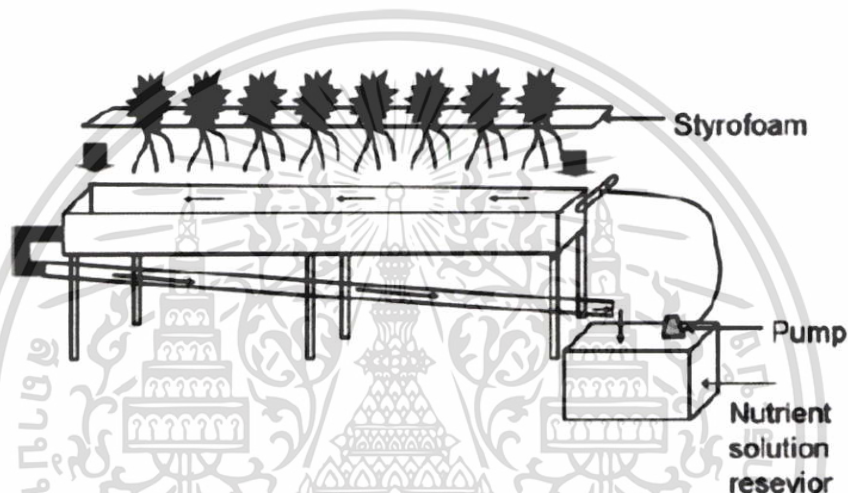
ความหนาแน่นของต้นพันธุ์เริ่มต้นส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยถ้าใส่ต้นพันธุ์มากเกินไป การเจริญเติบโตอาจได้ไม่เต็มที่เนื่องจาก พื้นที่ในการเจริญเติบโตนั้นมีน้อยลง และพืชอาจสัมผัสอาหารไม่ทั่วถึง (Thanb *et al.* 2014) จากการศึกษาของ Lee *et al.* (2011) ทำการศึกษาผลของความหนาแน่นเริ่มต้น ที่มีผลกับการสะสมสารประกอบในพืช *Eleutherococcus koreanum* Nakai โดยกำหนด ความหนาแน่นที่ 2.5,5.0,7.5,10.0 และ 15.0 g/l พบว่าที่ความหนาแน่น 5.0 g/l จะทำให้การเจริญเติบโตของรากจะแคระแกร็น แต่ที่ความหนาแน่น 5.0 g/l มีการสะสมชีวมวลมากที่สุด ซึ่งแตกต่างกับการทดลองของ Thanb *et al.* (2014) ทำการศึกษาความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง เซลล์ ginseng (*Panax ginseng*) ใน airlift bioreactors ที่ความหนาแน่น 40,60,80,100 g/l พบว่า ความหนาแน่นที่ 100 g/l มีความเหมาะสมในการสะสมชีวมวลมากที่สุด เนื่องจากปริมาตรขวดเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์นั้นไม่เท่ากัน ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จึงควรคำนึงถึงปริมาตรขวดที่ใช้เลี้ยง และ ปริมาณ ต้นพันธุ์เริ่มต้นที่ใช้ในการเริ่มเพาะเลี้ยงอีกด้วย ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีความหนาแน่นที่เหมาะสมไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับพืชชนิดนั้นๆ พืชขนาดเล็กสามารถใส่ชิ้นเนื้อเยื่อได้มากกว่าพืชขนาดใหญ่ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีปริมาตรเท่ากัน

2.4 การปลูกพรรณไม้น้ำในสถานะแวดล้อมภายนอก

การย้ายปลูกพรรณไม้น้ำจากระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปสู่ระบบปลูกภายนอก ส่งผลดีต่อต้นพันธุ์เนื่องจากได้ต้นพันธุ์ที่แข็งแรงในการย้ายปลูก ปลอดภัย โรค มีอัตราการรอดสูง

2.4.1 ระบบการเลี้ยงที่ใช้ในการปลูกพรรณไม้น้ำ

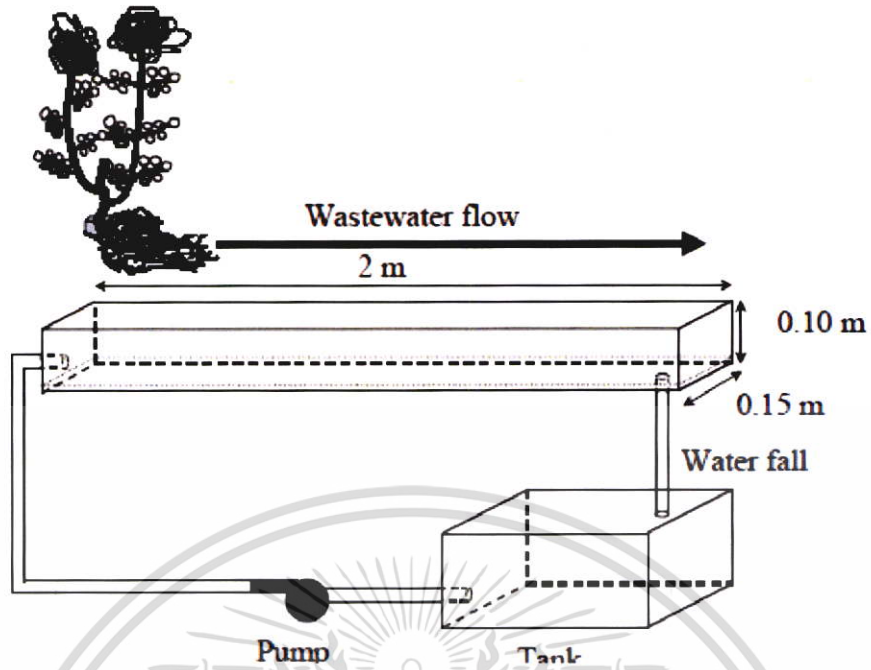
deep flow technique (DFT) คือ เทคนิคการปลูกโดยให้รากพืชแช่อยู่ในภาชนะบรรจุสารละลายธาตุอาหารพืชโดยที่ระดับสารละลายในภาชนะปลูกจะลึกประมาณ 15-20 ซม. (Somkanok *et al.* 2010) (รูปที่ 2.5)



รูปที่ 2.5 ระบบ deep flow technique

ที่มา: Somkanok *et al.* (2010)

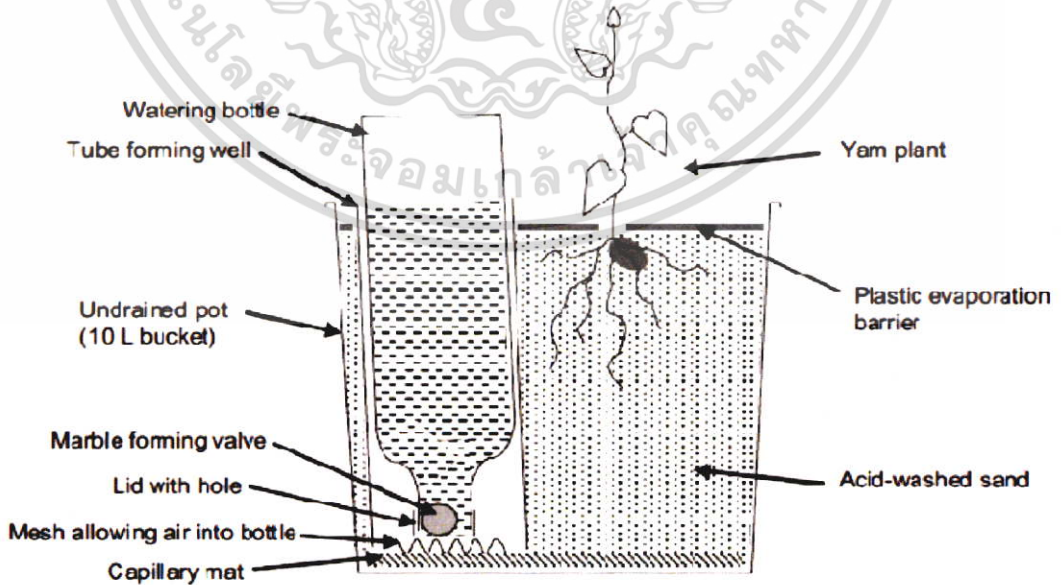
nutrient film technique (NFT) คือ การปล่อยน้ำผสมธาตุอาหารพืชไหลไปในรางปลูก โดยสารละลายในรางปลูกจะมีความลึกประมาณ 0.5 cm การทำเช่นนี้ช่วยให้ราก และน้ำมีการสัมผัสกับอากาศ เพื่อเพิ่มออกซิเจนในสารละลายธาตุอาหารให้มากขึ้น การปลูกแบบนี้จึงช่วยลดปัญหาการขาดอากาศของรากพืชได้ดีระบบ NFT (Monnet *et al.* 2002) แต่เนื่องจากสภาพภูมิอากาศในประเทศไทย ทำให้น้ำที่ไหลในระบบรางมักจะมีความร้อนสะสมมาก ทำให้อากาศขาดอากาศ ดังนั้นในการปลูกด้วยระบบ NFT ในเขตร้อนจึงไม่ควรต่อรางปลูกให้ยาวมากเกินไปเพราะอาจทำให้เกิดมีความร้อนสะสมในรางปลูกมากแล้ว ยังทำให้ออกซิเจนจากหัวรางถึงท้ายรางต่างกันมากเกินไปจนกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชในแปลงปลูก (รูปที่ 2.6)



รูปที่ 2.6 ระบบ nutrient film technique

ที่มา : Monnet *et al.* (2002)

ระบบทราย sand culture คือ ระบบที่มีการใช้ทรายเป็นองค์ประกอบในปลูก ใช้ทรายใส่ปุ๋ยในกระบะพลาสติก และใส่วัสดุปลูกลงในทรายโดยตรง (Jane and Ernest. 2007) โดยให้ทรายช่วยเก็บสารละลายธาตุอาหารต่างๆส่งผ่านไปที่รากของพรรณไม้ (รูปที่ 2.7)



รูปที่ 2.7 ระบบ sand culture

ที่มา: Jane and James (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 การย้ายปลูกจากระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบไฮโดรแอคเตอร์ออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก

จากการทดลองของ Zobayed *et al.* (2004) ทำการย้ายปลูกต้นเซนตจ้อห์นเวิร์ต (*Hypericum perforatum*) จากระบบไฮโดรแอคเตอร์ออกสู่สภาพแวดล้อมภายนอก พบว่ามีอัตราการรอดสูงถึง 90เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Winarto *et al.* (2013) ทำการศึกษาการย้ายปลูกต้นกล้วยไม้ (*Dendrobium 'Zahra FR 62'*) ออกสู่สิ่งแวดล้อมโดยต้นกล้วยไม้มีอัตราการรอดถึง 90 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากต้นพันธุ์จากระบบไฮโดรแอคเตอร์ที่นำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกนั้นมีความแข็งแรง และปลอดโรค ดังนั้นเมื่อนำมาย้ายปลูกจึงทำให้ต้นพันธุ์มีอัตราการรอดสูง และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ในอัตราที่สูงตามไปด้วย (Winarto *et al.* 2013)



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พรรณไม้ น้ำทดลอง

พรรณไม้ น้ำทดลอง ได้แก่ *Anubias barteri* var. "broad leaf" ซึ่งเป็นต้นพันธุ์ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยและพัฒนาสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำจืด สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด กรมประมง

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 เตรียมเนื้อเยื่อ *Anubias barteri* var. "broad leaf" ก่อนการทำการทดลอง

3.2.1.1 ขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้

3.2.1.2 กระจกตวงขนาด 1000 ml, 500 ml

3.2.1.3 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

3.2.1.4 บีกเกอร์ขนาด 500 ml, 100 ml

3.2.1.5 แท่งแก้วคนสาร

3.2.1.6 หลอดหยดสาร

3.2.1.7 ซ้อนตักสาร

3.2.1.8 ไมโครปิเปตขนาด 1000 μ l

3.2.2 เตรียมระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราว

3.2.2.1 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้

3.2.2.2 บั้มฟิล์ม

3.2.2.3 สายซิลิโคน

3.2.2.4 ข้อต่อกระจายลม

3.2.2.5 ซิลิโคน

3.3 แผนการทดลอง

3.3.1 การทดลองที่ 1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์กึ่งจมน้ำจืด

ชุดการทดลองที่ 1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์ ครั้งที่ 1

ชุดการทดลองที่ 2 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์ ครั้งที่ 2

ชุดการทดลองที่ 3 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์ ครั้งที่ 3

3.3.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาความถี่ในการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมน้ำจืดของคั่นอนุเบียงสโดยจัดชุดการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยมีจำนวนครั้งในการให้อาหารของระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมน้ำจืดเป็นปัจจัยในการศึกษา แบ่งการทดลองเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

ชุดการทดลองที่ 1 ระบบอาหารกึ่งแข็ง

ชุดการทดลองที่ 2 ระบบไบโอรีแอกเตอร์ ให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที

ชุดการทดลองที่ 3 ระบบไบโอรีแอกเตอร์ ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที

ชุดการทดลองที่ 4 ระบบไบโอรีแอกเตอร์ ให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที

ระยะเวลาในการเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

3.3.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาการเจริญเติบโตในระยะการออกรกของคั่นอนุเบียงสที่เพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมน้ำจืด โดยจัดชุดการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Independent sample t-test โดยกำหนดชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ระบบอาหารกึ่งแข็ง

ชุดการทดลองที่ 2 ระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมน้ำจืด โดยกำหนดความถี่ในการให้อาหารเป็นความถี่ที่ทำให้คั่นอนุเบียงสมีการเจริญเติบโตดีที่สุด จากการทดลองที่ 1

ระยะเวลาในการเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

3.3.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของคั่นอนุเบียงสที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งเปรียบเทียบกับระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมน้ำจืด โดยจัดชุดการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Independent sample t-test โดยกำหนดชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 คั่นอนุเบียงสจากระบบอาหารกึ่งแข็ง

ชุดการทดลองที่ 2 คั่นอนุเบียงสจากระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมน้ำจืด

ระยะเวลาในการเลี้ยงนาน 16 สัปดาห์

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบกึ่งจมน้ำจืด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1.1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์โดยลดต้นทุน ครั้งที่ 1 เป็นระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบกึ่งจมชั่วคราวโดยใช้ขวดตั้งเป็นที่ตั้งขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ และขวดอาหาร ซึ่งขวดที่ใช้นั้นเป็นขวดชนิด Duran ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

3.4.1.2 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์โดยลดต้นทุน ครั้งที่ 2 เป็นระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบกึ่งจมชั่วคราวโดยวางขวดในระนาบเดียวกับพื้นชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเปลี่ยนภาชนะที่ใช้ในระบบไบโอรีแอกเตอร์จากขวด Duran เป็นขวดแก้ว ขนาด 7 ออนซ์

3.4.1.3 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์โดยลดต้นทุน ครั้งที่ 3 เป็นระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบกึ่งจมชั่วคราวโดยวางขวดในระนาบเดียวกับพื้นชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเช่นเดียวกับครั้งที่ 2 รวมทั้งใส่ตัวกรองอากาศต่อเข้าไปในระหว่างลมที่ออกจากปั๊มลมเข้าขวดอาหารและขวดเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียงสและมีการทำกล่องครอบปั๊มลม และติดตั้งหลอด UV ในห้องภายในกล่องโดยแบ่งส่วนเครื่องควบคุมระบบการทำงาน และขวดการเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียงสอย่างชัดเจน

3.4.2 การศึกษาความถี่ในการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นอนุเบียงส

3.4.2.1 เตรียมต้นพันธุ์อนุเบียงสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

(1) เตรียมอาหารในการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์เนื้อเยื่ออนุเบียงส โดย ซึ่งส่วนประกอบของอาหาร สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร นำมาละลายในน้ำกลั่น แล้วรวมกับสารละลายเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้ในขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)

(2) ปรับปริมาตรสารละลายอาหารด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

(3) ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างของสารละลายโดยใช้ กรดเกลือ HCL 1 N และ โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 1 N

(4) ชั่งผงวุ้น 7 กรัม เติมนลงในสารละลายอาหาร 1 ลิตร และต้มสารละลายอาหารเพื่อหลอมวุ้นให้ละลายจนหมด

(5) เทอาหารลงในขวดที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ ปิดฝาแล้วนำไปตั้งในหม้อน้ำความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15-20 นาที แล้วทิ้งไว้จนเย็น และนำไปใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

(6) ขยายต้นพันธุ์พรรณไม้น้ำสกุลอนุเบียงสโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเตรียมขวดอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ รวมทั้งอุปกรณ์ต่างๆ โดยทำความสะอาด โดยเช็ดทำความสะอาดขวดอาหารด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำเข้าตู้ปลอดเชื้อ

(7) เมื่อจะทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ถนไฟก่อนเปิดฝาเพื่อให้อปลอดเชื้อ แล้วจึงใช้ปากคิบบที่ฆ่าเชื้อด้วยการจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ถนไฟทิ้งไว้ให้เย็น คิบบชิ้นส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พรรณไม้น้ำวางบนอาหาร และกดเบาๆเพื่อให้เนื้อเยื่อสัมผัสกับอาหาร จากนั้นจึงนำไปอีกครั้ง ก่อนปิดฝา

(8) นำขวดเนื้อเยื่อไปวางบนชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่างด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์โดยมีความเข้มของแสงช่วง 2,500-3,000 ลักซ์ ประมาณ 12-16 ชั่วโมงต่อวัน

3.4.2.2 นำต้นอนุเบียดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาเพาะเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็ง และอาหารเหลว สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับฮอร์โมน BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Adenine sulfate 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนจำนวน 5 ต้น ในระบบอาหารกึ่งแข็งปริมาตร 50 มิลลิลิตร ส่วนระบบไบโอรีแอคเตอร์เลี้ยงต้นพันธุ์จำนวน 10 ต้น ในอาหารเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.4.2.3 จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีการให้แสง 2,500 ลักซ์ ช่วงการให้แสงวันละ 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

3.4.2.4 บันทึกการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อทุกๆสัปดาห์ในแต่ละชุดการทดลอง โดยนับจำนวนต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ จำนวนต้นอ่อนที่เกิดใหม่ต่อชิ้นเนื้อเยื่อ จำนวนใบต่อชิ้นเนื้อเยื่อ วัตถุประสงค์ ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวราก ชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

3.4.3 เปรียบเทียบการออกรากและจำนวนรากของต้นอนุเบียด ระหว่างการเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์

3.4.3.1 นำต้นพันธุ์อนุเบียดจากการขยายพันธุ์ในการศึกษาความถี่ในการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นอนุเบียด (การทดลองที่ 2) มาเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการเพาะเลี้ยง 2 วิธี คือ การเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์ ในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยทำการเพาะเลี้ยงต้นอนุเบียดจำนวน 5 ต้น ในระบบอาหารกึ่งแข็ง ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ส่วนระบบไบโอรีแอคเตอร์เลี้ยงต้นพันธุ์จำนวน 10 ต้น ในอาหารเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยกำหนดความถี่ในการให้อาหารเป็นความถี่ที่ทำให้ต้นอนุเบียดมีการเจริญเติบโตดีที่สุด จากการทดลองที่ 2

3.4.3.3 จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีการให้แสง 2,500 ลักซ์ ช่วงการให้แสงวันละ 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

3.4.3.4 บันทึกการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อทุกๆ สัปดาห์ในแต่ละชุดการทดลอง โดยนับจำนวนต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ จำนวนใบต่อชิ้นเนื้อเยื่อ วัตถุประสงค์ ชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

3.4.4 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอนุเบียดที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งเปรียบเทียบกับระบบไบโอรีแอคเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.1 เตรียมระบบปลูกพืชไร้ดินแบบ DFT (deep flow technique) โดยนำต้นอนุเบียงส ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง และระบบ TIB ตักรากและใบออกบางส่วน เพื่อป้องกันการเน่าของราก พันด้วยใยหิน (rock wool) ใส่งด้วยปลูก นำไปอนุบาลในกระบะ ที่คลุมด้วยพลาสติกใส หลังจากนั้นเปิดพลาสติกคลุมออกจนพรรณไม้น้ำสามารถเจริญเติบโตได้ ในสภาวะที่มีความชื้นปกติ ปลูกเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.4.4.2 คัดเลือกต้นอนุเบียงสที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ความสูงใกล้เคียงกันมาใช้ทดลอง ในระบบ DFT ที่มีสารละลายธาตุอาหาร โดยปรับสารละลายเริ่มต้นที่ระดับความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อเซนติเมตร และทุกๆ สัปดาห์ ทำการเติมสารละลายธาตุอาหาร และค่อยๆ ปรับระดับความเข้มข้นจนถึงระดับ 1.5 มิลลิกรัมต่อเซนติเมตร

3.4.4.3 สังเกตและบันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่ จำนวนต้นอ่อนต่อชั้นเนื้อเยื่อ จำนวนใบ ต่อชั้นเนื้อเยื่อ ความสูงต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเป็นระยะเวลานาน 16 สัปดาห์

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.5.1 นำข้อมูลการเจริญเติบโตของการทดลองที่ 1 มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของชุดการทดลองทางสถิติที่ระดับ ความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test จากโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3.5.2 นำข้อมูลการเจริญเติบโตจากการทดลองที่ 2 และ 3 ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Independent sample t-test ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3.6 สถานที่ทำการทดลอง

3.6.1 ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยและพัฒนาสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำจืด สถาบันวิจัยและพัฒนา ทรัพยากรประมงน้ำจืด กรมประมง

3.6.2 ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.7 ระยะเวลาในการทดลอง

เดือนมิถุนายน 2558 - เดือนสิงหาคม 2559

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์กึ่งจมชั่วคราว

4.1.1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์ในครั้งที่ 1

การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์ในครั้งที่ 1 เป็นระบบที่ใช้ขาดังในการติดตั้งขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ และขวดอาหาร พบว่าปัญหาที่พบ ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมาก เพราะต้องตั้งขาดังในทุกชุดการเพาะเลี้ยง และเมื่อเครื่องทำงานในการคั้นอาหารขึ้นไปให้ชั้นเนื้อเยื่อ บริเวณรอยต่อของท่อเชื่อมบนฝานั้นเกิดการรั่วเกิดขึ้น ทำให้อาหารซึมออกมาและเกิดการปนเปื้อน ดังนั้นจึงไม่สามารถเก็บผลการทดลองได้เนื่องจาก ทำการทดลองได้เพียง 1 สัปดาห์ เกิดการปนเปื้อนขึ้นในชุดการทดลอง และถ้าเกิดการปนเปื้อนเพียงขวดเดียวจะส่งผลให้ ขวดเลี้ยงอื่นๆ ในซ้ำเดียวกันจะมีแนวโน้มที่จะปนเปื้อนตามไปด้วย เนื่องจากลมที่ใช้ในการคั้นอาหารเป็นลมแห้งเดียวกันจึงอาจทำให้เชื้อที่ปนเปื้อนนั้นเข้าไปในซ้ำการทดลองอื่นๆ ได้ง่าย จึงมีการพัฒนาระบบครั้งที่ 2

4.1.2 การพัฒนาระบบครั้งที่ 2

การพัฒนาระบบครั้งที่ 2 เป็นระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราวโดยวางขวดในระนาบเดียวกับพื้นชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และใส่ตัวกรองอากาศต่อเข้าไปในระหว่างลมออกจากปั๊มลมเข้าขวดอาหารและขวดเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียด ในการพัฒนาระบบครั้งนี้สามารถแก้ปัญหาในเรื่องของการรั่วซึมของอาหารที่ท่อเชื่อมบริเวณฝาได้ เนื่องจากเปลี่ยนเป็นการตั้งขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ และขวดอาหารในแนวราบทั้งคู่ แต่ยังคงเกิดการปนเปื้อนอยู่ จึงส่งผลให้ไม่สามารถเก็บผลการทดลองได้จึงมีการพัฒนาระบบครั้งที่ 3 ต่อไป

4.1.3 การพัฒนาระบบครั้งที่ 3

การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์ ครั้งที่ 3 เป็นระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราวโดยวางขวดในระนาบเดียวกับพื้นชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเช่นเดียวกับครั้งที่ 2 รวมทั้งใส่ตัวกรองอากาศต่อเข้าไปในระหว่างลมที่ออกจากปั๊มลมเข้าขวดอาหารและขวดเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียด และมีการทำกล่องครอบปั๊มลม และติดตั้งหลอด ultraviolet (UV) ใให้อยู่ภายในกล่องโดยแบ่งส่วนเครื่องควบคุมระบบการทำงาน และขวดการเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียดอย่างชัดเจน การพัฒนาระบบครั้งนี้เป็นระบบที่สมบูรณ์ที่สุดโดยสามารถแก้ไขปัญหาการปนเปื้อนระหว่างการทดลองได้ และสามารถเก็บผลการทดลองได้จนครบตามที่วางแผนการทดลองไว้(รูปที่ 4.1 รูปที่ 4.2 รูปที่ 4.3)

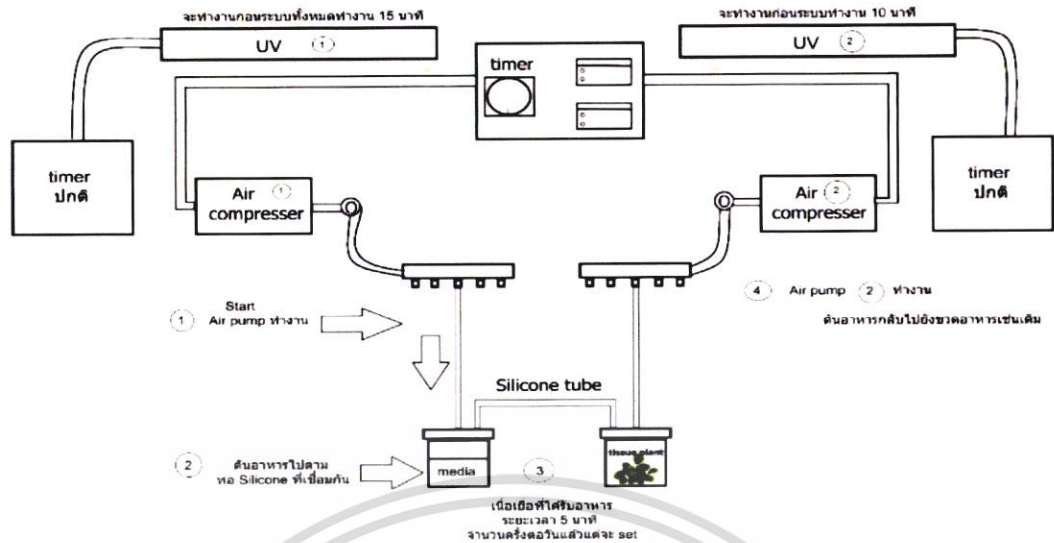


รูปที่ 4.1 ระบบไฮโดรโปนิกส์แบบจมหัวคราวในการพัฒนาระบบครั้งที่ 3



รูปที่ 4.2 ระบบไฮโดรโปนิกส์แบบจมหัวคราวในการพัฒนาระบบครั้งที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ภาพจำลองระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจุ่มชั่วคราวในการพัฒนาระบบครั้งที่ 3

4.2 การศึกษาความถี่ในการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นอนุเบียส

4.2.1 ผลของความถี่ในการให้อาหาร ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อน

จากการทดลองนำเนื้อเชื้อตายออกอนุเบียสมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB โดยศึกษาอิทธิพลของระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเชื้อในระบบอาหารกึ่งแข็ง กับระบบการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB และความถี่ในการให้อาหารของระบบ TIB ในการเพิ่มปริมาณต้นพรรณไม้น้ำสกุลอนุเบียสที่เหมาะสมในระบบ TIB โดยกำหนดจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ 3, 6 และ 12 ครั้งต่อวัน ระยะเวลาที่ให้อาหารนานครั้งละ 5 นาที เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในชุดการทดลองด้วยระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนมากที่สุด รองลงมาคือ 12 ครั้งต่อวัน, อาหารกึ่งแข็ง และ 3 ครั้งต่อวัน โดยมีจำนวนต้นอ่อนเพิ่มขึ้น 8.50 ± 0.26 , 5.58 ± 0.23 , 3.42 ± 0.14 และ 1.92 ± 0.82 ต้น/ชิ้นเนื้อเชื้อ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) โดยอนุเบียสที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน มีอัตราการเพิ่มขึ้นของจำนวนต้นอ่อนเป็น 70.83 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีจำนวนมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็ง เมื่อเปรียบเทียบจำนวนต้นอ่อนที่เพิ่มขึ้นของต้นอนุเบียส พบว่าอนุเบียสที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน มีจำนวนต้นอ่อนมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนต้นอ่อนเฉลี่ยสะสมของอนุเบียสที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารแตกต่างกัน ทุกสัปดาห์ตลอดการทดลอง 6 สัปดาห์ พบว่า ในช่วง 3 สัปดาห์แรก จำนวนต้นอ่อนเฉลี่ยของต้นอนุเบียสในทุกระบบนั้นไม่มีความแตกต่างกัน

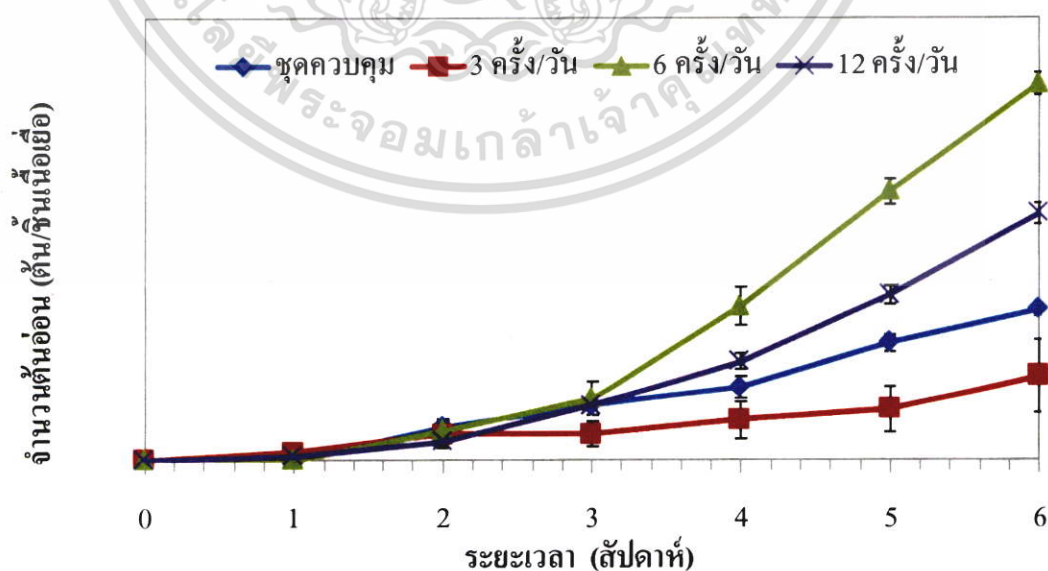
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปเผยแพร่ภายนอกการดำเนินงานใดๆ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ในสัปดาห์ที่ 4 จำนวนต้นอ่อนสะสมเฉลี่ยของต้นอนุเบียส ในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มี ความถี่ในการให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน เริ่มมีการสะสมจำนวนต้นอ่อนมากกว่า การเพาะเลี้ยง ในอาหารกึ่งแข็ง ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกันในทุกๆ สัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งแนวโน้มจำนวนต้นอ่อนเฉลี่ยของต้นอนุเบียสในทุกชุดการทดลอง จากสัปดาห์ที่เริ่มต้นการ ทดลอง มีการสะสมจำนวนต้นอ่อนเพิ่มขึ้น จนถึงสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง (ตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.4)

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบจำนวนต้นอ่อนของอนุเบียส (ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB กับ อาหารกึ่งแข็ง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	จำนวนต้นอ่อน (ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	
	ค่าเฉลี่ย±SE	การเพิ่มจำนวนต้นอ่อน (%)
อาหารกึ่งแข็ง	3.42±0.14 ^c	28.50
3	1.92±0.82 ^d	16.00
6	8.50±0.26 ^a	70.83
12	5.58±0.23 ^b	46.50

อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 4.4 เปรียบเทียบจำนวนต้นอ่อนของอนุเบียส (ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB

เอกสารนี้เป็นเอกสารกับอาหารกึ่งแข็งเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบจำนวนต้นอ่อนของอนุเบียส (ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB กับ อาหารกึ่งแข็ง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ระยะเวลา (สัปดาห์)	อาหารกึ่งแข็ง	3 ครั้ง/วัน	6 ครั้ง/วัน	12 ครั้ง/วัน
0	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
1	0.00±0.00 ^a	0.17±0.17 ^a	0.00±0.00 ^a	0.08±0.08 ^a
2	1.00±0.21 ^a	0.58±0.29 ^a	0.67±0.26 ^a	0.42±0.15 ^a
3	1.08±0.19 ^a	0.58±0.29 ^a	1.08±0.31 ^a	1.17±0.30 ^a
4	1.08±0.19 ^{ab}	0.58±0.29 ^b	1.75±0.22 ^a	1.67±0.28 ^a
5	1.33±0.14 ^b	0.58±0.29 ^c	2.42±0.23 ^a	1.67±0.28 ^b
6	3.42±0.14 ^{bc}	1.92±0.82 ^c	8.50±0.26 ^a	5.58±0.23 ^b

อักษรที่ต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.2.2 ผลของความถี่ในการให้อาหาร ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดใบ

จากการทดลองนำเนื้อเยื่อตายของอนุเบียสมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB โดยศึกษาอิทธิพลของระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบอาหารกึ่งแข็ง กับระบบการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB และความถี่ของการให้อาหารของระบบ TIB ในการเพิ่มปริมาณต้นพรธม ใต้น้ำสกุลอนุเบียสที่เหมาะสมในระบบ TIB โดยกำหนดจำนวนครั้งในการให้อาหารที่ 3, 6 และ 12 ครั้งต่อวัน ระยะเวลาที่ให้อาหารนาน 5 นาที เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในชุดการทดลองด้วยระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดใบมากที่สุด รองลงมาคือ 12 ครั้งต่อวัน, อาหารกึ่งแข็งและ 3 ครั้งต่อวัน โดยมีจำนวนใบเพิ่มขึ้น 4.75 ± 0.25 , 2.92 ± 0.19 , 2.33 ± 0.22 และ 1.75 ± 0.49 ใบตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นของต้นอนุเบียส พบว่าอนุเบียสที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน มีจำนวนใบมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนใบเฉลี่ยสะสมของต้นอนุเบียส ที่เลี้ยงในระบบการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง เปรียบเทียบกับ ระบบการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหาร 3, 6, 12 ครั้งต่อวัน ทุกสัปดาห์ ตลอดการทดลอง 6 สัปดาห์ พบว่าในช่วง 1 สัปดาห์แรก จำนวนใบ

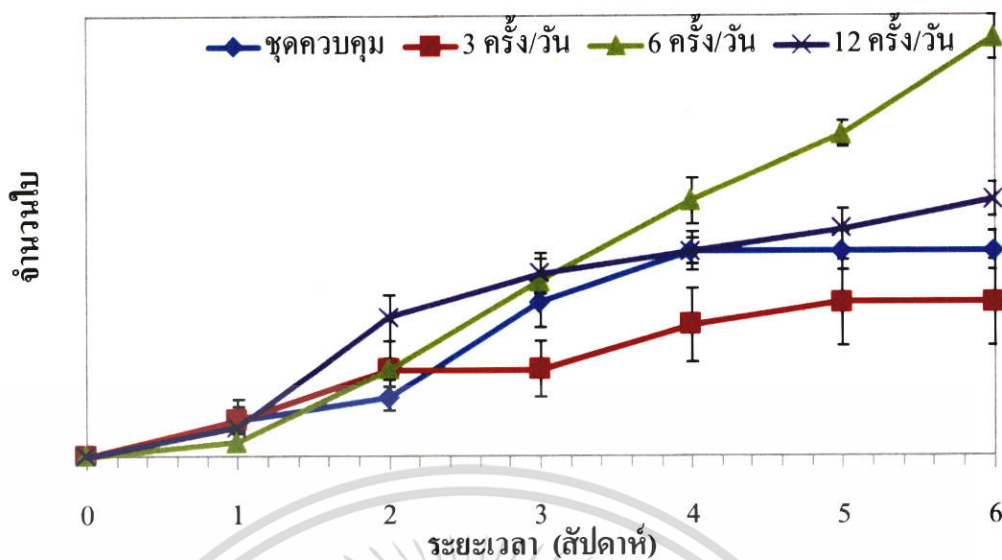
เฉลี่ยของต้นอนุเบียสในทุกระบบนั้นไม่มีความแตกต่างกัน แต่ในสัปดาห์ที่ 2 จำนวนใบ
 เอกสาร
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สะสมเฉลี่ยของต้นอนุเบียด ในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหาร ครั้งต่อวัน เริ่มมีการสะสมจำนวนใบมากกว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง ($P<0.05$) และมีความแตกต่างกันในทุกๆ สัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งแนวโน้มจำนวนใบเฉลี่ยของต้นอนุเบียด ในทุกชุดการทดลอง จากสัปดาห์ที่เริ่มต้นการทดลอง มีการสะสมจำนวนใบเฉลี่ยเพิ่มขึ้น จนถึง สัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง (ตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.5)

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบจำนวนใบของอนุเบียด (ใบ/ชิ้นเนื้อเชื้อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB กับ อาหารกึ่งแข็ง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ระยะเวลา (สัปดาห์)	อาหารกึ่งแข็ง	3 ครั้ง/วัน	6 ครั้ง/วัน	12 ครั้ง/วัน
0	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
1	0.42±0.15 ^a	0.42±0.23 ^a	0.17±0.11 ^a	0.33±0.14 ^a
2	0.67±0.14 ^b	1.00±0.33 ^{ab}	1.00±0.12 ^{ab}	1.58±0.26 ^a
3	1.75±0.28 ^{ab}	1.00±0.33 ^b	2.00±0.25 ^a	2.08±0.23 ^a
4	2.33±0.22 ^{ab}	1.50±0.42 ^b	2.92±0.26 ^a	2.33±0.14 ^{ab}
5	2.33±0.22 ^b	1.75±0.49 ^b	3.67±0.14 ^a	2.58±0.23 ^b
6	2.33±0.22 ^{bc}	1.75±0.49 ^c	4.75±0.25 ^a	2.92±0.19 ^b

อักษรที่ต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



รูปที่ 4.5 เปรียบเทียบจำนวนใบของอนุเบียส (ใบ/ชิ้นเนื้อเชื้อ) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB ที่กับอาหารกึ่งแข็ง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

4.2.3 ผลของความถี่ในการให้อาหาร ที่มีผลต่อความสูง

จากการทดลองนำเนื้อเชื้อตาของอนุเบียสมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB โดยศึกษาอิทธิพลของระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเชื้อในระบบอาหารกึ่งแข็ง กับระบบการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB และความถี่ของการให้อาหารของระบบ TIB ในการเพิ่มปริมาณต้นพรดนม น้ำสกุลอนุเบียสที่เหมาะสมในระบบ TIB โดยกำหนดความถี่ในการให้อาหารที่ 3, 6 และ 12 ครั้งต่อวัน ระยะเวลาที่ให้อาหารนาน 5 นาที เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในชุดการทดลองด้วยระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน สามารถทำให้เกิดความสูงมากที่สุด รองลงมา คืออาหารกึ่งแข็ง 12 ครั้งต่อวัน และ 3 ครั้งต่อวัน โดยมีความสูงเพิ่มขึ้น 28.14 ± 0.91 , 25.46 ± 0.51 , 24.56 ± 0.57 และ 20.33 ± 0.30 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความสูงที่เพิ่มขึ้นของต้นอนุเบียส พบว่าอนุเบียสที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน มีความสูงมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบความสูงเฉลี่ยสะสมของต้นอนุเบียส ที่เลี้ยงในระบบการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง เปรียบเทียบกับ ระบบการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหาร 3, 6, 12 ครั้งต่อวัน ทุกสัปดาห์ ตลอดการทดลอง 6 สัปดาห์ พบว่าในช่วง 1 สัปดาห์แรก ความสูงเฉลี่ยของต้นอนุเบียสในทุกระบบนั้น ไม่มีความแตกต่างกัน แต่ในสัปดาห์ที่ 2 ความสูงเฉลี่ยของต้นอนุเบียส ในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB และในอาหารกึ่งแข็ง เริ่มมีการความสูงเฉลี่ยมากกว่าการเพาะเลี้ยงแบบไบโอรีแอคเตอร์ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกันในทุกๆ สัปดาห์จนถึงสิ้นสุด

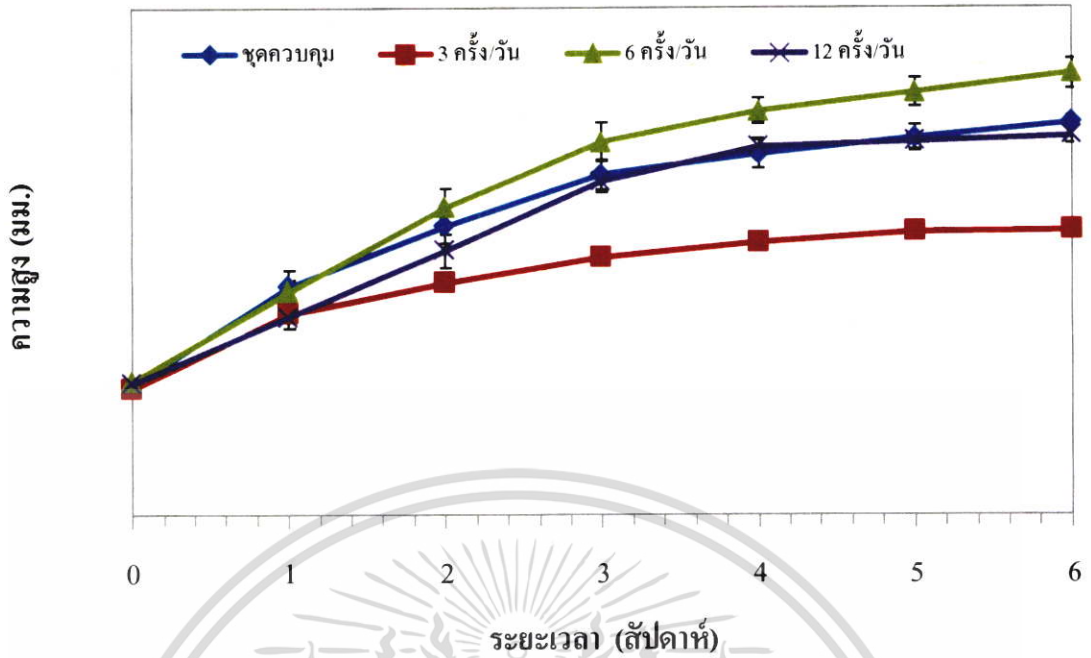
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลอง ซึ่งแนวโน้มความสูงเฉลี่ยของต้นอนุเบียดในทุกชุดการทดลอง จากสัปดาห์ที่เริ่มต้นการทดลอง มีการสะสมความสูงเฉลี่ยเพิ่มขึ้น จนถึงสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง (ตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.6)

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบความสูงของอนุเบียด (มิลลิเมตร/ชั้นเนื้อเยื่อ) เมื่อเลี้ยงใน TIB กับอาหารกึ่งแข็ง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ระยะเวลา (สัปดาห์)	อาหารกึ่งแข็ง	3 ครั้ง/วัน	6 ครั้ง/วัน	12 ครั้ง/วัน
0	7.76±0.12 ^a	7.55±0.42 ^a	7.95±0.13 ^a	7.84±0.25 ^a
1	13.57±0.96 ^a	11.97±0.82 ^a	13.25±0.75 ^a	11.76±0.61 ^a
2	17.11±1.03 ^a	13.80±0.36 ^b	18.24±1.08 ^b	15.69±0.98 ^{ab}
3	20.16±0.89 ^a	15.29±0.41 ^b	22.07±1.13 ^a	19.75±0.65 ^a
4	21.36±0.81 ^b	16.15±0.37 ^c	23.89±0.73 ^a	21.78±0.48 ^b
5	22.30±0.74 ^b	16.78±0.39 ^c	25.02±0.80 ^a	22.13±0.51 ^b
6	25.46±0.51 ^b	20.33±0.30 ^c	28.14±0.91 ^a	24.56±0.57 ^b

อักษรที่ต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 4.6 เปรียบเทียบความสูงของอนุเบียส (มิลลิเมตร/ชิ้นเนื้อเยื่อ) เมื่อเลี้ยงในระบบTIB กับ อาหารกึ่งแข็ง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

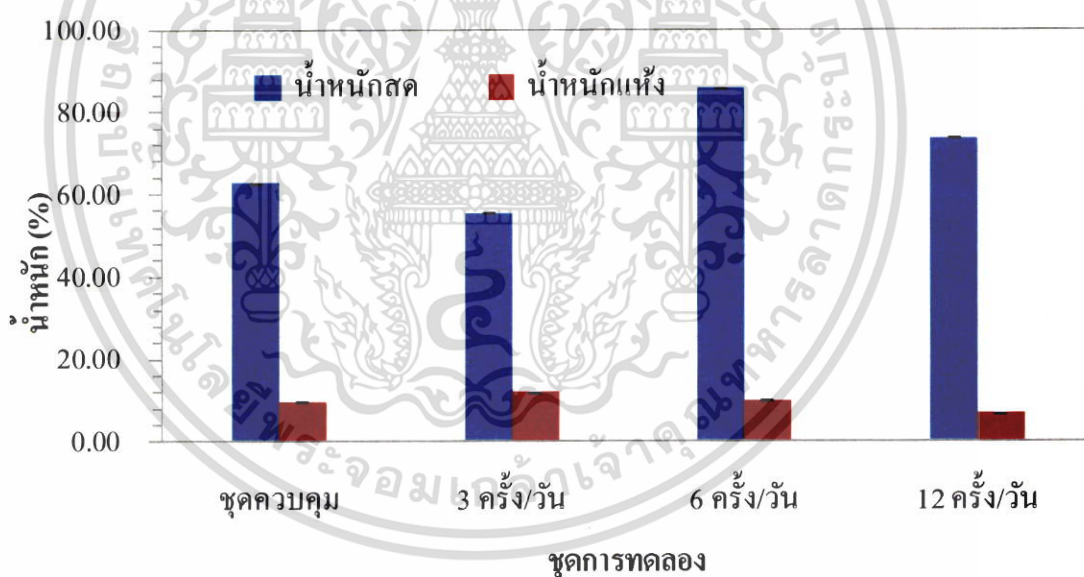
4.2.4 ผลของความถี่ในการให้อาหาร ที่มีผลต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

จากการทดลองนำเนื้อเยื่อตายอดอนุเบียสมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB โดยศึกษาอิทธิพลของระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบอาหารกึ่งแข็ง กับระบบการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB และความถี่ของการให้อาหารของระบบ TIB ในการเพิ่มปริมาณต้นพรรณไม้น้ำสกุลอนุเบียสที่เหมาะสมในระบบ TIB โดยกำหนดความถี่ในการให้อาหารที่ 3, 6 และ 12 ครั้งต่อวัน ระยะเวลาที่ให้อาหารนาน 5 นาที เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในชุดการทดลองด้วยระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน สามารถทำให้เกิดน้ำหนักสดมากที่สุด รองลงมาคือ 12 ครั้งต่อวัน, อาหารกึ่งแข็ง และ 3 ครั้งต่อวัน โดยมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 85.61 ± 0.14 , 73.49 ± 0.02 , 62.63 ± 0.05 และ 55.42 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7) อีกทั้งชุดการทดลองด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งในการให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน สามารถทำให้เกิดน้ำหนักแห้งมากที่สุด รองลงมาคือ 6 ครั้งต่อวัน, อาหารกึ่งแข็ง และ 12 ครั้งต่อวัน โดยมีน้ำหนัก 11.92 ± 0.00 , 9.69 ± 0.01 , 9.34 ± 0.00 และ 6.73 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5 และ รูปที่ 4.7) เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสด และ น้ำหนักแห้งของต้นอนุเบียส พบว่าอนุเบียสที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่การให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน มีน้ำหนักสด และ น้ำหนักแห้งมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของอนุเบียงส (เปอร์เซ็นต์) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB กับอาหารกึ่งแข็ง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	น้ำหนัก (%)	
	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
อาหารกึ่งแข็ง	62.63±0.05 ^c	9.34±0.00 ^b
3	55.42±0.02 ^d	11.92±0.00 ^a
6	85.61±0.14 ^a	9.69±0.01 ^b
12	73.49±0.02 ^b	6.73±0.00 ^c

อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



รูปที่ 4.7 เปรียบเทียบน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของอนุเบียงส (เปอร์เซ็นต์) เมื่อเลี้ยงในระบบ TIB กับอาหารกึ่งแข็ง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 ลักษณะเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียสเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (A) การเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง (B) ระบบ TIB ที่ให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน (C) ระบบ TIB ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน และ (D) ระบบ TIB ที่ให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน

4.3 เปรียบเทียบการออกรากและจำนวนรากของต้นอนูเบียส ระหว่างการเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอกเตอร์

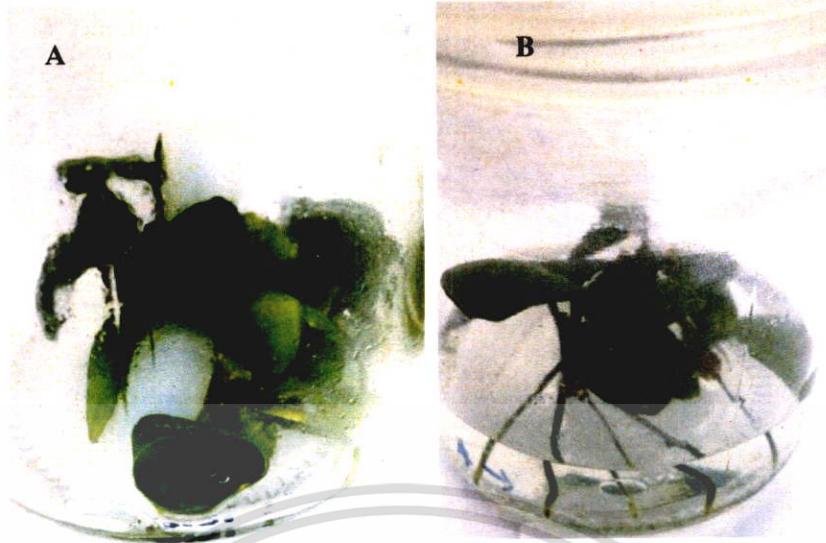
จากการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนูเบียส ระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบ TIB พบว่าต้นอนูเบียสที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็งและระบบ TIB มีการเจริญเติบโตที่มีความแตกต่างกัน โดยการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารกึ่งแข็งมีจำนวนรากเอกสารเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่หรือนำไปใช้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากกว่าระบบ TIB อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4.6) ซึ่งอนุเบียสที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารกึ่งแข็งเริ่มมีรากงอกออกจากต้นอ่อนในสัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง เนื่องจากในอาหารกึ่งแข็งนั้นมีวุ้นเป็นองค์ประกอบ เมื่อแข็งตัวสามารถยึดหยุ่นได้ดีและเหมาะกับการยึดเกาะของรากเป็นอย่างดี ทำให้พรรณไม้น้ำมีจำนวนรากมากกว่า และมีระยะเวลาออกรากเกิดขึ้นเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ซึ่งจากการทดลองนั้นพบว่าพรรณไม้น้ำสกุลอนุเบียสที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็งมีการเจริญเติบโตในระยะเวลาออกราก ในด้านจำนวนรากและความสูงดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ในขณะที่เดียวกันอนุเบียสที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีจำนวนต้นอ่อนและจำนวนใบที่มากกว่า

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะเวลาออกรากของต้นอนุเบียส ระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบ TIB

ชุดการทดลอง	จำนวนราก (ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	จำนวนต้น (ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	จำนวนใบ (ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	ความสูงต้น (มม.)
อาหารกึ่งแข็ง	4.33±0.26 ^a	0.83±0.21 ^b	0.92±0.23 ^b	14.06±0.84 ^a
ไบโอรีแอกเตอร์	2.17±0.24 ^b	2.67±0.14 ^a	3.33±0.40 ^a	11.27±0.24 ^b

อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 4.9 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนุเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบ TIB เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (A) พรรณไม้ต้นสกุลอนุเบียส *Anubias barteri* var. "broad leaf" ในระบบ TIB (B) พรรณไม้ต้นสกุลอนุเบียสในระบบการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง

4.4 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอนุเบียสที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งเปรียบเทียบกับระบบไบโอรีแอกเตอร์

จากการศึกษาอัตราการรอดและการเจริญเติบโตของ *Anubias barteri* var. "broad leaf" ที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก โดยต้นอนุเบียสที่ใช้ในการทดลองมีขนาดใกล้เคียงกัน ซึ่งพบว่าด้านการเจริญเติบโตทั้งในเรื่องของจำนวนต้นอ่อน จำนวนใบ ความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนของอัตราการรอดของอนุเบียสที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็งและระบบ TIB เมื่อนำออกสู่ระบบการปลูกมีอัตราการรอดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ อัตราการรอดที่มีสูงเนื่องมาจากความแข็งแรงของต้นพันธุ์ ถ้าต้นพันธุ์แข็งแรง ไม่เกิดความเสียหาย เมื่อนำออกปลูกสภาพแวดล้อมภายนอกจะมีอัตราการรอดสูงขึ้น จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียสในระบบ TIB ไม่ส่งผลต่อการออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของ *Anubias barteri* var. "broad leaf" ระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบ TIB เมื่อนำออกปลูกสภาพแวดล้อมภายนอก

การเจริญเติบโต	ชุดการทดลอง				T-test
	อาหารกึ่งแข็ง (เริ่มต้น)	อาหารกึ่งแข็ง (สิ้นสุดการทดลอง)	ระบบ TIB (เริ่มต้น)	ระบบ TIB (สิ้นสุดการทดลอง)	
จำนวนต้นอ่อน (ต้น/ชิ้นเนื้อเชื้อ)	0.83±0.47	3.87±0.19	2.67±0.32	4.13±0.18	NS
จำนวนใบ (ใบ/ชิ้นเนื้อเชื้อ)	2.00±0.22	5.20±0.26	2.50±0.45	6.80±0.37	NS
ความสูง (มม.)	13.18±0.23	23.41±0.98	13.01±0.62	22.91±0.93	NS
อัตราการรอด (%)	-	100±0.00	-	100±0.00	NS
น้ำหนักสด (%)	-	75.92±0.14	-	78.54±0.14	NS
น้ำหนักแห้ง (%)	-	22.85±0.09	-	25.91±0.10	NS

NS = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.5 เปรียบเทียบราคาค่าต้นทุนในการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและระบบไบโอรีแอกเตอร์

ต้นทุนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีความสำคัญต่อการตัดสินใจในการลงทุนเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งต้องคิดจากต้นทุนทั้งหมดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงจะสามารถรู้ค่าใช้จ่ายต้นทุนได้ทั้งหมด (ตารางที่ 4.8 ตารางที่ 4.9) และเมื่อคำนวณต้นทุนทั้งหมดเสร็จสิ้นแล้วจึงสามารถนำมาเปรียบเทียบต้นทุนในการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง และในระบบไบโอรีแอกเตอร์ได้

ตารางที่ 4.8 รายละเอียดต้นทุนการผลิตพรรณไม้น้ำโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็ง และระบบไบโอรีแอกเตอร์กึ่งจมชั่วคราว

ระบบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	จำนวน	ราคา/หน่วย (บาท)	รวมเป็นเงิน (บาท)	ค่าเสื่อมอุปกรณ์ (ปี)	ราคา/ปี (บาท)	จำนวนต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ
1. ระบบดั้งเดิม						
1.1. ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	68	11	748	6	125	3.42
1.2. อาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ลิตร)	24	50	1,200	-	1200	
รวม					1,325	
2. ระบบไบโอรีแอกเตอร์						
2.1 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	34	4	136	6	23	8.50
2.2. อาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	15	50	750	-	750	
2.3 ระบบควบคุมการทำงานของระบบ	1	5,000	5,000	6	834	
2.4 หลอด UV	2	600	1200	6	200	
2.5 บั้มลม AP 40	2	1,200	2400	6	400	
2.6 ท่อสแตนเลสควบคุมลม	3	20	20	6	4	
2.7 ฝาขวดเพาะเลี้ยง	34	30	1,020	6	170	
2.8 สายยางซิลิโคน	1	320	320	6	54	
2.9 ตัวกรองอากาศ	2	300	600	6	100	
รวม					2,535	

*พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 0.4 m² * ระยะเวลา 1 ปีทำการเพาะเลี้ยง 6 รอบ ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงรอบละ 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 สรุปต้นทุนและผลตอบแทนในการผลิตพรรณไม้น้ำโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจมชั่วคราว

รายการ	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบอาหาร กึ่งแข็ง (บาท/ปี)	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบ ไบโอรีแอกเตอร์ (บาท/ปี)
ต้นทุนผันแปรต่อต้น (บาท/ต้น)	1.14	1.14
ต้นทุนทั้งหมดต่อต้น (บาท/ต้น)	1.14	1.14
ปริมาณที่ผลิต (ต้น/ปี)	6,936	8,670
ราคาผลผลิตที่จำหน่าย ได้ (บาท/ต้น)	7.5	7.5
รายได้จากการผลิตต่อ ปี (บาท)	52,020	65,025
ต้นทุนทั้งหมด (บาท/ปี)	1,325	2,535
ผลตอบแทนสุทธิ	50,695	62,490

ระยะเวลา 1 ปีทำการเพาะเลี้ยง 6 รอบ ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงรอบละ 2 เดือน

ต้นทุนการพัฒนาบระบบไบโอรีแอกเตอร์ แต่เดิมใช้การเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง โดยมีราคา 1,325 บาท/พื้นที่ 0.4 m² ถ้าหากใช้ระบบไบโอรีแอกเตอร์ จะมีราคาต่อขวดเพิ่มขึ้น เนื่องจากต้องใช้อุปกรณ์เพิ่มมากขึ้น แต่สามารถทำให้ปริมาณต้นอ่อนเพิ่มขึ้น 2 เท่า ในระยะเวลาการเลี้ยงที่เท่ากัน และ ระยะเวลาในการใช้งานในอุปกรณ์ต่างๆสามารถใช้ได้ในระยะยาว เนื่องจากระบบ TIB ให้ผลผลิตได้มากกว่ารวมถึงในระบบไบโอรีแอกเตอร์สามารถเพิ่มขนาดบ่มลมเมื่อคิดรวมต้นทุนและผลตอบแทนที่ได้รับ พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB สามารถให้ผลตอบแทนได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง 11,795 บาท ถึงแม้ว่าระบบ TIB ต้องใช้ต้นทุนในการเพาะเลี้ยงมากกว่าแต่เมื่อคิดผลตอบแทนที่ได้รับนั้นได้ผลตอบแทนมากกว่า เพราะฉะนั้นระบบ TIB เป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อเพิ่มจำนวนขวดเพาะเลี้ยงได้ทำให้สามารถเพิ่มผลผลิตได้มากขึ้นไปอีกในอนาคต

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์กึ่งจมชั่วคราว

จากการทดลองพัฒนาระบบไบโอรีแอกเตอร์กึ่งจมชั่วคราวพบว่าการพัฒนาในครั้งแรกใช้พื้นที่มากในการเพาะเลี้ยง และบริเวณรอยต่อของท่อเชื่อมบนฝานั้นเกิดการรั่วเกิดขึ้น ทำให้อาหารซึมออกมาและเกิดการปนเปื้อน ซึ่งการปนเปื้อนอาจเกิดขึ้นจากการรั่วซึมของอาหารบริเวณฝา เนื่องจากอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นประกอบด้วยน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลักซึ่งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหนึ่งในการปนเปื้อนใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตเช่นเดียวกัน ดังนั้นเป็นไปได้ว่าอาจเกิดการปนเปื้อนจากบริเวณฝาขวดที่รั่วซึมและแพร่กระจายเข้าไปในขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งหลังจากนั้นมีการพัฒนาระบบครั้งที่ 2 ถึงแม้ยังเกิดปนเปื้อนอยู่ แต่ระยะเวลาที่เกิดการปนเปื้อนช้าลงกว่าครั้งที่ 1 โดยจากการสังเกตระบบก่อนการปนเปื้อนพบว่าก่อนหน้านี้จะเกิดการปนเปื้อนจะพบจุดสีขาวบริเวณสายซิลิโคนที่ต่อกับขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ และหลังจากนั้นไม่ถึง 1 สัปดาห์ขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อจะเกิดการปนเปื้อน ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากความสะอาดของลมที่ผ่านเข้ามาดันอาหารในระบบมีความสะอาดไม่มากพอ จึงมีการปรับปรุงและพัฒนาระบบครั้งที่ 3 เกิดขึ้นซึ่งเป็นระบบที่ดีที่สุด ไม่มีปัญหาในเรื่องการปนเปื้อนระหว่างการเลี้ยง โดยการทำกล่องครอบบิ๊มลม และติดตั้งหลอด UV ให้อยู่ภายในกล่องโดยแบ่งส่วนเครื่องควบคุมระบบการทำงาน และขวดการเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียดอย่างชัดเจน และหลอด UV จะมีการทำงานเพื่อฆ่าเชื้อโรคในกล่องนั้นก่อนบิ๊มลมดันอาหารเข้าไปให้เนื้อเยื่ออนุเบียดเป็นเวลานาน 15 นาที ก่อนบิ๊มลม แต่ละตัวจะทำงานรวมทั้งการใส่ตัวกรองเพิ่มเข้าไปจะช่วยกรองเชื้อต่างๆที่เป็นสาเหตุหนึ่งในการทำให้เกิดการปนเปื้อนระหว่างการเลี้ยงได้

5.2 การศึกษาความถี่ในการให้อาหารด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นอนุเบียด

จากการทดลองเปรียบเทียบระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อระหว่างระบบการเพาะในระบบอาหารกึ่งแข็ง และระบบ TIB พบว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB นั้นสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อคายออกอนุเบียดสปอร์บรอดลีย์ มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็งทั้งในด้านจำนวนต้นอ่อน จำนวนใบ ความสูงต้น และน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง เนื่องจากการเพาะเลี้ยงใน TIB นั้น เป็นระบบที่มีการหมุนเวียนอากาศภายในภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยง ต้นพันธุ์พรรณไม้น้ำจึงสามารถนำก๊าซที่เข้าสู่ในระบบไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ขึ้นด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Murch *et al.* 2004) นอกจากนี้ จากการทดลองของ Liu *et al.* (2004) และ He *et al.* (2007) ในการเพาะเลี้ยง *Artemisia judaica* และ *Hydrastis canadensis* ด้วยระบบ TIB พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนได้ 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เนื่องจากในตัวระบบนั้นจะอาศัยการทำงานของปมลมคั้นอาหารขึ้นไปสัมผัสกับต้นพันธุ์พรรณไม้ น้ำ ทำให้ต้นพันธุ์พรรณไม้น้ำได้รับปริมาณสารอาหารได้อย่างเต็มที่ และทั้งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ จึงทำให้เกิดการเจริญเติบโตได้มากขึ้น การนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบ TIB มาใช้นั้น ทำให้เกิดข้อดีหลายอย่าง อาทิ เช่น สามารถลดปัญหาเรื่องการขาดอากาศของพืชได้ เนื่องจากมีการเติมอากาศเข้าไปในระบบ ซึ่งอากาศที่เข้าไปจะผ่านการกรองด้วยตัวกรองฆ่าเชื้อ (Cui *et al.* 2014) จึงไม่ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนระหว่างการผลิต สามารถเปลี่ยนอาหารใหม่ได้ง่าย จึงลดต้นทุนการผลิตในการจ้างแรงงาน ย้ายเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ (นพมณี และคณะ, 2547) นอกจากนี้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบ TIB มีปัจจัยหลายอย่างที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญมากคือ ความถี่ในการให้อาหารที่เหมาะสม โดยจากการทดลองพบว่าความถี่ในการให้อาหารที่ทำให้ต้นอนุเบียสบาร์เทอร์บรอดลีมีการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ 6 ครั้งต่อวัน แต่ความถี่ในการให้อาหารที่ 3 ครั้งต่อวันนั้น ทำให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง เนื่องจากในธรรมชาติต้นอนุเบียสเป็นพืชน้ำตื้นต้องการความชุ่มชื้นในการเจริญเติบโต ซึ่งความถี่ในการให้อาหาร 3 ครั้งต่อวันนั้นน้อยเกินไป ทำให้อนุเบียสได้รับความชุ่มชื้นน้อย และได้รับสารอาหารน้อยจึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตเป็นอย่างมาก และหากถ้าได้รับปริมาณอาหารเหลวในระบบการทดลองมากเกินไปอาจเกิดอาการฉ่ำน้ำของต้นพันธุ์ และทำให้ต้นพันธุ์เสียหายได้ (Shaik *et al.* 2010) หรือถ้าได้รับปริมาณอาหารเหลวน้อยเกินไป อาจส่งผลให้ต้นมีขนาดเล็กผิดปกติ และใบมีการเหี่ยวแห้งเกิดขึ้นได้ (He *et al.* 2007) เช่น จากรายงานการทดลองของ Ashraf *et al.* (2013) ที่ทำการศึกษาความถี่ในการให้อาหารเนื้อเยื่อ *Chlorophytum borivilianum* ในระบบ TIB 32, 24 และ 19 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 15 นาที พบว่าความถี่ในการให้อาหารที่ 32 ครั้งต่อวัน ทำให้เกิดความเสียหายของต้นพันธุ์มากถึง 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพืชชนิดนี้มีลักษณะการเจริญเติบโตที่ไม่ชอบน้ำมากนัก เพราะฉะนั้นเมื่อได้รับอาหารเหลวจากระบบมากเกินไปจึงทำให้เกิดความเสียหายต่อต้นพันธุ์ได้ นอกจากนี้ พัชรินทร์ (2553) ศึกษากระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของอนุเบียสนานาในระบบ TIB ที่มีความถี่ของการให้อาหาร 4 ครั้งต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนมากที่สุด ส่วนรายงานการทดลองของ Zhao *et al.* (2009) ทำการศึกษาความถี่ในการให้อาหารเนื้อเยื่อ *Rhodiola crenulata* ในระบบ TIB ที่ 24, 8, 5, 4 และ 3 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 3 นาที พบว่าการให้อาหาร 5 ครั้งต่อวัน ทำให้เกิดจำนวนต้นอ่อนมากที่สุด และ Pavlov *et al.* (2006) ทำการศึกษาความถี่ในการให้อาหารเนื้อเยื่อ *Beta vulgaris* L ในระบบ TIB ที่ 32, 24, 19 และ 16 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 15 นาที พบว่าการให้อาหาร 19 ครั้งต่อวัน มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด เนื่องจากพืชชนิดนี้เป็นพืชที่มีลำต้นใต้ดิน ซึ่งลักษณะทางสรีระวิทยานั้นจำเป็นต้องมีการสะสม

สารอาหารไวน์ลำต้นใต้ดิน ดังนั้นจำเป็นที่จะต้องได้รับอาหารจำนวนครั้งมากกว่าพืชชนิดอื่น จึงสามารถเจริญเติบโตได้ดี ซึ่งในพืชแต่ละชนิดนั้นจะมีความต้องการความถี่ในการได้รับอาหารแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด และสภาวะแหล่งที่อยู่ในการเจริญเติบโตของพืชชนิดต่างๆอีกด้วย ในด้านการปรับตัวทางด้านสรีระวิทยาของพืชที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB พบว่า พืชจะมีลักษณะของใบแตกต่างจากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งซึ่งจากรายงานของ Yang and Yeh. (2008) ลักษณะใบของต้น *Calathea orbifolia* (Linden) มีสารเคลือบบริเวณผิวของใบ (wax) เกิดขึ้นมาก มีชั้นคอลเลจิม่าที่หนา และมีจำนวนปากใบน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง เนื่องจากพืชจำเป็นต้องปรับตัวให้อยู่รอดในอาหารที่มีลักษณะอาหารเหลว จึงมีการปรับโครงสร้างภายใน โดยการลดจำนวนปากใบเนื่องจากการคายน้ำน้อยลง และส่วนใบมีชั้นคอลเลจิม่าหนาขึ้นเพื่อให้มีการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มมากขึ้น เป็นการสร้างอาหารเพื่อการดำรงชีวิตอยู่รอดได้

5.3 เปรียบเทียบการออกรากและจำนวนรากของต้นอนุเบียส ระหว่างการเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบไบโอรีแอกเตอร์

จากการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะการออกรากของต้นอนุเบียสระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็งกับการใช้ระบบ TIB พบว่าในการทดลองการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับรายงานของ พัชรินทร์ (2553) ซึ่งทำการเพาะเลี้ยง *Anubias nana Engler* ด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์แบบจุ่มชั่วคราว พบว่าระยะการออกรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียส (*Anubias nana Engler*) ในระบบไบโอรีแอกเตอร์จุ่มชั่วคราวแบบขวดแผ่ นั้นในการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง ทำให้มีจำนวนรากมากกว่า ในระบบ TIB เนื่องจากในระบบการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งนั้น มีวุ้นเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเมื่อแข็งตัวนั้นมีความยืดหยุ่นได้ดีเหมาะกับการยึดเกาะของรากพรรณไม้น้ำเป็นอย่างยิ่ง ทำให้มีจำนวนรากมากกว่า และมีระยะการออกรากเกิดขึ้นเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB

5.4 เปรียบเทียบอัตราการรอด และการเจริญเติบโตของ *Anubias barteri* var. 'broad leaf' ที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งเปรียบเทียบกับระบบไบโอรีแอกเตอร์

จากการศึกษาอัตราการรอดและการเจริญเติบโตพบว่า ในด้านการเจริญเติบโตทุกปัจจัยทั้งในเรื่องของ จำนวนต้นอ่อน จำนวนใบ ความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทั้งในชุดที่เลี้ยงในระบบดั้งเดิม และเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในระบบไบโอรีแอกเตอร์ ส่วนหนึ่งเป็นมาจาก ความแข็งแรงของต้นพันธุ์ในระบบการเลี้ยง ถ้าต้นพันธุ์แข็งแรง ไม่เกิดความเสียหายเมื่อนำออกปลูกสภาพแวดล้อมภายนอกจะมีอัตราการรอดสูงขึ้น การนำต้นพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาลงปลูกในสภาวะสิ่งแวดล้อมมีประโยชน์ เนื่องจากต้นพันธุ์ที่ลงในระบบปลูกจะปลอดเชื้อโรค ทำให้ต้นพันธุ์แข็งแรงอีกทั้งได้สารอาหารอย่างเพียงพอในระบบปลูกจึงได้ผลผลิตสูงซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Winarto *et al.* (2013) ทำการศึกษาการย้ายปลูกต้นกล้วยไม้ (*Dendrobium 'Zahra FR 62'*) ออกสู่สิ่งแวดล้อม โดยต้นกล้วยไม้มีอัตราการรอดถึง 90 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากต้นพันธุ์จากระบบไบโอรีแอกเตอร์ที่นำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกนั้นมีความแข็งแรง และปลอดโรค จึงสามารถปรับตัวได้ดีเมื่อนำลงปลูก (Debnath, 2011) จากผลการทดลองสามารถบ่งบอกได้ว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียสในระบบ TIB ไม่ส่งผลต่อการออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก (Murch *et al.* 2004) แต่มีลักษณะการปรับตัวทางโครงสร้างภายในมีความแตกต่างในการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB กับระบบปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก ดังรายงานของ Hazarika (2006) พบว่าในพืชที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีลักษณะใบที่บาง และมีการเจริญของชั้น พาลีเซด น้อยกว่าการเลี้ยงระบบปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก เนื่องจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีโอกาสที่สามารถได้รับแสงเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงได้น้อยกว่าเลี้ยงในสภาพแวดล้อมภายนอก ทำให้การพัฒนาของใบในส่วน พาลีเซด และสารเคลือบใบนั้นพัฒนาได้น้อยลง

5.5 เปรียบเทียบราคาต้นทุนในการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและระบบไบโอรีแอกเตอร์

จากการศึกษาราคาต้นทุนในการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง และระบบ TIB นั้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ระบบ TIB ใช้ค่าใช้จ่ายมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง เมื่อเปรียบเทียบในระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เท่ากัน แต่สามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ได้มากถึง 2 เท่า และได้รับผลตอบแทนที่มากกว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง ถึงแม้ว่าระบบ TIB ต้องใช้อุปกรณ์ที่มากกว่า เช่น บั้มลม, ตัวกรองอากาศ, สายซิลิโคน ฯลฯ อุปกรณ์เหล่านี้ทำให้ต้นทุนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสูงขึ้น แต่อุปกรณ์ในระบบสามารถใช้ได้ระยะเวลานานไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนบ่อย เช่น ฝาขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อของระบบ TIB มีความทนทานมากกว่าฝาขวดการเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง เพราะฉะนั้นระบบ TIB ที่มีต้นทุนในการผลิตสูง จึงควรเลือกใช้กับพืชที่มีราคาสูงและหายาก เพื่อให้คุ้มกับต้นทุนที่ต้องใช้ในการผลิต (Shaik *et al.* 2010) ซึ่งในอนาคตระบบ TIB สามารถนำไปพัฒนาเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตพรรณไม้น้ำที่ใหญ่ขึ้นได้ เช่น การเพิ่มขนาดของบั้มลม เพื่อให้สามารถเพิ่มจำนวนขวดการเลี้ยงได้มากขึ้น และส่งผลให้ได้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัย

1. การพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์กึ่งจมชั่วคราวในครั้งที่ 3 ดีที่สุดเนื่องจากสามารถลดการเกิดการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยง และสามารถเพิ่มจำนวนต้นอ่อนได้มากที่สุด
2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตายอดพรรณไม้น้ำสกุลอนุเบียส *Anubias barteri* var. "broad leaf" ในระบบไบโอรีแอคเตอร์ ที่มีความถี่ในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อตายอดของอนุเบียสทั้ง 2 ชนิด มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด โดยมีจำนวนต้นอ่อน จำนวนใบ ความสูง และน้ำหนักสดมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ
3. การนำพรรณไม้น้ำสกุลอนุเบียส *Anubias barteri* var. "broad leaf" ที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารกึ่งแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์ ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก มีอัตราการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน และมีอัตราการรอดถึง 100 เปอร์เซ็นต์
4. ต้นทุนการพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์นั้นมีราคาแพงกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง แต่สามารถให้ผลตอบแทนกลับคืนมาได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง
ดังนั้นระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในเชิงพาณิชย์สำหรับพรรณไม้น้ำอนุเบียส *Anubias barteri* var. "broad leaf" คือระบบไบโอรีแอคเตอร์ โดยระบบนี้สามารถเพิ่มปริมาณและทำให้พรรณไม้น้ำอนุเบียสเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

บรรณานุกรม

- กาญจนรี พงษ์ฉวี. 2547. “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียส.” หน้า 45-52. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. กรุงเทพฯ : สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กาญจนรี พงษ์ฉวี และณัฐกร ประดิษฐ์สรรพ. 2546. “ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียส *Anubias nana* Engler, 1899.” หน้า 11-24. ใน รายงานการสัมมนาวิชาการประมง ประจำปี 2547. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นพมณี โทบุญญานนท์, ปวีณา นวมเจริญ, วิภาดา ทองทักษิณ, สุบิน ไม้ตัดจันทร์, รังสิมา อัมพวัน, ทิพย์สุดา ปุกมณี และพรศักดิ์ บุญมณี. 2547. “การพัฒนากระบวนการผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำด้วยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว.” หน้า 32-48. ใน รายงานการวิจัยของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติประจำปีงบประมาณ 2547. กรุงเทพฯ : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- นพมณี โทบุญญานนท์, รังสิมา อัมพวัน และพรศักดิ์ บุญมณี. 2549. “สนับสนุนผลงานวิจัยไม้ดอกเพื่อการส่งออก.” หน้า 24-37. ใน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ กรุงเทพฯ : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- ปรัชญา รัศมีธรรมวงศ์. 2537. การปลูกและดูแลรักษาพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์เพชรกระวี.
- พัชรินทร์ สายพัฒนา. 2553. “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนุเบียส (*Anubias nana* Engler) ในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด.” วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- รังสฤษฎ์ กาวิตะ. 2545. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักและเทคนิค. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย, กาญจนรี พงษ์ฉวี และ รัฐกัณฑ์ ประดิษฐ์สรรพ. 2555. “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมซอน *Echinodorus horemanii* Rataj.” หน้า 12-23. ใน เอกสารวิชาการสำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรุงเทพฯ : กรมประมง
- Ashraf, M., Aziz, M., Stanslas, J. and Kadir, M.A. 2013. Optimization of immersion frequency and medium substitution on microtuberization of *Chlorophytum borivilianum* in RITA system on production of saponins. **Process Biochemistry**. 48: 73–77.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Cui, H-Y., Murthy, H.N., Moh, S.H., Cui, Y.Y., Lee, E.J. and Paek, K.Y. 2014. Production of biomass and bioactive compounds in protocorm culture of *Dendrobium candidum* Wall ex Lindl using balloon type bubble bioreactors. **Industrial Crops and Products**. 53: 28-33.
- Debnath, S.C. 2011. Bioreactors and molecular analysis in berry crop micropropagation. **Canadian Journal of Plant Science**. 91: 147-157.
- Etienne, H. and Berthouly, M. 2002. Temporary immersion system in plant micropropagation. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 69(3): 215-231.
- Hazarika, B.N. 2006. Morpho-physiological disorders in in vitro culture of plants. **Scientia Horticulturae**. 108: 105-120.
- He, S.S., Liu, C.Z. and Saxena, P.K. 2007. Plant regeneration of an endangered medicinal plant *Hydrastis canadensis* L. **Scientia Horticulturae**. 113: 82-86.
- Jane, N.O. and Ernest, J. 2007. Nutrient deficiencies in lesser yam (*Dioscorea esculenta*) characterized using constant-water table sand culture. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**. 170: 273-282.
- Lee, E.J., Moh, S.H. and Paek, K.Y. 2011. Influence of inoculum density and aeration volume on biomass and bioactive compound production in bulb-type bioreactor culture of *Eleutherococcus koreanum* Nakai. **Bioresource Technology**. 102: 7165-7170.
- Lian, M.L., Chakrabarty, D. and Paek, K.Y. 2003. Growth of *Lilium* Oriental Hybrid 'Casablanca' bulblet using bioreactor culture. **Scientia Horticulturae**. 97: 41-48.
- Liu, C.Z., Murch, S.J., El-Demerdash, M. and Saxena, P.K. 2004. *Artemisia judaica* L. micropropagation and antioxidant activity. **Journal of Biotechnology**. 110: 63-71.
- Monnet, F., Vaillant, N., Hitmi, A., Vernay, P., Coudret, A. and Sallanon, H. 2002. Treatment of domestic wastewater using the nutrient film technique (NFT) to produce horticultural roses. **Water Research**. 36: 3489-3496.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Plant Physiology**. 15: 473-497.
- Murch, S., Liu, C., Romero, R.M. and Saxena, P.K. 2004. In vitro culture and temporary immersion bioreactor production of *Crescentia cujete*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 78: 63-68.

- Pavlov, A. and Bley, T. 2006. Betalains biosynthesis by *Beta vulgaris* L. hairy root culture in a temporary immersion cultivation system. **Process Biochemistry**. 41: 848-852.
- Sajc, L., Grubisic, D. and Novakovic, G.V. 2000. Bioreactors for plant engineering: an outlook for further research. **Biochemical Engineering Journal**. 4: 89-99.
- Shaik, S., Dewir, Y.H., Singha, N. and Nicholasa, A. 2010. Micropropagation and bioreactor studies of the medicinally important plant *Lessertia (Sutherlandia) frutescens* L. **South African Journal of Botany**. 76: 180-186.
- He, S.S., Liu, C.Z. and Saxena, P.K. 2007. Plant regeneration of an endangered medicinal plant *Hydrastis canadensis* L. **Scientia Horticulturae**. 113: 82-86.
- Shohael, A.M. and Paek, K.Y. 2013. Production of eleutherosides total flavonoids from somatic embryo of Siberian ginseng affected by different aeration volumn in bioreactor. **Internation Journal of Biosciences**. 3(4): 213-221.
- Sornkanok, V., Sitthithaworn, W., Vannavanich, D., Keattikunpairoj, S. and Chittasupho, C. 2010. Productivity and quality of volatile oil extracted from *Menthaspicata* and *M. arvensis* var. *piperascens* grown by a hydroponic system using the deep flow technique. **Journal of Natural Medicines**. 64:31-35.
- Thanh, N.T., Murthy, H.N. and Paek, K.Y. 2014. Optimization of ginseng cell culture in airlift bioreactors and developing the large-scale production system. **Industrial Crops and Product**. 60: 343-348.
- Winarto, B., Rachmawati, F.T., Santi, A. and Silva, J.A. 2013. Mass propagation of *Dendrobium* 'Zahra FR 62', a new hybrid used for cut flowers, using bioreactor culture. **Scientia Horticulturae**. 161: 170-180.
- Yang, S.H. and Yeh, D.M. 2008. In vitro leaf anatomy, ex vitro photosynthetic behaviors and growth of *Calathea orbifolia* (Linden) Kennedy plants obtained from semi-solid medium and temporary immersion systems. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 93: 201-207.
- Yoon, Y-J., Murthy, H.N., Hahn, E.J. and Paek, K-Y. 2007. Biomass Production of *Anoectochilus formosanus* Hataya in a Bioreactor System. **Journal of Plant Biology**. 50(5): 573-576.
- Zhao, Y., Sun, W., Wang, Ying., Saxena, P.K. and Liu, C.Z. 2009. Improved Mass Multiplication of *Rhodiola crenulata* Shoots Using Temporary Immersion Bioreactor with Forced Ventilation. **Applied Biochemistry Biotechnology**. 166: 1480-1490.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zobayeda, S.M.A., Murcha, S.J., Rupasingheb, H.P.V. and Saxena, P.K. 2004. In vitro production and chemical characterization of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L. cv 'New Stem'). **Plant Science**. 166: 333–340.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นางสาว นิชารีย์ เชียรชาติสกุล
 วัน เดือน ปีเกิด 24 มกราคม 2536 ที่กรุงเทพมหานคร
 ที่อยู่ 752 หมู่บ้านทับทอง อ.เพชรเกษม
 แขวงบางแคเหนือ เขตบางแค กรุงเทพฯ 10160 โทร.0-2454-7157
 ประวัติการศึกษา 2558 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง
 (เกียรตินิยมอันดับ1)
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้