อิทธิพลของ BA และระยะเวลาการให้อาหาร ในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ต่อการเพิ่มจำนวนของต้นแก้วหน้าม้า

Influence of BA and Duration Times of Feeding in Temporary Immersion Bioreactor on Micropropagation of *Alocasia sanderiana* Bull. *In vitro*

ณัฐพงค์ จันจุฬา*

ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เทคโนธานี ตำบลคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 10220

พิมพรรณ พิมลรัตน์

สาขาวิชาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ตำบลประชาธิปัตย์ อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12130

Nattapong Chanchula*

Expert Center of Innovative Agriculture, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Technopolis, Khlong Ha, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Pimpan Pimonrat

Division of Crop Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Prachathipat, Thanyaburi, Pathum Thani 12130

Received: April 3, 2020; Accepted: April 20, 2020

บทคัดย่อ

แก้วหน้าม้าเป็นพืชที่มีใบสวยงามเป็นเอกลักษณ์ สามารถปลูกเลี้ยงในที่ร่มและอาคารบ้านเรือนต่าง ๆ ซึ่งการขยายพันธุ์ทำได้เพียงแยกหน่อและเพาะเมล็ด การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นอีกวิธีการที่จะขยายพันธุ์ต้นแก้วหน้าม้าได้ปริมาณมากในระยะเวลาสั้น งานวิจัยนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ (1) การศึกษาผลของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณต้นแก้วหน้าม้าในอาหารแข็ง โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (6-benzyladenine) ปริมาณความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อใหม่เฉลี่ย 2.00 หน่อ ซึ่งสูงที่สุดในทุกทรีทเมนต์ และ (2) การศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดขนาดเล็กของต้นแก้วหน้าม้าในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว โดยให้อาหารเหลวสูตรดัดแปลง MS ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

*Corresponding author: lorchula@gmail.com

DOI: 10.14456/tjst.2020.68

ที่ระยะเวลาต่างกัน คือ 2, 4, 6 และ 8 นาที โดยให้วันละ 2 ครั้ง ด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ พบว่าการให้อาหารระยะเวลานาน 4 นาที ทำให้ได้ปริมาณยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 5.33 หน่อ

คำสำคัญ : แก้วหน้าม้า; ระบบไบโอรีแอคเตอร์; จมชั่วคราว

Abstract

Alocasia sanderiana Bull. is a unique plant with beautiful leaves. It grows under shade and even in the corner of various buildings. Its propagation is sucker division and seed propagation. Tissue culture is an effective technique, which can be used to multiply mass plantlet with shorter period of time. This research was divided into 2 experiments with completely randomized design. First experiment was to study effect of BA on micropropagation of *A. sanderiana* on agar medium. *A. sanderiana* were cultured on MS agar medium supplemented with various concentrations of BA (0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, and 5.0 mg/L). The results showed that the highest shoot number (2 shoots) was obtained when 5 mg/L BA was used. Second experiment was to study duration time of feeding on *A. sanderiana* shoot induction in temporary immersion bioreactor. Small *A. sanderiana* shoots were fed with 200 mL of broth MS at different periods of time (2, 4, 6, and 8 minutes) twice a day in semi-automatic cultured system. The results showed that the highest shoot number (5.33 shoots) was obtained when 4 minutes of feeding was used.

Keywords: *Alocasia sanderiana*; bioreactor; temporary immersion

1. คำนำ

เศรษฐกิจในปัจจุบันเติบโตอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะบริเวณเมืองใหญ่ ผู้คนส่วนใหญ่มักอยู่อาศัยในแนวตั้งเป็นจำนวนมาก เช่น คอนโดมิเนียม หอพัก และมักมีห้องที่อยู่อาศัยในพื้นที่จำกัด หลายคนหันมาสนใจในการดึงเอาธรรมชาติมาไว้ในห้องของตนเอง ไม่ว่าจะเป็นการจัดวางไม้กระถางที่ขนาดเล็กไว้ตามมุมห้องต่าง ๆ เพื่อสร้างพื้นที่สีเขียวให้มีความสวยงาม และสร้างความสุขให้แก่ผู้เลี้ยง ปัจจุบันมีการนำพืชหลายชนิดมาตกแต่งบ้าน หนึ่งในนั้น คือ ต้นแก้วหน้าม้า หรือแก้วสารพัดนึก (*Alocasia sanderiana* Bull.) จัดอยู่ในวงศ์ Araceae ซึ่งพืชในวงศ์นี้มีประมาณ 100 สปีชีส์ (Boyce, 2008) เป็นไม้ล้มลุก อายุหลายปี สูงได้ถึง 1.5 เมตร ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปหัวใจยาว ปลายแหลมติ่ง โคนเว้าเป็นคลื่น ใบหนาและแข็ง แผ่นใบด้านบนสีเขียวเข้ม ขอบและเส้นใบสีเขียวอมเทา ใต้ใบสีม่วงแดง เส้นกลางใบเป็นร่องตื้น ก้านใบสีน้ำตาลอมเขียว ลิ้นใบยาวประมาณ 7 เซนติเมตร โดยปกติขยายพันธุ์ด้วยการแยกหน่อ เมล็ด และหัวคอร์ม (Jo *et al*., 2008) ดังนั้นจึงมีการนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์ เพราะเป็นวิธีการขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว และปัจจุบันยังมีเทคโนโลยีใหม่ในการขยายพันธุ์พืช เช่น ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว (temporary immersion bioreactor, TIB) ซึ่งเป็นระบบการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติที่ให้อาหารเหลวแก่พืชแบบแช่ชั่วคราว เพื่อไม่ให้พืชจมในสารละลายธาตุอาหารมากเกินไป (Etienne and Berthouly, 2002) ซึ่งในระบบนี้จะทำให้พืชโตได้เร็วกว่าในอาหารแข็ง

(Escalona *et al*., 2003) เพิ่มปริมาณได้มากในระยะเวลาที่น้อยกว่าระบบเลี้ยงเดิม (Etienne and Berthouly, 2002) ช่วยลดต้นทุน ลดการฉ่ำน้ำของพืช ลดพื้นที่ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้มากถึง 80 เปอร์เซ็นต์ และที่สำคัญยังลดค่าจ้างแรงงานในการเปลี่ยนถ่ายเนื้อเยื่อ เพราะสามารถเปลี่ยนได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่ต้องมีการย้ายขวด ลดพื้นที่ ลดการใช้ภาชนะและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (นพมณี และคณะ, 2549) โดยมีการนำระบบ TIB มาเพิ่มปริมาณต้นพืชต่าง ๆ ได้แก่ อดูเบียสบาร์เทอรี่บรอดลีฟ (ณิชารีย์ และคณะ, 2562) ต้นอเมซอล (แววดาว และนพมณี, 2555) ปทุมมา (Topoonyanont *et al*., 2005) มันฝรั่ง (Karppinen *et al*., 2010) เป็นต้น

มีหลายปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตในระบบ TIB รวมทั้งจำนวนครั้งและระยะเวลาในการให้อาหาร งานวิจัยของ ณิชารีย์ (2562) ได้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนอดูเบียสบาร์เทอรี่บรอดลีฟใน TIB โดยให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 5 นาที พบว่ามีการเจริญเติบโตดีกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

แววดาว และนพมณี (2555) เพาะเลี้ยงกล้วยหอมทองใน TIB ให้อาหารเหลวทุก ๆ 4 ชั่วโมง นานครั้งละ 2 นาที โดยการผ่ายอด 4 ส่วน ร่วมกับอาหารเหลวที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดมากที่สุด

Roles และคณะ (2005) เพาะเลี้ยงกล้วย *Musa* AAB ในระบบ TIB โดยให้อาหาร 7 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 15 นาที มีอัตราการเพิ่มจำนวนต้นมากที่สุด หลักการทำงานโดยทั่วไปของระบบ TIB นั้นคือ มีภาชนะแยกระหว่างอาหารกับชิ้นส่วนของพืช แบ่งเป็น 2 ภาชนะ และเชื่อมต่อท่อให้อาหารระหว่างขวดด้วยท่อซิลิโคน โดยอาศัยแรงดันลมผลักอาหารไปและกลับไปยังชิ้นส่วนพืช โดยลมจะผ่านฟิวเตอร์กรองอากาศขนาด 0.2 ไมครอน เพื่อป้องกันการปนเปื้อน (ณิชารีย์, 2562; Alrard *et al*., 1993) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณต้นแก้วหน้าม้าในอาหารแข็ง และนำผลของ BA ที่เหมาะสมมาศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดขนาดเล็กของต้นแก้วหน้าม้าในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

ต้นแก้วหน้าม้าที่สมบูรณ์แข็งแรง งดการให้น้ำเป็นเวลานาน 3-5 วัน ก่อนตัดปลายยอด และลอกกาบออก แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ (Clorox®, 1.4 % sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นตัดแต่งเนื้อเยื่อพืชที่สัมผัสคลอรอกซ์ทิ้ง ย้ายชิ้นส่วนพืชลงสู่อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้นผง (gelrite) 2.5 กรัมต่อลิตร pH ในอาหาร 5.7 เพื่อให้ชิ้นส่วนยอดพัฒนาต่อไป

2.2 การเตรียมพืชทดลอง

2.2.1 การศึกษาผลของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณต้นแก้วหน้าม้าในอาหารแข็ง

นำชิ้นส่วนที่ปราศจากเชื้อหลังการฟอกฆ่าเชื้อ (จากต้นที่เตรียมได้จากข้อ 2.1) ที่เพาะเลี้ยงได้ 2 สัปดาห์ ตัดยอดและรากทิ้ง เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (6-benzyladenine) ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ดัดแปลงจาก Arvind *et al*., 2013) น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้นผง (gelrite) 2.5 กรัมต่อลิตร pH ในอาหาร 5.7 เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

ความเข้มแสง 60±5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 Im Philips, Thailand) 16 ชั่วโมงต่อวัน

2.2.2 การศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดขนาดเล็กของต้นแก้วหน้าม้าในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

นำต้นแก้วหน้าม้าที่ได้จากเพิ่มปริมาณในการทดลองที่ 2.2.1 ตัดแยกเป็นต้นเดี่ยว ๆ และเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลานาน 30 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60±5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 Im Philips, Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ก่อนตัดปลายยอดและรากทิ้ง และย้ายชิ้นส่วนลงในขวดไบโอรีแอคเตอร์ และให้อาหารเหลวสูตรที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2.2.1 ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน คือ 2, 4, 6 และ 8 นาที โดยให้วันละ 2 ครั้งด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ

2.3 การวางแผนการทดลอง

2.3.1 การศึกษาผลของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณต้นแก้วหน้าม้าในอาหารแข็ง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) โดยแบ่งเป็น 6 ทรีตเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 10 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังย้ายต้นอ่อน ได้แก่ จำนวนใบ จำนวนต้นที่เกิดใหม่ ความสูง ขนาดของต้นหลัก และจำนวนราก แล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS 16.0

2.3.2 การศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดขนาดเล็กของต้นแก้วหน้าม้าในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยแบ่งเป็น 4 ทรีตเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้นส่วนพืช โดยแต่ละการทดลองใช้ปริมาตรอาหาร 200 มิลลิลิตร บันทึกผลการทดลองหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์หลังย้ายต้นอ่อน ได้แก่ จำนวนต้นที่เกิดใหม่ ความสูง และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกอ แล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS 16.0

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การศึกษาผลของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณต้นแก้วหน้าม้าในอาหารแข็ง

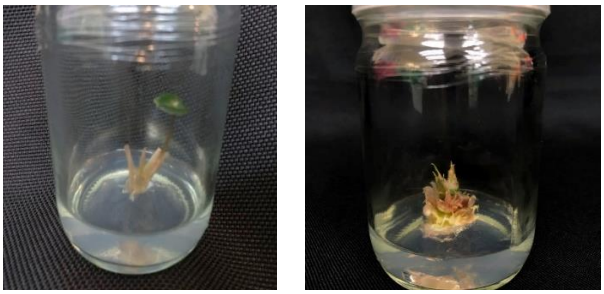
เมื่อนำชิ้นส่วนที่ปราศจากเชื้อหลังการฟอกฆ่าเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้ 2 สัปดาห์ ตัดยอดและรากทิ้ง เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (6-benzyladenine) ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้นผง (gelrite) 2.5 กรัมต่อลิตร pH ในอาหาร 5.7 เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60±5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 Im Philips, Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยบันทึกผลการทดลองหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังย้ายต้นอ่อน ได้แก่ จำนวนใบ จำนวนต้นที่เกิดใหม่ ความสูง ขนาดของต้นหลัก และจำนวนราก พบว่าจำนวนใบ จำนวนต้นที่เกิดใหม่ ความสูง และจำนวนรากมีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ขนาดของลำต้นหลักไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ คือ ต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนหน่อใหม่เฉลี่ย 2.00 หน่อ ซึ่งสูงที่สุดในทุกทรีทเมนต์ และรองลงมา คือ การเติม BA ในทุก ๆ ทรีทเมนต์ ซึ่งให้ค่าเฉลี่ยจำนวนหน่อใหม่ 0.60 หน่อ ซึ่งไม่แตกต่างจากต้นควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยของจำนวนหน่อใหม่เพียง 0.2 หน่อ ทรีทเมนต์ที่ให้จำนวนใบและความสูงเฉลี่ยสูงที่สุด คือ ต้นจากควบคุม จำนวนราก พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ BA สูงขึ้นทำให้จำนวนการเกิดราก

ลดลง เนื่องจาก BA เป็นกลุ่มของไซโตไคนินมีผลต่อการยับยั้งการเกิดราก (George and Sherrington, 1984) แต่จะไปส่งเสริมการเกิดตายอดตาข้าง (Taiz and Zeiger, 2010) และทรีทเมนต์ที่ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากมากที่สุด คือ ชุดควบคุม (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Thao และคณะ (2003) ที่ศึกษาการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อของต้น *A. micholitziana* 'Green Vellet', *A.* x *amazonica* และ *A. cuculata* พบว่า BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตรมีแนวโน้มให้จำนวนยอดมาที่สุดในทุกสายพันธุ์ และจากการทดลองพบว่าเมื่อให้ความเข้มข้นของ BA ที่มากเกินไปจะส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้ และลักษณะของต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง MS ควบคุม มีลักษณะเป็นต้นเดี่ยว ๆ ไม่มีการแตกกอเป็นจำนวนมาก (รูปที่ 1 ซ้าย) และต้นที่ได้รับ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีลักษณะการแตกกอเป็นกระจุกและมีต้นอ่อนขนาดเล็ก (รูปที่ 1 ขวา)

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของต้นแก้วหน้าม้าในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้น BA (มิลลิกรัม/ลิตร)	จำนวนใบ (ใบ)	จำนวนหน่อใหม่ (หน่อ)	ความสูง (เซนติเมตร)	ขนาดลำต้นหลัก (มิลลิเมตร)	จำนวนราก (ราก)
ควบคุม	0.80±0.45^{a}	0.20±0.45^{b}	1.00±0.24^{a}	5.26±0.82	3.80±2.77^{a}
1	0.00±0.00^{b}	0.60±0.89^{b}	0.53±0.16^{b}	6.74±2.59	0.40±0.89^{b}
2	0.20±0.45^{b}	0.60±0.89^{b}	0.61±0.30^{b}	5.94±2.80	0.00±0.00^{b}
3	0.00±0.00^{b}	0.60±0.89^{b}	0.50±0.17^{b}	7.66±2.55	0.00±0.00^{b}
4	0.00±0.00^{b}	0.60±0.89^{b}	0.52±0.71^{b}	5.54±0.76	0.00±0.00^{b}
5	0.20±0.45^{b}	2.00±0.71^{a}	0.77±0.28^{ab}	6.20±1.62	0.00±0.00^{b}
F-Test	*	*	*	ns	*

* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$); ns = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$); ตัวอักษรภาษาอังกฤษ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดย Duncan's multiple range test (DMRT)



รูปที่ 1 ลักษณะต้นอ่อนแก้วหน้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งที่เติม BA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติม BA (ซ้าย) และสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ขวา)

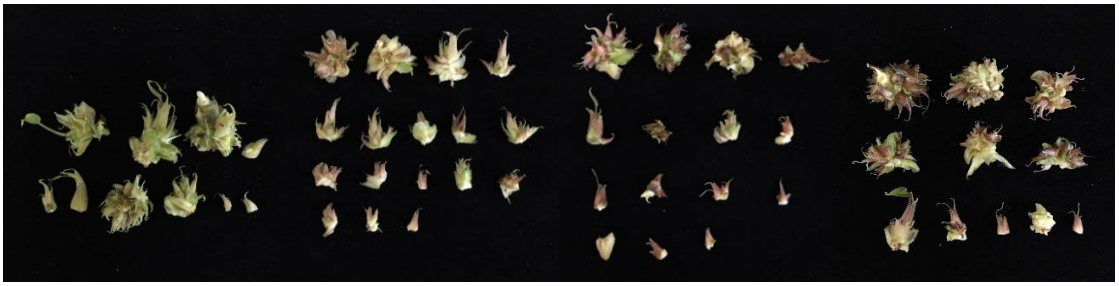
3.2 การศึกษาระยะเวลาการให้อาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดขนาดเล็กของแก้วแหน้าม้าในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

เมื่อตัดแยกต้นแก้วหน้าม้าเป็นต้นเดี่ยว ๆ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลานาน 30 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60±5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 Im Philips, Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ก่อนตัดปลายยอดและรากทิ้ง และย้ายชิ้นส่วนลงในขวดไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว และให้อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้อาหารในระยะเวลาแตกต่างกัน คือ 2, 4, 6 และ 8 นาที โดยให้วันละ 2 ครั้ง ด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ พบว่าจำนวนหน่อและความสูงมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกอไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ คือ ระยะเวลาการให้อาหารที่ 4 นาทีต่อครั้งให้จำนวนหน่อเฉลี่ยสูงที่สุดถึง 5.33 หน่อ และความสูงเฉลี่ยสูงที่สุด 25.93 มิลลิเมตร รองลงมา คือ การให้อาหาร 6 นาทีต่อครั้ง ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 6.00 หน่อ และความสูงเฉลี่ย 18.63 มิลลิเมตร (ตารางที่ 2) ซึ่งพบว่าพืชแต่ละชนิดให้ระยะเวลาการให้อาหารแตกต่างกัน เช่น ปทุมมา ใช้ระยะเวลาในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 1 นาที (Topoonyanont *et al*., 2011) อนูเบียสบาร์เทอรี่บรอดลีฟ ใช้ระยะเวลาในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที อเมซอน ใช้ระยะเวลาในการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที ในระยะการเพิ่มปริมาณต้น (แววดาว และคณะ, 2555) เนื่องจากระบบ TIB หากให้ระยะเวลาที่เหมาะสมจะส่งผลให้พืชเจริญเติบโตได้ดี เพราะมีการแลกเปลี่ยนก๊าซได้ดี เพราะเมื่อให้อาหารจะให้แรงดันอากาศเป็นตัวผลักอาหาร และในขณะเดียวกันก๊าซจะถูกแลกเปลี่ยนด้วย (แววดาว และคณะ, 2555) Roles และคณะ (2006) พบว่าการเพาะเลี้ยงพืชในระบบ TIB มีก๊าซ CO_2 และเอทิลีนสะสมในขวดเพาะเลี้ยงน้อยกว่าอาหารแข็ง ทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดีกว่า เมื่อมีการไล่อากาศดันอาหารไปเลี้ยงต้นพืช แก๊สเหล่านี้จะถูกดันออกจากขวดทิ้งไป (Ziv, 2005) ลักษณะของต้นอ่อนที่ได้มีจำนวนยอดแทรกในกาบใบเป็นนวนมาก และไม่มีอาการฉ่ำน้ำ (รูปที่ 2)

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นแก้วหน้าม้าในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ระยะเวลา (นาที)	จำนวนหน่อ (หน่อ)	ความสูง (มิลลิเมตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกอ (มิลลิเมตร)
2	3.00±0.00^{b}	18.36±1.24^{b}	18.50±1.57
4	5.33±0.57^{a}	25.93±1.04^{a}	19.86±2.72
6	5.00±0.00^{a}	19.63±2.15^{b}	19.53±1.95
8	3.66±0.57^{b}	18.76±3.42^{b}	16.60±3.96
F-test	*	*	ns

* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$); ns = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$); ตัวอักษรภาษาอังกฤษ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดย Duncan's multiple range test (DMRT)



(ก) (ข) (ค) (ง)

รูปที่ 2 ลักษณะต้นอ่อนแก้วหน้าม้าซึ่งเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ระยะเวลาการให้อาหารที่แตกต่างกันเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ : (ก) ระยะเวลาการให้อาหารเหลว 2 นาที (ข) ระยะเวลาการให้อาหารเหลว 4 นาที (ค) ระยะเวลาการให้อาหารเหลว 6 นาที และ (ง) ระยะเวลาการให้อาหารเหลว 8 นาที

4. สรุป

ปริมาณความเข้มข้นของ BA ที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณยอดของต้นแก้วหน้า คือ ปริมาณ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อย้ายเลี้ยงลงในอาหารเหลวในระบบ TIB การให้อาหารวันละ 2 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งให้เป็นระยะเวลานาน 4 นาที ทำให้ได้ปริมาณหน่อเฉลี่ยสูงที่สุด

5. รายการอ้างอิง

ณิชารีย์ เธียรชาติสกุล, นงนุช เลาหะวิสุทธ์ และสมเกียรติ สีสนอง, 2562, การใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออนูเบียสบาร์เทอรี่บรอดลีฟ *Anubias barteri* 'Broad leaf', ว.พระจอมเกล้า 37(1): 23-31.

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

แววดาว หมื่นสำราญ และนพมณี โทปุญญานนท์, 2555, การขยายพันธุ์อเมซอน (*Echinodorus* sp.) ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว, ว.วิทย.กษ. 43(1): 69-78.

Alrad, D., Cote, F. and Teisson, C., 1993, Comparision of methods of liquid medium culture for banana micropropagation, Plant Cell Tiss. Org. Cult. 32: 55-60.

Arvind, B.C.S. and Keng, C.L., 2013, *In vitro* propagation of five *Alocasia* species, Hortic. Bras. 31: 210-215.

Boyce, P.C., 2008, A review of *Alocasia* (Araceae: Colocasieae) for Thailand including a novel species and new species records from SouthWest Thailand, Thai For. Bull. (Bot.) 36: 1-17.

Etienne, H. and Berthouly, M., 2002, Temporary immersion systems in plant micro propagation, Plant Cell Tiss. Org. Cult. 69: 215-231.

Escalona, M., Samson, G., Borroto, C. and Disjardins, Y., 2003, Physiology of effects of temporary immersion bioreactors on micropropagated pineapple plantlets, *in vitro*, Cell. Dev. Biol. Plant 39: 651-656.

George, E.F. and Sherrington, P.D., 1984, Plant Propagation by Tissue Culture: Handbook

and Directory of Commercial Laboratories, Exegetics, Ltd., London.

Jo, E.A., Tewari, R.K., Hahn, E.J. and Paek, K.Y., 2008, Effect of photoperiod and light intensity on *in vitro* propagation of *Alocasia amazonica*, Plant Biotech. Rep. 2: 207-212.

Karppien, T.K., Virtanen, E. and Pirttila, A.M., 2010, Novel bioreactor technology for mass propagation of potato microtubers, Plant Cell Tiss. Org. Cult. 101: 245-249.

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

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

Roels, S., Escolona, M. and Debergh, P., 2005, Optimization of plantain (*Musa* AAB) micro propagation by temporary immersion micropropagation system, Plant Cell Tiss. Org. Cult. 82: 57-66.

Taiz, L. and Zeiger, E., 2010, Plant Physiology, 5th Ed., Sinauer Associates, Sunderland, MA.

Thao, N.T.P., Miyajima, I., Ureshino, K., Ozak, Y. and Okubo, H., 2003, Micropropagation of ornamental *Alocasia*, J. Fac. Agric. Kyushu Univ. 47: 277-282.

Topoonyanont, N., Chongsang, S., Chujum, S., Somsueb, S. and Nuamjaroen, P., 2005, Micropropagation scheme of *Curcuma alismatifolia* Gagnep, Acta Hort. 673: 705-712.

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

Ziv, M., 2005, Simple bioreactor for mass propagation plant, Plant Cell Tiss. Org. Cult. 81: 277-283.