ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมในระดับอุตสาหกรรมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว เพื่อเป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

The Study of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash Using Temporary Immersion Bioreactor as a Raw Material for the Root–knot Nematode Control Products

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2564 จำนวนเงิน 558,899 บาท

ระยะเวลาการทำวิจัย 1 ปี ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2564 – มีนาคม 2565

(รหัสโครงการ PRP6405031180)

โดย

นางสาวรังสิมา อัมพวัน	**มหาวิทยาลัยแม่โจ้**
รศ.ดร.พูนพัฒน์ พูนน้อย	**มหาวิทยาลัยแม่โจ้**
ผศ.ดร.ศรีกาญจนา คล้ายเรือง	**มหาวิทยาลัยแม่โจ้**
นางทิพย์สุดา ปุกมณี	**มหาวิทยาลัยแม่โจ้**

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมในระดับอุตสาหกรรมด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว เพื่อเป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอย เป็นโครงการย่อยที่ 3 ในโครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์สารสกัดจากต้นหญ้าแฝกหอมเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงผลิตพริกปลอดภัย”(สัญญาเลขที่ PRP6405031180) โดยได้รับทุนอุดหนุนการพัฒนาวิจัยการเกษตร จากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2564 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.วิภาพร เสรีเด่นชัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจสอบปริมาณสารสำคัญของหญ้าแฝกหอม และอาจารย์ ดร.กานต์สิรี จินดาปัณณาพัฒน์ หัวหน้าโครงการวิจัย ในการประสานงานและอำนวยความสะดวก จนงานวิจัยสำเร็จเรียบร้อยด้วยดี

คณะผู้วิจัย

10 มีนาคม 2565

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

การศึกษาระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมในระดับอุตสาหกรรมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว เพื่อเป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ โดยการศึกษาได้แบ่งตามระยะการเพาะเลี้ยง ดังนี้

การชักนำการเกิดต้นจากชิ้นส่วนตาข้างหรือต้นอ่อนหญ้าแฝกหอมที่นำมาจากธรรมชาติ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงจะเกิดการปนเปื้อนด้วยเชื้อราและแบคทีเรียสูง ดังนั้นในขั้นตอนนี้ควรใช้ PPM 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่ลงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS (1962) ที่มี BA 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อช่วยลดปริมาณการปนเปื้อนลง ได้ต้นปลอดเชื้อเพิ่มขึ้น

การเพิ่มปริมาณต้น มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องคือ สารควบคุมการเจริญเติบโต ควรใช้ BA 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีการให้อาหารทุก 4 ชั่วโมง จำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหากเป็นกลุ่มต้นจิ๋ว (ขนาดความสูงต้น <0.5 เซนติเมตร จำนวน 5 ต้นต่อชิ้นส่วน) ควรเพาะเลี้ยงจำนวน 40 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ (ขวดแก้วขนาด 700 มิลลิลิตร) ในอาหารเหลวที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะได้จำนวนต้นมากถึง 518.8 ต้นต่อภาชนะ แต่ถ้าชิ้นส่วนที่มีขนาดใหญ่ขึ้น เป็นชิ้นส่วนที่มีขนาดความสูงต้น 0.6-2.0 เซนติเมตร และ 2.1-6.0 เซนติเมตร ควรใช้ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงจำนวน 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ จะได้จำนวนต้น 686.1 และ 389.1 ต้นต่อภาชนะ ตามลำดับ ในเวลา 4 สัปดาห์

การยืดยาวของต้นและชักนำการเกิดราก ระยะนี้ควรใช้ NAA ในการชักนำการเกิดรากเนื่องจาก NAA ให้จำนวนรากมากกว่า IBA ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน โดย NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด โดยให้จำนวนรากและจำนวนต้นต่อกอมากที่สุด คือ 25.63 ราก และ 13.53 ต้น ตามลำดับ ในเวลา 2 สัปดาห์ ซึ่งเมื่อนำต้นออกปลูกต้นมีเปอร์เซ็นต์รอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ทั้งหมด และยังมีจำนวนรากและความยาวรากมากที่สุด และเมื่อใช้ NAA ความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากที่ชักนำได้ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงนานขึ้นเป็น 3 สัปดาห์ แล้วย้ายต้นออกปลูก NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากใหม่เพิ่มมากขึ้นจากเดิมถึง 19.43 รากต่อกอในเวลา 2 สัปดาห์ หลังย้ายปลูก

ส่วนสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการให้สารสำคัญในต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วย TIB นั้น พบว่า ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 30-45 วัน มีแนวโน้มให้ Total Phenolic Content (TPC) มากที่สุด โดย BA ความเข้มข้นสูง 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ TPC มากกว่า BA ความเข้มข้นต่ำ และการไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเลยนั้น (ชุดควบคุม) มีแนวโน้มให้ TPC มากกว่าการใช้ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดวัตถุดิบหญ้าแฝกหอมที่ได้จากส่วนรากยังให้ TPC สูงกว่าสารสกัดที่ได้จากส่วนต้นและใบ และใบสีน้ำตาลที่แห้งตายขณะเพาะเลี้ยงในระยะเพิ่มปริมาณต้นอายุ 1 เดือน ให้ปริมาณ TPC และ Total Polysaccharide Content (TS) สูงที่สุด คือ 6.70

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

และ 65.04 µg/mg ตามลำดับ และเมื่อนำไปสกัดด้วยวิธีการต้ม จะมีปริมาณ TPC ทั้งหมด เท่ากับ 30.61 µg/mg ซึ่งสูงกว่าพันธุ์ขอนแก่น (25.02 µg/mg) และใกล้เคียงกับพันธุ์มหาสารคาม (32.29 µg/mg) ที่ได้จากแหล่งปลูกในธรรมชาติ

พบแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงหญ้าแฝกด้วยระบบอาหารแข็ง จำแนกได้เป็น *Acinetobacter, Agrobacterium, Bacillus, Burkholderia, Kosakonia, Pantoea* และ *Rhizobium* ในขณะที่การปนเปื้อนแบคทีเรียในระบบ TIB มีสาเหตุหลักจากเชื้อ *Bacillus* การปนเปื้อนเชื้อราในระบบอาหารแข็งมีสาเหตุจาก *Fusarium* และใน TIB เป็น *Cladosporium* และ *Fusarium solani* ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์เอนโดไฟท์เป็นสาเหตุสำคัญในการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็ง การปนเปื้อนของแบคทีเรีย *Bacillus* และเชื้อรา *Cladosporium* มีแหล่งที่มาจากสภาพแวดล้อมในห้องปฏิบัติการ ส่วน *Fusarium solani* อาจเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ในหญ้าแฝก และยังพบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบได้ทุกชนิด โดย *Bacillus tequilensis* ต้านทานต่อ PPM (2 มิลลิลิตร/ลิตร) และสเตรปโตมัยซิน 0.1 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ สเตรปโตมัยซิน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ยังไม่สามารถทำลาย *Burkholderia* และ *Pantoea dispersa* ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การฆ่าเชื้อราที่ปนเปื้อนโดยใช้คาร์เบนดาซิม 1-3 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความเข้มข้นของคาร์เบนดาซิม 1 เปอร์เซ็นต์ เพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงหญ้าแฝก

คำสำคัญ: หญ้าแฝกหอม ระบบการผลิตต้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว การปนเปื้อน ไส้เดือนฝอยรากปม ผลิตภัณฑ์

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

The Study of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash Using Temporary Immersion Bioreactor as a Raw Material for the Root–knot Nematode Control Products

Abstract

The objective of this research was to study the appropriate factors for the production of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash by using Temporary Immersion Bioreactor (TIB). This studies were divided to the micropropagation culture as follows:

For the initiation stage from axillary bud or *V. zizanioides* (L.) Nash natural seedling was highly contaminated with fungi and bacteria. Therefore, 2 mg/l PPM should be used into modified MS (1962) medium supplement with 1-2 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA to reduce the contamination and increase sterile cultured.

For the multiplication stage, the related factor was growth regulators, 1-2 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA were supplemented in modified MS (1962) liquid medium for TIB by feeding every 4 hours and about 5 minutes each time in total for 6 time a day. By the way the culturing of miniature explant (<0.5 cm height and 5 shoots per clump) were cultured 40 clump in 700 ml glass vessel which was contained modified MS (1962) liquid medium supplement with 1 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA, the multiplication was 518.8 shoots/container. Likewise the higher explant (0.6-2.0 and 2.1-6.0 cm height) should be cultured 30 clump in the modified MS (1962) liquid medium supplement with 2 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA, the multiplication was 686.1 and 389.1 shoots/container, respectively within 4 weeks.

For the elongation and rooting stage, NAA should be used in order to induce root initiation due to NAA stimulated more roots than IBA at the same concentration. By means of 0.1 mg/l NAA gave the highest number of roots, moreover, the highest number of shoots per clump were 25.63 roots and 13.53 shoots per clump, respectively within 2 weeks. The plantlets were transplanted with 100% survival percentage. It was not different in 0.5 mg/l NAA but when cultured for 3 weeks and then transplanted, the number of new roots increased to 19.43 roots per clump within 2 weeks after transplanting.

According to the appropriate culturing for the bioactive compound of *V. zizanioides* (L.) Nash by using TIB, it was found that the culture period of 30-45 days was most likely to give the highest Total Phenolic Content (TPC). The concentration of 1.0 mg/l BA provided more TPC than low concentration BA and without growth regulators (controls) were more likely to provide TPC than 0.1 mg/l NAA and 0.25 mg/l BA, respectively. In

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

addition, *V. zizanioides* (L.) Nash extract from roots had higher TPC than extracts from shoots and leaves. As for the multiplication stage of 1 month age, brown leaves that occurred during cultured had the highest TPC and total polysaccharide content, which were 6.70 and 65.04 µg/mg, respectively. In addition, total TPC was 30.61 µg/mg, which was higher than natural seedling from Khon Kaen source (25.02 µg/mg) and close to Mahasarakham source (32.29 µg/mg) when extracted by boiling.

Bacterial contaminants in solid media systems for vetiver were identified as *Acinetobacter, Agrobacterium, Bacillus, Burkholderia, Kosakonia, Pantoea* and *Rhizobium,* whereas TIB systems were contaminated by *Bacillus. Fusarium* was the most fungal contaminant in solid system and fungal contaminants in TIB were *Cladosporium* and *Fusarium solani*. These results indicated that endophytes were the main source of microbial contamination in solid system. *Bacillus* and *Cladosporium* contaminated in TIB system suggested that caused by laboratory conditions, whereas *Fusarium solani* may introduced by endophytic fungus of vetiver. It was found that 6% of hydrogen peroxide could inhibit all tested bacteria. *Bacillus tequilensis* was resist to PPM (2ml/L) and 0.1% of streptomycin. Furthermore, 0.1% of streptomycin could not inhibit species of *Burkholderia* and *Pantoea dispersa.* Fungicidal activity of carbendazim (1-3%) against fungal contaminants of vetiver micropropagation was carried out. The results found that 1% of carbendazim was sufficiently concentration for growth inhibition of fungal contaminants.

Keywords: *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, micropropagation system, plant tissue culture temporary immersion bioreactor, contamination, root-knot nematode, product

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ง
สารบัญเรื่อง	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	ฑ
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์	1
ขอบเขตของการวิจัย	1
ทฤษฎีและแนวคิดที่นำมาใช้ในงานวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	9
วิธีดำเนินการวิจัย	10
ผลการวิจัย	23
วิจารณ์ผลการวิจัย	81
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	84
เอกสารอ้างอิง	89

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนปลอดเชื้อและเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนจากเชื้อราและแบคทีเรียของหญ้าแฝกหอมเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์	24
ตารางที่ 2	ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	28
ตารางที่ 3	ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการพัฒนารากและน้ำหนักสดของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	29
ตารางที่ 4	ผลของ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	32
ตารางที่ 5	ผลของ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	33
ตารางที่ 6	ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	34
ตารางที่ 7	ผลของจำนวนชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมต่อภาชนะเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	36
ตารางที่ 8	จำนวนต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อภาชนะของต้นหญ้าแฝกหอมเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนชิ้นส่วนแตกต่างกัน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	36
ตารางที่ 9	ผลของจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะร่วมกับขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโต และการเพิ่มปริมาณของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	38
ตารางที่ 10	ผลของจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะร่วมกับขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่แตกต่างกันต่อการเกิดราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	39
ตารางที่ 11	จำนวนต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต่อภาชนะของต้นหญ้าแฝกหอมเมื่อเพาะเลี้ยงด้วย TIB ที่มีจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะและขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	39

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

หน้า

ตารางที่ 12	ผลของ NAA และ IBA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนารากของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์	41
ตารางที่ 13	ผลของ NAA และ IBA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย การพัฒนาราก และการเจริญเติบโตของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ภายหลังย้ายออกปลูกในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์	43
ตารางที่ 14	ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและการพัฒนารากของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์	44
ตารางที่ 15	ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์	45
ตารางที่ 16	ผลของ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการพัฒนารากและการเจริญเติบโตของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ก่อนย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือน	46
ตารางที่ 17	ผลของ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการพัฒนารากและการเจริญเติบโตของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ก่อนย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือน	48
ตารางที่ 18	ผลของ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย การพัฒนารากและการเจริญเติบโตของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ภายหลังย้ายออกปลูกในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์	50
ตารางที่ 19	ผลของ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย จำนวนราก และความยาวรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ภายหลังย้ายต้นออกปลูกในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์	51
ตารางที่ 20	ผลของ BA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันต่อจำนวนต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB	53
ตารางที่ 21	ผลของชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนารากของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB	56
ตารางที่ 22	จำนวนต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อภาชนะของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน	57
ตารางที่ 23	จำนวนต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อภาชนะของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน	59

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

หน้า

ตารางที่ 24 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในระยะการเพิ่มปริมาณต้นอายุ 1 เดือน 60

ตารางที่ 25 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในระยะการเกิดรากที่อายุต่างๆกัน 61

ตารางที่ 26 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยง
ที่แตกต่างกัน 62

ตารางที่ 27 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compound; TPC) สารสกัดจากหญ้าแฝกหอมจากแหล่งต่างๆ เทียบกับสารมาตรฐาน gallic acid 64

ตารางที่ 28 ข้อมูลเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบในเนื้อเยื่อหญ้าแฝกที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง 66

ตารางที่ 29 การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ในการเพาะเลี้ยงหญ้าแฝกด้วยระบบ TIB 69

ตารางที่ 30 เชื้อแบคทีเรียที่มีรายงานการเป็นเอนโดไฟท์ในหญ้าแฝก 73

ตารางที่ 31 เชื้อราที่เป็นเอนโดไฟท์ในหญ้าแฝกและในสิ่งแวดล้อมห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 74

ตารางที่ 32 การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนด้วยสารฆ่าเชื้อ 75

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1	ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวระดับอุตสาหกรรมติดตั้งที่มหาวิทยาลัยแม่โจ้	5
ภาพที่ 2	(a) ต้นแม่พันธุ์หญ้าแฝกหอมที่นำมาใช้ตั้งต้นในการขยายพันธุ์ และ (b และ c) ส่วนของต้นอ่อนจากตาข้างและต้นแม่หญ้าแฝกหอมที่นำมาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อชักนำให้เกิดต้น	10
ภาพที่ 3	(a) ต้นแม่พันธุ์หญ้าแฝกหอมปลูกในกระถางที่มีส่วนโคนต้นโผล่พ้นผิววัสดุปลูก และ (b) ส่วนข้อของลำต้นชำในทรายโดยให้ต้นที่แตกใหม่โผล่พ้นผิววัสดุปลูก (c และ d) ต้นที่แตกใหม่นำมาใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้น	11
ภาพที่ 4	ต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ก่อนนำต้นไปตัดแบ่งชิ้นส่วนเพื่อทำการทดลองเพิ่มปริมาณ	12
ภาพที่ 5	ชิ้นส่วนตั้งต้นของหญ้าแฝกหอมทั้ง 3 ลักษณะ ที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณต้นด้วยระบบ TIB	12
ภาพที่ 6	(a และ b) สภาพการเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบ TIB	13
ภาพที่ 7	ลักษณะชิ้นส่วนตั้งต้นของต้นหญ้าแฝกหอมที่นำไปเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารแตกต่างกัน	15
ภาพที่ 8	ขนาดชิ้นส่วนเริ่มต้นเพื่อชักนำการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอม	16
ภาพที่ 9	แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของ Gallic acid และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm	19
ภาพที่ 10	แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของ Glucose และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 nm	20
ภาพที่ 11	ต้นอ่อนที่ได้จากการชักนำการเกิดต้น	23
ภาพที่ 12	ต้นอ่อนอายุ 1 เดือน ที่ได้จากการชักนำการเกิดต้นเจริญเติบโตพร้อมที่จะนำไปตัดย้ายเพิ่มปริมาณต้น	23
ภาพที่ 13	ต้นอ่อนกำลังแตกตาข้างในระยะการเพิ่มปริมาณต้น	24
ภาพที่ 14	ลักษณะต้นหญ้าแฝกหอม (a) ต้นปลอดเชื้อ (b) ต้นปนเปื้อนเชื้อรา และ (c) ต้นปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย	24
ภาพที่ 15	ลักษณะการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของต้นหญ้าแฝกหอม เมื่อใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นด้วยต้นเดี่ยว และต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น ในอาหารที่มี BA จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB	25

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

หน้า

ภาพที่ 16	ลักษณะการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของต้นหญ้าแฝกหอม เมื่อใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นด้วยกลุ่มต้นเล็ก 3 ต้น ในอาหารที่มี BA จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB (a) ชิ้นส่วนเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณตามปกติ และ (b) ต้นเดี่ยว ที่หลุดจากชิ้นส่วนเดิมมีการเจริญเติบโตและแตกกลุ่มต้นเล็กๆ บริเวณโคนต้น	26
ภาพที่ 17	ต้นหญ้าแฝกหอมความสูงขนาดต่างๆ ที่แยกได้จากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	26
ภาพที่ 18	ผลของ BA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่ใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นแตกต่างกัน จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	30
ภาพที่ 19	ลักษณะการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่ใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นแตกต่างกัน จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	31
ภาพที่ 20	ผลของ TDZ ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่ใช้ชิ้นส่วนต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	33
ภาพที่ 21	การเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารแตกต่างกัน	35
ภาพที่ 22	ลักษณะการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอม จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ (a) ให้อาหาร 6 ครั้ง/วัน ครั้งละ 5 นาที (b) ให้อาหาร 6 ครั้ง/วัน ครั้งละ 10 นาที (c) ให้อาหาร 12 ครั้ง/วัน ครั้งละ 1 นาที และ (d) ให้อาหาร 12 ครั้ง/วัน ครั้งละ 5 นาที	35
ภาพที่ 23	(a และ b) ลักษณะต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่มีจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะที่แตกต่างกันด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์	37
ภาพที่ 24	การเจริญเติบโต และการเพิ่มปริมาณของต้นหญ้าแฝกหอมที่มีจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะร่วมกับขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่แตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ (a และ b) ขนาดความสูงเริ่มทดลอง 0.6-2.0 เซนติเมตร. จำนวน 20 และ 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ตามลำดับ (c และ d) ขนาดความสูงเริ่มทดลอง 2.1-6.0 เซนติเมตร. จำนวน 20 และ 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ตามลำดับ	40

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

หน้า

ภาพที่ 25 (a และ b) ลักษณะต้นหญ้าแฝกหอมที่ชักนำการเกิดรากด้วย NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ก่อนย้ายออกปลูกและปรับสภาพต้นในโรงเรือน 42

ภาพที่ 26 (a และ b) ต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA และ IBA ตามความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังย้ายออกปลูกและปรับสภาพต้นในโรงเรือน นาน 2 สัปดาห์ 43

ภาพที่ 27 ลักษณะต้นและรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารแตกต่างกัน 45

ภาพที่ 28 (a และ b) ลักษณะของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ก่อนย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือน 47

ภาพที่ 29 (a และ b) ลักษณะการเจริญเติบโตและการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ก่อนย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือน 49

ภาพที่ 30 (a และ b) ลักษณะของต้นและรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ภายหลังย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์ 50

ภาพที่ 31 (a และ b) ลักษณะของต้นและรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ภายหลังย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์ 52

ภาพที่ 32 ผลของ BA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อการให้ผลผลิตหญ้าแฝกหอม 54

ภาพที่ 33 ผลผลิตหญ้าแฝกหอมที่เก็บเกี่ยวได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันด้วยระบบ TIB 55

ภาพที่ 34 ผลของชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อการให้ผลผลิตหญ้าแฝกหอม 58

ภาพที่ 35 ผลผลิตหญ้าแฝกหอมที่เก็บเกี่ยวได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกันด้วยระบบ TIB 60

ภาพที่ 36 (a) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และ (b) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มี BA ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับจำนวนวันเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน 63

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

หน้า

ภาพที่ 37	ลักษณะการปนเปื้อนของเชื้อราในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง	65
ภาพที่ 38	ลักษณะการปนเปื้อนของแบคทีเรียในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง	67
ภาพที่ 39	ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการปนเปื้อนในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง	68
ภาพที่ 40	ลักษณะการปนเปื้อนของแบคทีเรียในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB	70
ภาพที่ 41	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB	71
ภาพที่ 42	ลักษณะการปนเปื้อนของเชื้อราในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB	72
ภาพที่ 43	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราในหญ้าแฝกหอมที่ปนเปื้อนจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB	72
ภาพที่ 44	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (6%) PPM (2ml/l) และ streptomycin (0.1%)	76
ภาพที่ 45	การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium sp.* ด้วย คาร์เบนดาซิม 0 1 2 และ 3%	78
ภาพที่ 46	การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium solani* ด้วย คาร์เบนดาซิม 0 1 2 และ 3%	79
ภาพที่ 47	การยับยั้งเชื้อรา *Cladosporium* ด้วย คาร์เบนดาซิม 0 1 2 และ 3%	80
ภาพที่ 48	ระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด (ภาชนะขวดแก้ว 700 มิลลิลิตร)	88

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สัญลักษณ์และคำย่อ

>	มากกว่า
<	น้อยกว่า
ซม.	เซนติเมตร
µg/mg	ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม
%	เปอร์เซ็นต์
BA	6-benzyladenine
CRD	Completely Randomized Design
DMRT	Duncan’s New Multiple Range Test
Factorial in CRD	Factorial in Completely Randomized Design
GAE	Gallic acid equivalent
IBA	3-indolebutyric acid
mg/l	milligram per liter
ml/l	milliliter per liter
MS (1962)	Murashige and Skoog (1962)
NAA	α-Naphthaleneacetic acid
PPM	Plant Preservative mixture
SPSS	Statistical Package for the social sciences for window
TDZ	Thidiazuron
TIB	Temporary Immersion Bioreactor
TPC	Total Phenolic Content

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

การศึกษาระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมในระดับอุตสาหกรรมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวเพื่อเป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

The Study of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash Using Temporary Immersion Bioreactor as a Raw Material for the Root-knot Nematode Control Products

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในอดีตการเกษตรในประเทศไทยได้ใช้สารเคมีในการผลิตพืชเป็นจำนวนมาก ซึ่งส่งผลเสียต่อสุขภาพอนามัยและสิ่งแวดล้อมทั้งดิน น้ำ อากาศ ต้องสูญเสียเงินตราในการนำเข้าสารเคมี และเป็นค่ารักษาพยาบาลเป็นจำนวนมาก ต่อมาได้มีการตื่นตัวหันมาใส่ใจด้านสุขภาพและสิ่งแวดล้อมกันมากขึ้น โดยมีการปรับเปลี่ยนวิธีทำการเกษตรแบบอินทรีย์กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น ดังนั้นจึงมีการวิจัยเพื่อหาพืชที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหรือกำจัดศัตรูพืชที่ได้จากธรรมชาติมาใช้ทดแทนสารเคมีกันมากขึ้น

หญ้าแฝกได้ถูกค้นพบคุณสมบัติจากการทดสอบสารสกัดกับไส้เดือนฝอย แล้วพบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอย โดยหญ้าแฝกหอมมีประสิทธิภาพดีกว่าหญ้าแฝกดอนถึง 40 เปอร์เซ็นต์ และหญ้าแฝกหอมอายุ 2 เดือน มีประสิทธิภาพดีกว่าอายุ 1 ปี และ 4 ปี ดังนั้น การนำหญ้าแฝกหอมมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอย โดยนำร่องในพริกซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจจึงมีความจำเป็นอย่างมาก ซึ่งจะส่งผลดีต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม และลดการใช้สารเคมีซึ่งมีการนำเข้ามาจากต่างประเทศ ในการนำหญ้าแฝกหอมจากธรรมชาติมาเป็นวัตถุดิบ เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับควบคุมไส้เดือนฝอยนั้น จะทำให้ได้วัตถุดิบที่ไม่ได้มาตรฐานทั้งปริมาณและคุณภาพ ไม่สามารถวางแผนการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ และผลิตภัณฑ์ที่ได้อาจมีการปนเปื้อนของโลหะหนักจากสภาพแวดล้อมในการปลูก การนำเทคโนโลยีการผลิตพืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์ สามารถเพิ่มจำนวนให้มากขึ้นและเร็วขึ้นได้ แต่หากมีระบบไบโอรีแอคเตอร์มาใช้ในขบวนการผลิตร่วมด้วย จะสามารถผลิตได้จำนวนมากและรวดเร็วยิ่งขึ้น ลดค่าใช้จ่ายและขั้นตอนการผลิต ซึ่งทำให้การจัดการง่ายยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

ขอบเขตการวิจัย

โครงการวิจัยนี้เป็นการนำเอาระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวมาใช้ในการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้ภาชนะเพาะเลี้ยงเป็นขวดแก้วปริมาตร 700 มิลลิลิตร โดยทำการศึกษาปัจจัยในการเพาะเลี้ยงทั้งในระยะเพิ่มปริมาณ และออกราก พร้อมทั้งมีการตรวจสอบและจัดการการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อผลิตต้นหญ้าแฝกหอมในระดับอุตสาหกรรม **(ปีที่ 1)** สำหรับนำไปเป็นวัตถุดิบที่ได้มาตรฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอย และส่งออกปลูกทดสอบเพื่อ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ปรับใช้ในแปลงปลูกพริก โดยในขั้นตอนการขนส่งจะทำการศึกษาวิธีการขนส่งเพื่อเก็บรักษาให้คงคุณภาพของสารออกฤทธิ์ เพื่อให้สะดวกและง่ายต่อการนำไปใช้ในอนาคต **(ปีที่ 2)**

ทฤษฎีและแนวคิดที่จะนำมาใช้ในงานวิจัยและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทฤษฎีและแนวคิด

หญ้าแฝกหอมได้กลายเป็นพืชสำคัญ สามารถนำมาใช้ในการกำจัดไส้เดือนฝอยได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งจากรายงานการนำต้นหญ้าแฝกหอมมาใช้ พบว่าหญ้าแฝกหอมอายุ 2 เดือน มีประสิทธิภาพดีกว่าอายุ 1 ปี และ 4 ปี แต่การนำหญ้าแฝกหอมจากธรรมชาติมาใช้นั้น ไม่มีการควบคุมการผลิตและคุณภาพ วัตถุดิบไม่ได้มาตรฐานเนื่องจากการผลิตขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ต้องใช้พื้นที่และแรงงานมาก ยุ่งยากในการควบคุมเพื่อให้ได้อายุตามต้องการ แหล่งวัตถุดิบไม่แน่นอน วัตถุดิบอาจมีสารพิษหรือโลหะหนักตกค้าง วัตถุดิบมีน้ำหนักมาก การขนส่งทำได้ยาก สิ้นเปลืองพื้นที่และค่าใช้จ่าย ซึ่งการนำไปใช้มีความยุ่งยาก ต้องล้างทำความสะอาดหลายๆครั้ง โดยเฉพาะส่วนของรากที่อยู่ในดินลึก ซึ่งยากต่อการนำไปใช้ประโยชน์ จากปัญหาต่างๆเหล่านี้ หากนำระบบการผลิตต้นกล้าจากระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวมาใช้ น่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสม

ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว เป็นระบบผลิตพืชได้คราวละมากๆ ในระยะเวลาอันสั้น ใช้พื้นที่และแรงงานน้อย ให้จำนวนต้นต่อภาชนะมาก การลงทุนเริ่มต้นจะสูงในช่วงแรก แต่ต้นทุนจะลดลงตามระยะเวลาที่ผ่านไป ให้ราคาต่อหน่วยของพืชถูกกว่าการผลิตโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปกติ สามารถผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ มีการนำมาใช้ในการผลิตพืชอุตสาหกรรมหลายๆชนิด เช่น กล้วย อ้อย สับปะรด เป็นต้น ซึ่งหากนำมาผลิตต้นหญ้าแฝกหอม จะสามารถควบคุมคุณภาพการผลิตของวัตถุดิบได้อย่างมีประสิทธิภาพ เป็นแหล่งวัตถุดิบที่แน่นอน และป้อนวัตถุดิบได้ตลอดเวลา ปลอดสารพิษและโลหะหนักตกค้าง น้ำหนักเบาขนส่งสะดวก ล้างทำความสะอาดวัตถุดิบง่าย เนื่องจากอยู่ในอาหารเหลว สามารถวางแผนการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ระบบการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นระบบที่ได้รับการยอมรับในอุตสาหกรรมการผลิตพืชมายาวนาน ทั้งนี้เพราะระบบนี้สามารถผลิตต้นพืชพันธุ์ดีจากต้นที่ได้คัดเลือก (Elite clone) ปลอดโรค ได้ต้นปริมาณมากในระยะเวลาสั้น ในงานวิจัยนี้ต้องการจะขยายพันธุ์ต้นหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3 ที่มีคุณสมบัติในการกำจัดไส้เดือนฝอย ประเด็นต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำวิจัยเรื่องนี้ มีหลายส่วน โดยมีรายละเอียดดังนี้

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ไส้เดือนฝอย

ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมีหลายชนิด โดยชนิดที่ก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรงในประเทศไทย ได้แก่ ไส้เดือนฝอยรากปม มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Meloidogyne* spp. เป็นศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจทุกกลุ่ม เช่น พืชหัว พืชผัก ไม้ผล พืชเส้นใย ไม้ดอก ไม้ประดับ และธัญพืช เป็นต้น มีพืชอาศัยมากกว่า 2,000 ชนิด เช่น มันฝรั่ง พริก มะเขือเทศ ยาสูบ ขิง ฝรั่ง ข้าว ฝ้าย เยอบีรา ฯลฯ โดยทำให้พืชแสดงอาการแคระแกรน โตช้า ใบเหลือง เหี่ยว ผลผลิตได้รับความเสียหาย เนื่องจากระบบรากถูกทำลาย ทำให้เกิดปุ่มปมจำนวนมากที่รากพืช โดยไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายจะใช้อวัยวะที่เรียกว่า stylet แทงเข้ารากพืชและปล่อยเอ็นไซม์เพื่อทำลายเซลล์รากใหม่อ่อนนุ่ม จากนั้นตัวอ่อนไส้เดือนฝอยจะเข้าไปในรากพืชและดูดสารอาหารจากพืช ทำให้สรีรวิทยาของพืชผิดปกติ

ความเสียหายในการปลูกพริกนั้น เกษตรกรมักประสบปัญหาการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรค อาทิเช่น เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไส้เดือนฝอย โดยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชส่วนใหญ่จะมีการอาศัยอยู่ในดิน (soil borne) ซึ่งยากต่อการกำจัดและจะพบการแสดงอาการเหนือดินให้เห็นจากการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยศัตรูพืชเมื่อพริกเจริญเติบโตเต็มที่พร้อมให้ผลผลิต ซึ่งจะไม่สามารถแก้ปัญหาได้ทันท่วงทีทำให้ผลผลิตพริกมีคุณภาพและปริมาณลดลง รวมถึงเมล็ดพันธุ์ที่ได้อาจไม่สมบูรณ์ โดยทั่วไปเกษตรกรจะมีแนวทางแก้ปัญหาโดยการเปลี่ยนพื้นที่ใหม่สำหรับการปลูกพริกเมื่อพื้นนั้นพบการระบาดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ในรายงานของสถานีวิจัยพืชไร่ จังหวัดอุบลราชธานี ได้รายงานความเสียหายของพริกที่เกิดจากไส้เดือนฝอยในจังหวัดอุบลราชธานี ในหลายอำเภอ ได้ข้อมูลความเสียหายดังนี้ จังหวัดอุบลราชธานีปลูกพริก ประมาณ 7,861 ไร่ เฉลี่ยครอบครัวละ 1-3 ไร่ ส่วนใหญ่ปลูก 1 ครั้งต่อปี พบปัญหาไส้เดือนฝอยมากที่สุด และความเสียหายที่เกิดจากไส้เดือนฝอย รากปม ประมาณ 3,000 ไร่ ผลผลิตลดลง 50-100% เป็นมูลค่าถึง 50-80 ล้านบาท ซึ่งนับว่าสูงมาก แนวทาง การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมในพริกโดยลดการใช้สารเคมีจึงมีความสำคัญ (อนงค์นุช และคณะ, ม.ป.ป.)

จากผลงานวิจัยของ Jindapunnapat *et al.* (2018) ได้ศึกษาวิจัยการนำเอาหญ้าแฝกหอมมาใช้ในการกำจัดไส้เดือนฝอย โดยเริ่มตั้งแต่คัดเลือกสายพันธุ์หญ้าแฝก พบว่ากลุ่มพันธุ์หญ้าแฝกหอม (ลุ่ม) เหมาะแก่การนำมาใช้กำจัดไส้เดือนฝอยได้ ทั้งนี้ส่วนของหญ้าแฝกที่มีผลต่อการอัตราการตายของไส้เดือนฝอยรากปม และกรรมวิธีในการสกัดมีผลต่อประสิทธิภาพควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีกว่าหญ้าแฝกดอนถึง 40 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการควบคุมไส้เดือนฝอย ได้แก่ อายุของต้นหญ้าแฝก และส่วนต่างๆ ของพืช (ใบและราก) การสกัดแยกส่วนของรากและใบของหญ้าแฝกหอมที่อายุ 2 เดือน (เทียบกับอายุ 1 ปี และ 4 ปี) พบว่าสารที่ออกฤทธิ์ของหญ้าแฝกหอมที่อายุ 2 เดือนมีผลต่อไส้เดือนฝอยรากปมซึ่งกลุ่มสารที่ละลายน้ำได้มีคุณสมบัติ การเป็นอัมพาต ฆ่า และไล่ไส้เดือนฝอยรากปม และเมื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ของหญ้าแฝกหอม พบว่าสารกลุ่ม carboxylic acid สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม แต่สารกลุ่ม ketone และ alcohol มีผลน้อยในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม จากนั้นได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของการฉีดพ่นสารสกัดน้ำของใบและรากหญ้าแฝกหอมเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในรากข้าวที่อายุ 30 วันพบว่า สารสกัดน้ำทั้งสองชนิดสามารถลดจำนวนการเข้าทำลายของ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ไส้เดือนฝอยรากปมได้เทียบเท่าหรือมากกว่าสารเคมี Azibenzolar-S-methyl (BTH) ที่เป็นสารออกฤทธิ์กระตุ้นความต้านทานในพืช

ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

ระบบการผลิตต้นกล้าด้วยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ใช้อาหารแข็งเป็นวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้กันอยู่ทั่วไป แต่วิธีการเพาะเลี้ยงพืชโดยใช้อาหารแข็งนั้น ใช้ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงนานกว่าการใช้อาหารเหลว ใช้พื้นที่เพาะเลี้ยงมากเนื่องจากภาชนะอาหารแข็งสามารถบรรจุต้นได้เพียง 5-10 ต้นต่อภาชนะเท่านั้น (นพมณี และคณะ, 2548) อีกทั้งจำเป็นต้องอาศัยแรงงานที่มีความชำนาญในการตัดและการปักต้นไม้ลงในขวดที่มีอาหารเพื่อให้พยุงต้นไม้ให้ตั้งตรงได้ ซึ่งวิธีการดังกล่าวนี้ต้องอาศัยแรงงานจำนวนมากจึงทำให้มีต้นทุนในค่าแรงงานสูง นพมณี และคณะ (2538) ได้รายงานไว้ว่า ร้อยละ 40-60 ของต้นทุนการผลิตต้นเยอบีราโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งหมดเป็นค่าจ้างแรงงาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าแรงในส่วนของการตัดถ่ายชิ้นส่วนพืชลงในอาหารแข็ง เพราะต้องใช้แรงงานที่มีความชำนาญและมีความรู้ ซึ่ง Gupta (2002) ได้รายงานผลที่ใกล้เคียงกัน คือ ต้นทุนในส่วนของค่าแรงงานสูงเกินร้อยละ 60 ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด นอกจากนี้เวลานำต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งออกปลูกต้องทำการล้างวุ้นหรือเจลออกก่อน จึงทำให้ต้องใช้เวลาและแรงงานทำงานจำนวนมากและรากขาดเสียหายได้ อีกทั้งเมื่อทำการขนส่งพืชแบบปลอดเชื้อในอาหารแข็งก็ทำให้น้ำหนักสินค้ามากซึ่งจะส่งผลต่อค่าใช้จ่ายในการขนส่งสินค้าเพิ่มขึ้น

ส่วนการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลว เป็นวิธีการที่ทำให้การเตรียมอาหารและการตัดต้นไม้ลงในอาหารง่ายขึ้น คือ ไม่ต้องมีการปักต้นไม้ทีละต้นลงในอาหาร จึงทำให้สามารถลดต้นทุนด้านแรงงานได้ แต่อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารเหลวก็มีข้อเสีย คือ ทำให้ต้นพืชเกิดการฉ่ำน้ำ (hyperhydricity) ทำให้เกิดความเครียด และมีผลต่อสรีรวิทยาของพืช (Berthouly and Etiene, 2005)

ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว เป็นระบบที่ทำการพัฒนามาจากการผสมผสาน ข้อดีของระบบอาหารแข็งและอาหารเหลว โดยที่พืชและอาหารไม่ได้จมอยู่ด้วยกันตลอดเวลาด้วยการตั้งโปรแกรมเพื่อควบคุมการให้อาหารของระบบและในระหว่างที่มีการให้อาหาร ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวจะมีการแลกเปลี่ยนก๊าซ จึงทำให้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวสามารถควบคุมสภาวะในการเพาะเลี้ยงได้ดี (Ziv, 2005) ทำให้พืชที่เพาะเลี้ยงเจริญได้ดี ได้ต้นจำนวนมากในระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่เร็วขึ้น อีกทั้งวิธีการเพาะเลี้ยงและการนำต้นออกปลูกทำให้ง่ายกว่า คือ อาหารเหลวที่ใช้เตรียมง่ายกว่าอาหารแข็ง และไม่ต้องทำการตัดและปักต้นไม้ลงอาหารทีละต้น อีกทั้งเวลานำต้นออกปลูกไม่ต้องทำการล้างวุ้นหรือเจลออกก่อน จึงทำให้ลดเวลาและแรงงานในการทำงานลงได้ (Takayama and Akita, 2005) ดังนั้นจึงทำให้มีการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวในงานเพาะเลี้ยงเนื้อพืชกันอย่างแพร่หลาย

การนำระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวมาใช้ให้ได้ประสิทธิภาพนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ 1) ระยะเวลาที่เนื้อเยื่อพืชสัมผัสกับอาหารเหลว (immersion time) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดการดูดซึมธาตุอาหารของพืชรวมถึงการเกิดอาการฉ่ำน้ำของพืช ระยะเวลาที่เหมาะสมใน

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

การให้อาหารแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช 2) ปริมาตรของอาหารเหลว การใช้อาหารเหลวในปริมาณที่เหมาะสมทำให้สามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหารเหลวใหม่ 3) ชนิดและขนาดของภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควรมีขนาดเหมาะสมเพื่อไม่ให้ต้นพืชหนาแน่นเกินไปและส่งเสริมการงอกรากของต้นพืช และ 4) การระบายอากาศอย่างเพียงพอภายในระบบไบโอรีแอคเตอร์ (Etienne and Berthouly, 2002)

ภาพที่ 1 ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวระดับอุตสาหกรรมติดตั้งที่มหาวิทยาลัยแม่โจ้

นพมณี และคณะ (2555) ได้ดำเนินการขยายพันธุ์พืชต่างๆ ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวทั้งระบบที่มีชุดภาชนะขนาด 700 มิลลิลิตร จนถึงระบบที่ใช้ภาชนะ 20 ลิตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและวัตถุประสงค์ของการผลิต ระบบที่ใช้ภาชนะขนาดเล็กเหมาะสมสำหรับพืชที่มีราคาสูงและต้องการการดูแลอย่างใกล้ชิด เช่น ไม้ดอกไม้ประดับราคาสูง ได้แก่ ปทุมมา กล้วยไม้ฟาแลนนอพซิส ที่สามารถผลิตต้นได้คราวละ 200-300 ต้นต่อครั้งการผลิต ในขณะที่ชุดภาชนะขนาดใหญ่ 20 ลิตรเหมาะกับการขยายพันธุ์พืชอุตสาหกรรม ได้แก่ อ้อย สับปะรด ที่สามารถผลิตได้คราวละ 5,000 ต้นต่อรอบ เป็นต้น

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

การจัดการการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจัดเป็นปัญหาสำคัญในการทำงาน โดยการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะส่งผลเสียให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง หรืออาจทำให้พืชตายได้ (Leifert and Woodward, 1998)

การเพาะเลี้ยงพืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว จะทำในภาชนะที่มีขนาดใหญ่กว่าการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็งและอาหารเหลว โดยในภาชนะที่ใช้มีขนาดตั้งแต่ 1 ลิตรถึง 20 ลิตร เพื่อความเหมาะสมของลักษณะการเจริญของพืชที่เพาะเลี้ยง และปริมาณชิ้นส่วนพืชที่ต้องการระบบ TIB ขนาดอุตสาหกรรมมาใช้ในการขยายพันธุ์พืช เช่น อ้อย สัปปะรด กล้วย และหงส์เหิน (นพมณี และคณะ, 2555; Topoonyanont *et al*., 2017) สามารถลดต้นทุนด้านแรงงานได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตในอาหารแข็ง อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว แม้ว่าจะเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำงาน แต่เป็นระบบที่ต้องการให้อยู่ในสภาพที่ปลอดเชื้อตลอดการเพาะเลี้ยง ดังนั้นจึงไม่ต้องการให้เกิดการปนเปื้อนระหว่างการเพาะเลี้ยงซึ่งเป็นปัญหาหลักในการทำงานกับระบบนี้ ซึ่งการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะส่งผลเสียให้พืชมีอัตราการเจริญลดลง หรืออาจทำให้พืชตายได้ (Leifert and Woodward, 1998) โดยจากการวิจัย และรายงานที่มีมาก่อนพบว่าสาเหตุของการปนเปื้อนในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มาจากทั้งส่วนสิ่งแวดล้อมและจุลินทรีย์ที่เป็นเอนโดไฟท์ (endophytes) และเชื้อแบคทีเรียที่พบการปนเปื้อนบางชนิด เช่น *Bacillus circulans*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* ยังเป็นดัชนีที่แสดงให้เห็นถึงกระบวนการฆ่าเชื้อที่ไม่สมบูรณ์ได้ (Leifert and Casselles, 2001; นพมณี และคณะ, 2555) ดังนั้นในการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จึงต้องมีการควบคุมตั้งแต่กระบวนการเตรียมอาหาร การประกอบชุด การฆ่าเชื้อ ต่อเนื่องไปจนถึงระหว่างการถ่ายชิ้นส่วนพืชลงสู่ระบบ

สำหรับการปนเปื้อนในระบบ TIB ที่เกิดขึ้นหลังจากกระบวนการการฆ่าเชื้อ ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีรายงานว่า การจัดการเคลื่อนไหวของบุคลากรในห้องปฏิบัติการ การใช้เทคนิคปลอดเชื้ออย่างถูกต้องและเข้มงวด รวมถึงทักษะความชำนาญกับระบบมีผลในการลดการปนเปื้อนอย่างแท้จริง (Boxus and Terzi, 1988; Kastrop *et al*., 2007; นพมณี และคณะ, 2555; Klayraung *et al*., 2017) ดังนั้นหลังจากที่มีการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ หากมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้น และสามารถจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน จะทำให้สามารถวิเคราะห์จุดเสี่ยงที่เป็นแหล่งที่มาของการปนเปื้อน และสร้างลำดับขั้นตอนที่ถูกต้องเหมาะสมสำหรับการใช้ระบบ TIB ในการเพาะเลี้ยงพืชชนิดนั้นๆ ได้

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

การขยายพันธุ์หญ้าแฝกในสภาพปลอดเชื้อ

Le Van Be *et al.* (2008) ได้ใช้ยอดอ่อนเล็กๆ ของหญ้าแฝกจากกอที่เจริญเติบโตดีมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Murashige and Skoog (1962) ที่เติม BA 2-4 mg/l ได้จำนวนต้นมากที่สุดเฉลี่ย 8 ยอดใหม่ในระยะเวลา 6 สัปดาห์ ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณและการออกรากในขวดสามารถดำเนินการภายใต้สภาพธรรมชาติของโรงเรือนแทนห้องเพาะเลี้ยง ได้จำนวนยอดใหม่สูงกว่า 4 ซม. แปรผันตามระดับความเข้มข้น BA ในอาหาร MS โดยสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ 1) BA 0 mg/l; 2) BA 1 mg/l; 3) BA 2-4 mg/l และ 4) BA มากกว่า 4 mg/l โดยทั่วไปความเข้มข้นของ BA 2-4 mg/l ให้ผลดีที่สุดสำหรับการเพิ่มปริมาณหญ้าแฝก เฉลี่ย 8 หน่อ ภายหลังการเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ และมียอดสูง 4-5 ซม. ความเข้มข้น BA ที่สูงขึ้นไม่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากเกิดยอดเล็กๆ มากเกินไป (สูง 0.8-2 ซม.) ซึ่งไม่สามารถใช้สำหรับการออกรากหรือเพิ่มปริมาณ ในทำนองเดียวกันลักษณะกอก็แตกต่างกันตามความเข้มข้นของ BA ที่มีการเพิ่ม NAA 1 mg/l ในอาหาร MS จะส่งผลต่อจำนวนรากต่อกอ คือ เฉลี่ย 19 ราก/กอ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเลี้ยงต้นในอาหารที่มี NAA 0 mg/l ให้จำนวนราก 7.6 ราก/กอ ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลซูโครสมีผลต่อความสูงยอด โดยพบว่าการเติมน้ำตาลซูโครส 40 g/l ในอาหารจะยับยั้งความสูงของยอดเนื่องจากปริมาณน้ำตาลสูง (40 g/l) ช่วยเพิ่มการแตกยอดใหม่

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ Chitra *et al.* (2014) ได้ใช้อาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่ใช้ความเข้มข้นธาตุอาหารต่างกัน คือ 1/2 MS and 1/4 MS ที่มีความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช KIN (0.1 mg/l), GA3 (0.25 mg/l), NAA (0.5 mg/l) และ BAP (0.25 mg/l) พบว่าการแตกต้นของหญ้าแฝกดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร 1/4MS เมื่อเทียบกับ 1/2MS ที่มี KIN, GA3 และ BAP อย่างไรก็ตามการเก็บข้อมูลจำนวนหน่อใหม่ ได้บันทึกทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากการตัดย้ายต้น 2 ครั้ง โดยมีความเข้มข้นของอาหารเท่ากัน ซึ่งการเพาะเลี้ยง *Vetiveria zizanioides* ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญนี้ จะเป็นประโยชน์สำหรับการวิจัยการขยายพันธุ์และการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของ *Vetiveria zizanioides*

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ (GA3, BAP, KIN และ NAA) ต่อการเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อเจริญของหญ้าแฝก โดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมความเข้มข้นต่างๆ ของ BAP, NAA, KIN และ GA3 และไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าไม่มีการตอบสนองของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 1/4 MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเนื้อเยื่อเจริญที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/2 และ 1/4MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกันพบการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากเพาะเลี้ยงได้ 1 สัปดาห์ และการยืดยาวพบในต้นที่เลี้ยงในอาหาร 1/4 MS ส่วนการตัดย้ายต้นทำหลังจากการเพาะเลี้ยงผ่านไป 2 สัปดาห์

ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าอาหารเหลว MS ที่เติม BA 2-4 mg/l ให้ผลดีที่สุดในการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกในเวลา 6 สัปดาห์ (Le Van Be *et al*., 2008) และ Yang *et al*. (2007) รายงานว่า การเกิดต้นของหญ้าแฝกที่ดีที่สุดในอาหาร MS+BAP 1.0 mg/l ส่วนแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4-D 0.45 μM เมื่อย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่มีการเกิดเป็นต้น 65% (Prasertsongskun, 2003) จากการศึกษานี้อาหารแข็ง

1/4 MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกัน (KIN, BAP, NAA และ GA3) ให้ผลดีที่สุดสำหรับการชักนำยอดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ

มีการศึกษาระบบการขยายพันธุ์ *Chrysopogon zizanioides* ซึ่งเป็นพืช gramineae ที่มีการใช้งานที่หลากหลายรวมไปถึงการย่อยสลายของดินและน้ำที่ปนเปื้อน น้ำหอม เพื่อวัตถุประสงค์ในการรักษาโรค โดย Mejía-Márquez *et al.* (2018) ได้นำชิ้นส่วนเล็กๆ จากต้นแม่มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และมี BA 2, 4 และ 6 mg/l บ่มไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และช่วงแสงนาน 16 ชั่วโมง/วัน ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณ จากนั้นนำไปออกรากโดยใช้อาหาร MS กึ่งแข็ง MS เหลว MS ที่เติม IBA 1 mg/l ในระยะการปรับสภาพต้นมีการใช้ส่วนผสมของพีทมอส agrolita, vermiculite และ triple 17 policote พบว่าต้นจากขวดรอดตาย 60% ในขณะที่เหลือมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ อัตราการเพิ่มปริมาณสูงที่สุดคือ 18 ต้น/ชิ้นส่วน โดยมีความสูงเฉลี่ย 4.7 ซม. เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA 4 มก/ล การเพาะเลี้ยงใน MS เหลวมีปริมาณต้นมากที่สุด (เฉลี่ย 11.5 ต้น) และมีรากยาวกว่า (เฉลี่ย 9.6 ซม.) ในพืชที่ทดสอบแล้ว 100 ต้นหลังจากผ่านไป 6 สัปดาห์รอดชีวิตทั้งหมด

ได้มีการพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์หญ้าแฝก (*Vetiveria zizanioides* L.) ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อให้มีประสิทธิภาพ มีการใช้อาหารหลายรูปแบบสำหรับการชักนำการเกิดต้นและการเพิ่มปริมาณ มีการนำชิ้นส่วนมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS โดยเติม BA 2 mg/l ในขณะที่การเพิ่มจำนวนต้นใช้ BA 3 mg/l ได้จำนวนต้นเฉลี่ย 126 ต้นต่อชิ้นส่วน การใช้ BA ความเข้มข้น 3-5 mg/l ในอาหารเพิ่มปริมาณสามารถกระตุ้นยอดได้มากขึ้นแต่ได้ยอดสั้น ในทางตรงกันข้ามอาหารเพิ่มปริมาณที่เติมด้วยความเข้มข้น BA ต่ำ 1-2 mg/l ให้จำนวนต้นน้อยกว่า แต่ยอดมีความยาวมากกว่า การกระตุ้นการเกิดรากต้องเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี NAA 1 mg/l แล้วจึงปลูกหญ้าแฝกในดินปลูกภายใต้สภาวะเรือนโรง ด้วยวิธีการที่กล่าวมาข้างต้นทำให้สามารถทำการขยายพันธุ์หญ้าแฝกได้จำนวนมากด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Widoretno *et al.*, 2017)

ประสิทธิภาพการเกิดต้นสามารถทำได้ด้วยการเพิ่มออกซินและไซโตไคนินที่ความเข้มข้นต่างกันในอาหาร โดยพบว่าความถี่สูงสุดของการชักนำการเกิดแคลลัส คือ 90 และ 85% เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม NAA 2 mg/l, BAP 1 mg/l (CIM2) และในอาหาร MS ที่เติม NAA 2 mg/l และ Kinetin 1 mg/l (CIM5) ตามลำดับ (Sompornpailin and Khunchuay, 2016) เมื่อเพาะเลี้ยงต่อในอาหารชักนำการเกิดต้นที่มี NAA 1 mg/l และ BAP 2 mg/l (PRM1) แคลลัสสามารถเกิดต้นได้สูงถึง 80% สำหรับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงใน CIM2 และ 85% สำหรับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงใน CIM5 ความเข้มข้น BAP ต่ำ ใน CIM1 (NAA 2 mg/l และ BAP 0.5 mg/l) ส่งผลให้ประสิทธิภาพการเกิดต้นต่ำและได้ยอดต่อแคลลัสน้อยกว่า รวมถึงอาหารชักนำการเกิดต้น PRM3 ที่มีไซโตไคนินสูง (BAP 2 mg/l และ KInetin 2 mg/l) ด้วย อย่างไรก็ตามแคลลัสที่เพาะเลี้ยงใน CIM2 ที่ไม่มี Kinetin แต่มีระดับ BAP ที่เหมาะสมยังคงชักนำการเกิดต้นใหม่ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงเมื่ออาหาร PRM2 และ PRM3 มี Kinetin 1 และ 2 mg/l ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันเมื่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงใน CIM5 ที่ไม่มี BAP แต่มี Kinetin ต้นจะเกิดขึ้นในอาหาร PRM1 ที่มี BAP เพียง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

อย่างเดียว ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เฉพาะเจาะจงในอาหารที่มีความเข้มข้นของ NAA และ BAP หรือ Kinetin ที่เหมาะสมส่งผลให้มีจำนวนต้นมาก โดย BAP และ Kinetin ทำงานร่วมกันเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการเกิดต้นสูง

อัตราส่วนที่เหมาะสมของออกซินและไซโตไคนินมีความจำเป็นสำหรับการชักนำแคลลัสและการเกิดต้นพืช อัตราส่วนนี้เป็นหน้าที่สำคัญที่เกี่ยวข้องในการส่งเสริมการแบ่งเซลล์และการแพร่กระจายในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในงานวิจัยนี้ Khunchuay and Sompornpailin (2015) ใช้ตาที่ซอกใบของต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อของ *Vetiveria nemoralis* A. Camus cv Roiet มาชักนำแคลลัส โดยเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีออกซินและไซโตไคนินร่วมกัน พบว่าความถี่สูงสุดของการชักนำแคลลัสเกิดขึ้นในอาหาร MS ที่เติม NAA 2 mg/l และ Kinetin 1 mg/l สูง 62.5% แคลลัสที่ได้ถูกตัดย้ายไปเลี้ยงในอาหารชักนำการเกิดต้นสูตร MS ที่มี NAA 1 mg/l และ BAP 2 mg/l) พบการเกิดต้นสูง 58.33% และมีจำนวนต้นต่อแคลลัส 7.1 ต้น

ประโยชน์ที่จะได้รับจากผลงานวิจัย

1. ได้ระบบการผลิตหญ้าแฝกหอมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวภาชนะขวดแก้วขนาด 700 มิลลิลิตร
2. ได้ต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้มาตรฐานการผลิตในระดับอุตสาหกรรม

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

วิธีดำเนินการวิจัย

กิจกรรมที่ 1. การชักนำการเกิดต้นหญ้าแฝกหอม

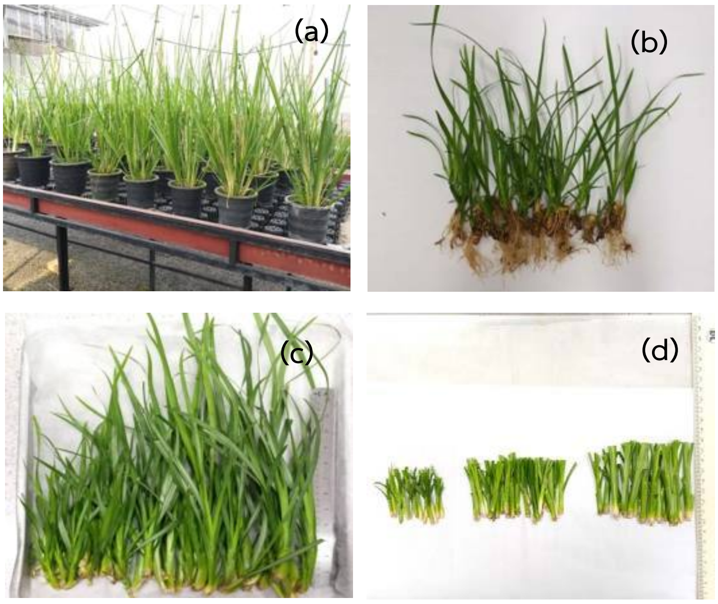
วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีการที่ 1 นำต้นหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3 ทั้งในส่วนของต้นอ่อนจากตาข้างและต้นแม่จากธรรมชาติ (ภาพที่ 2) มาล้างทำความสะอาดและเช็ดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แล้วตามด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ลอกกาบใบออกและตัดแยกชิ้นส่วนให้มีขนาดเล็กลง แช่ด้วย Streptomycin 0.2 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 ชั่วโมง และยาป้องกันกำจัดเชื้อรา Carbendazim 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที จากนั้นทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอคิวริคคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที และฟอกฆ่าเชื้อซ้ำอีกครั้งด้วยคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างออกด้วยน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS (1962) ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม Plant Preservative Mixture (PPM) 0 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

ภาพที่ 2 (a) ต้นแม่พันธุ์หญ้าแฝกหอมที่นำมาใช้ตั้งต้นในการขยายพันธุ์ และ (b และ c) ส่วนของต้นอ่อนจากตาข้างและต้นแม่หญ้าแฝกหอมที่นำมาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อชักนำให้เกิดต้น

วิธีการที่ 2 นำชิ้นส่วนต้นอ่อนจากการแตกตาข้างของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการปลูกต้นแม่ลงกระถางโดยให้ส่วนของโคนต้นโผล่พ้นผิววัสดุปลูก และจากการชำข้อส่วนโคนของลำต้นในทราย โดยให้ต้นที่แตกใหม่จากข้อโผล่พ้นวัสดุปลูก (ภาพที่ 3a-3d) มาใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นในการฟอกฆ่าเชื้อ โดยผ่านขั้นตอนการล้างด้วยน้ำไหลผ่าน เช็ดทำความสะอาดด้วย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แช่ด้วยยาป้องกันกำจัดเชื้อรา Carbendazim 0.2 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที และคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างออกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (1962) ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 3 (a) ต้นแม่พันธุ์หญ้าแฝกหอมปลูกในกระถางที่มีส่วนโคนต้นโผล่พ้นผิววัสดุปลูก และ (b) ส่วนข้อของลำต้นชำในทรายโดยให้ต้นที่แตกใหม่โผล่พ้นผิววัสดุปลูก (c และ d) ต้นที่แตกใหม่นำมาใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้น

กิจกรรมที่ 2 ศึกษาปัจจัยการเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด (TIB)

2.1 การเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบ TIB

2.1.1 ผลของ BA ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ภาชนะขวดแก้ว 700 มิลลิลิตร

วิธีดำเนินการวิจัย

นำต้นหญ้าแฝกหอมจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็ง มาเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด (TIB) ด้วยอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 4 สัปดาห์ (ภาพที่ 4) จากนั้นจึงนำต้นที่ได้มาตัดแบ่งชิ้นส่วนออกเป็น 3 ลักษณะ (ภาพที่ 5) คือ

- ต้นเดี่ยว โดยตัดใบออกให้มีความความสูงของชิ้นส่วนประมาณ 2.5 ซม.
- ต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น แล้วตัดใบต้นเดี่ยวออกให้มีความสูงของชิ้นส่วนประมาณ 2.5 เซนติเมตร
- กลุ่มต้นเล็ก มีจำนวนต้นประมาณ 3 ต้น ความสูงไม่เกิน 1 เซนติเมตร

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ภาพที่ 4 ต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ก่อนนำต้นไปตัดแบ่งชิ้นส่วนเพื่อทำการทดลองเพิ่มปริมาณ

ต้นเดี่ยว **ต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น** **กลุ่มต้นเล็ก 3 ต้น**

ภาพที่ 5 ชิ้นส่วนตั้งต้นของหญ้าแฝกหอมทั้ง 3 ลักษณะ ที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณต้นด้วยระบบ TIB

นำชิ้นส่วนตั้งต้นหญ้าแฝกหอมทั้ง 3 ลักษณะ ใส่ลงในภาชนะขวดแก้วขนาดความจุ 700 มิลลิลิตร จำนวน 10 ชิ้นส่วนต่อขวด แล้วนำไปเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่มี NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วเปรียบเทียบผลของ BA ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอด LED ชนิด Day light เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยให้อาหารต้นหญ้าแฝกหอมทุก 4 ชั่วโมง เป็นจำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที ใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ (ภาพที่ 6a และ 6b)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยใช้ชิ้นส่วนตั้งต้น 3 ลักษณะ แต่ละลักษณะมี 4 กรรมวิธีๆ ละ 5 ซ้ำ (ขวด) ทำการเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณต้น วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for the Social Science for windows) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี DMRT (Duncan’s New Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภา

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

2.1.2 ผลของ TDZ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

วิธีดำเนินการวิจัย

นำชิ้นส่วนต้นเดี่ยวหญ้าแฝกหอมที่มีการแตกตาข้างเป็นต้นเล็ก 2 ต้น เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.1 มาเพาะเลี้ยงในภาชนะขวดแก้วขนาด 700 มิลลิลิตร จำนวน 10 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ในอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่มี TDZ ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยระบบ TIB ที่มีการให้อาหารทุกๆ 4 ชั่วโมง จำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) มี 5 กรรมวิธีๆ ละ 5 ซ้ำ (ขวด) เพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้น วิเคราะห์ผลการทดลอง และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างทางสถิติ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.1

2.1.3 ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

วิธีดำเนินการวิจัย

นำต้นเดี่ยวหญ้าแฝกหอมที่มีการแตกของตาข้างเล็ก 2 ต้น โดยตัดชิ้นส่วนลำต้นเดี่ยวให้มีขนาดความสูงประมาณ 2.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงในภาชนะขวดแก้วความจุ 700 มิลลิลิตร จำนวน 10 ชิ้นส่วนต่อขวด (ภาพที่ 7) แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยในภาชนะบรรจุอาหารปริมาตร 300 มิลลิลิตรต่อขวด แล้วทำการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารที่แตกต่างกัน 4 กรรมวิธี คือ ให้อาหารจำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 และ 10 นาที และให้อาหารจำนวน 12 ครั้ง นานครั้งละ 1 และ 5 นาที โดยทำการเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มีทั้งสิ้น 4 กรรมวิธีๆ ละ 5 ซ้ำ ทำการทดลองนาน 4 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้น วิเคราะห์ผลการทดลอง และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างทางสถิติ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.1

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ภาพที่ 7 ลักษณะชิ้นส่วนตั้งต้นของต้นหญ้าแฝกหอมที่นำไปเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารแตกต่างกัน

2.1.4 ผลของจำนวนชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมที่เหมาะสมต่อภาชนะเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในระยะเพิ่มปริมาณต้น

วิธีดำเนินการวิจัย

นำกลุ่มต้นจิ๋วที่มีความสูงต้นน้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร และมีปลายยอดโผล่ให้เห็นเพียงเล็กน้อย ตัดเป็นกลุ่มต้น ประมาณ 5 ต้นต่อชิ้นส่วน เพาะเลี้ยงในภาชนะขวดแก้วขนาดความจุ 700 มิลลิลิตร จำนวน 20, 30 และ 40 ชิ้นส่วนต่อขวด ในอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่มี BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยระบบ TIB ที่มีการให้อาหารทุก 4 ชั่วโมง จำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มีทั้งสิ้น 3 กรรมวิธีๆ ละ 5 ซ้ำ ทำการทดลองนาน 4 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้น วิเคราะห์ผลการทดลองและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.1

2.1.5 ผลของจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะร่วมกับขนาดความสูงของชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

วิธีดำเนินการวิจัย

นำกลุ่มต้นจิ๋วของหญ้าแฝกหอมที่มีความสูงต้น 0.6-2.0 เซนติเมตร และ 2.1-6.0 เซนติเมตร ตัดแบ่งเป็นชิ้นส่วนๆ ละ ประมาณ 5 ต้น เพาะเลี้ยงในภาชนะขวดแก้วจำนวน 20 และ 30 ชิ้นส่วนต่อขวด ในอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่มีความเข้มข้นของ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยระบบ TIB ที่มีการให้อาหารทุก 4 ชั่วโมง จำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD มีทั้งสิ้น 4 กรรมวิธีๆ ละ 5 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้น วิเคราะห์ผลการทดลอง และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.1

2.2 การยืดยาวของต้นและชักนำการเกิดรากด้วยระบบ TIB

นำต้นหญ้าแฝกหอมอายุ 4 สัปดาห์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลุ่มต้นเล็กด้วยอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่มี BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยตัดแบ่งชิ้นส่วนให้เป็นกอเล็กๆ จำนวน 3-4 ต้นต่อกอ โดยมีความสูงต้น 2–3 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงจำนวน 30 ชิ้นส่วนต่อขวด (ภาพที่ 8) ด้วยระบบ TIB ที่มีสภาวะแตกต่างกัน ดังนี้

ภาพที่ 8 ขนาดชิ้นส่วนเริ่มต้นเพื่อชักนำการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอม

2.2.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของออกซินต่อการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอม

วิธีดำเนินการวิจัย

ทำการทดลองการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมโดยใช้ NAA และ IBA ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วเปรียบเทียบกับการไม่ใช้ NAA และ IBA ในอาหาร (ชุดควบคุม) ด้วยระบบ TIB ที่มีการให้อาหารทุก 4 ชั่วโมง จำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที โดยทำการเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ แล้วจึงนำต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือนเพาะเลี้ยงต้นกล้าอ่อน

วางแผนการทดลองแบบ CRD มีทั้งหมด 5 กรรมวิธี โดยทำการทดลองนาน 2 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลอง ความสูงต้น จำนวนต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก จากนั้นนำต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือนนานอีก 2 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลการทดลอง เปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย ความสูงต้น จำนวนต้น จำนวนราก และความยาวราก วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยโปรแกรม SPSS เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2.2.2 ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบ TIB ในระยะการยืดยาวของต้นและชักนำการเกิดราก

วิธีดำเนินการวิจัย

ทำการทดลองให้อาหารแก่ต้นหญ้าแฝกหอมโดยมีจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารที่แตกต่างกัน คือ ให้อาหารจำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 1 และ 5 นาที และจำนวน 12 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 1 นาที และ 5 นาที โดยทำการทดลองนาน 2 สัปดาห์

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD มีทั้งหมด 2 ปัจจัย รวม 4 กรรมวิธี ภายหลังสิ้นสุดการทดลองทำการบันทึกผล การเจริญเติบโตของต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดราก และการพัฒนาของรากแล้ววิเคราะห์ผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.2.1

2.2.3 ผลของ NAA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อการเกิดรากและการย้ายต้นหญ้าแฝกหอมออกปลูกในโรงเรือน

วิธีดำเนินการวิจัย

ทำการทดลองการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมโดยใช้ NAA ความเข้มข้น 5 ระดับคือ 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงนาน 2 และ 3 สัปดาห์ จึงนำต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือนเพาะเลี้ยงต้นกล้าอ่อน

วางแผนการทดลองแบบ CRD มีทั้งหมด 5 กรรมวิธี ทำการบันทึกผลการทดลอง และวิเคราะห์ผลการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.2.1

2.3 ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการให้ผลผลิตและการเพิ่มปริมาณสารสำคัญของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

2.3.1 ผลของ BA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อการให้ผลผลิตของต้นหญ้าแฝกหอม

วิธีดำเนินการวิจัย

นำชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมในระยะการเพิ่มปริมาณต้น (1 ชิ้นส่วนมีจำนวนต้นประมาณ 15 ต้น) มาเพาะเลี้ยงในภาชนะขวดแก้วขนาด 700 มิลลิลิตร จำนวน 10 ชิ้นส่วนต่อขวดด้วยระบบ TIB ในอาหารเหลวสูตร MS (1962) ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตต้นหญ้าแฝกหอมที่มีอายุการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน 4 ระยะ คือ 15, 30, 45 และ 60 วัน นำต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้มาล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง ผึ่งในที่ร่มให้แห้งเป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำส่งให้โครงการย่อยที่ 1 เพื่อนำไปสู่ขั้นตอนการวิเคราะห์เพื่อหาสารสำคัญ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยทำการทดลองทั้งหมด 20 กรรมวิธี บันทึกผลการทดลอง จำนวนต้น ความสูงต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง แล้ววิเคราะห์ผลการทดลองด้วยโปรแกรม SPSS เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2.3.2 ผลของชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการให้ผลผลิตต้นหญ้าแฝกหอม

วิธีดำเนินการวิจัย

นำชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมในระยะการเพิ่มปริมาณต้น (1 ชิ้นส่วน มีจำนวนต้นประมาณ 10 ต้น) มาเพาะเลี้ยงในภาชนะขวดแก้วขนาด 700 มิลลิลิตร จำนวน 15 ชิ้นส่วนต่อขวด ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝดในอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกัน 3 กรรมวิธี คือ 1) ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control) 2) เติม BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 3) เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตหญ้าแฝกหอมที่มีอายุแตกต่างกัน 4 ระยะ คือ 15, 30, 45 และ 60 วัน เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.3.1

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD มีทั้งหมด 12 กรรมวิธี บันทึกผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.3.1

2.3.3 ศึกษาหาปริมาณสารสำคัญจากผลผลิตต้นหญ้าแฝกหอม (Total Phenolic Content)

การศึกษาหาปริมาณ Total Phenolic Content

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบ

เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้นผงสมุนไพร 10 mg/ml โดยชั่งสมุนไพร 50 มก. เติมน้ำ 5 มิลลิลิตร Sonicate 30 นาที กรอง เก็บสารละลายเพื่อใช้ทดสอบ

2. การหาปริมาณ Total Phenolic Content ด้วยวิธี Folin-Ciocalteau assay

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid

เจือจาง stock solution ด้วย ethanol ให้ได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 100.0-5.0 ug/ml

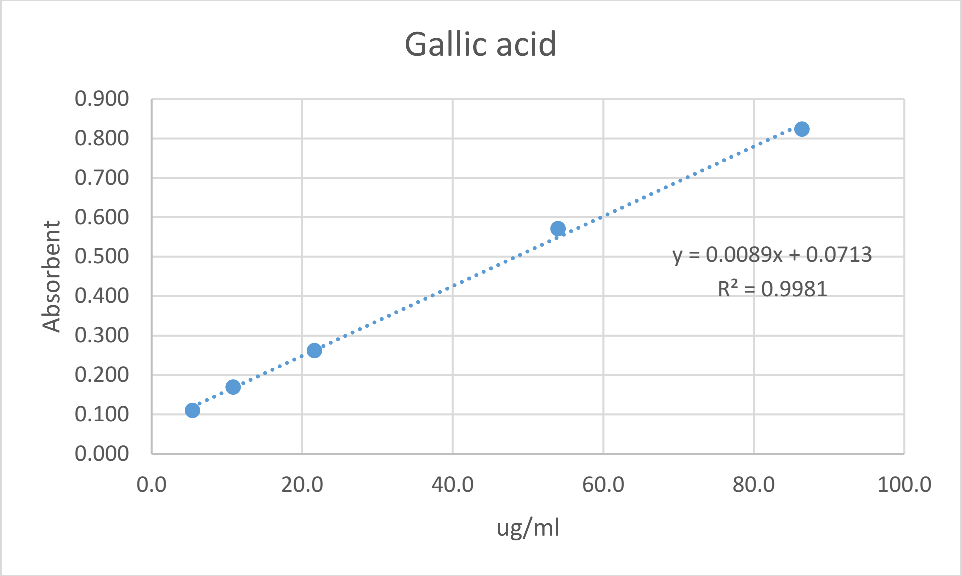
2.2 การเตรียมสารละลาย sodium carbonate (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 75 mg/ml และ 10% Folin-Ciocalteau reagent

2.3 การทดสอบหาปริมาณ Total phenolic compounds

ปิเปต sample 20 µl ตามด้วย 10%Folin-Ciocalteau reagent 100 µl และ Na_2CO_3 80 µl ลงใน microtiter 96-well plate เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 60 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ด้วยเครื่อง microplate reader

2.4 สร้าง standard curve ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Gallic acid เพื่อใช้หาค่า Gallic acid equivalent (GAE)

2.5 การคำนวณหาปริมาณ Total Phenolic Compounds จากสมการเส้นตรงที่ได้



ภาพที่ 9 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของ Gallic acid และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm

การศึกษาหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total Polysaccharides contents)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบเช่นเดียวกับที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ TPC

2. การหาปริมาณ Total Polysaccharides contents

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose

เจือจาง stock solution ด้วยน้ำให้ได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 200.0-10.0 ug/ml

2.2 เตรียม Phenol ให้มีความเข้มข้น 5%Phenol

2.3 สารสกัดหญ้าแฝกนำมาเจือจางด้วยน้ำให้มีความเข้มข้น 1 mg/ml

2.4 การทดสอบหาปริมาณ Total Polysaccharides contents

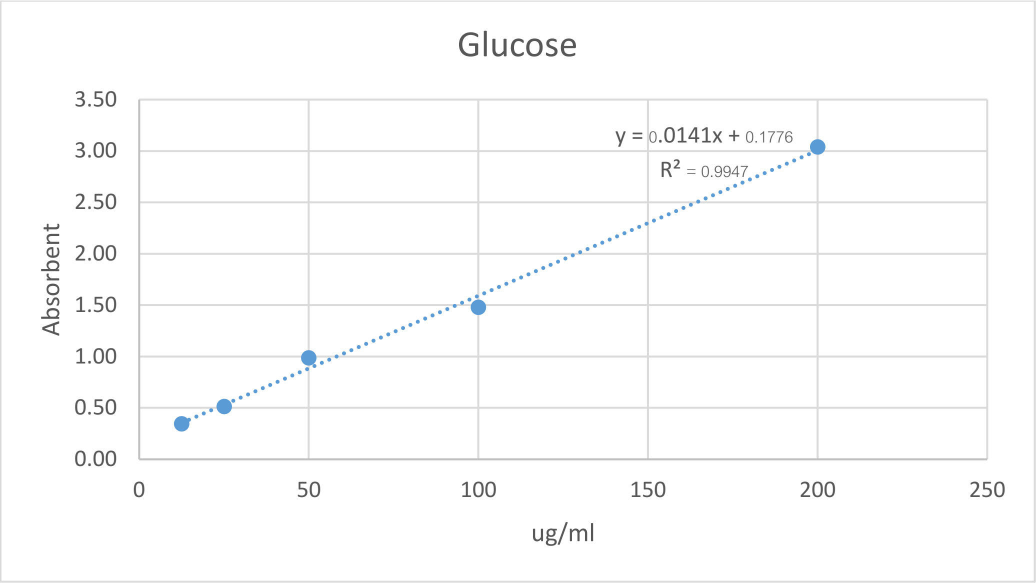
ปิเปต sample 200 ul ตามด้วย 5%Phenol 200 ul และ conc. H_2SO_4 1 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งให้เย็นในอุณหภูมิห้อง 15 นาที

2.5 ปิเปตลงใน microtiter 96-well plate

2.6 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 nm ด้วยเครื่อง microplate reader

2.7 สร้าง standard curve ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Glucose

2.8 การคำนวณหาปริมาณ Total Polysaccharides contents จากสมการเส้นตรงที่ได้



ภาพที่ 10 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของ Glucose และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 nm

กิจกรรมที่ 3 ตรวจสอบและจัดการการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝกหอมในระบบอาหารแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

3.1 แยกเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝกหอมในระบบอาหารแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวภาชนะขวดแก้วปริมาตร 700 มิลลิลิตร

วิธีดำเนินการวิจัย

1. รวบรวมตัวอย่างหญ้าแฝกที่มีการปนเปื้อนระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั้งในระบบอาหารแข็ง และอาหารเหลว นำมาถ่ายรูป บันทึกลักษณะปรากฏ ประเมินกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

2. กรณีของเชื้อแบคทีเรียใช้ห่วงถ่ายเชื้อ นำแบคทีเรียจากบริเวณที่พบการปนเปื้อน มาขีดบนผิวหน้าอาหาร Tryptic soy agar (TSA; Himedia, India) restreak 2-3 ครั้ง จนได้เชื้อบริสุทธิ์ เพิ่มจำนวนเชื้อในอาหาร tryptic soy broth (TSB) เพื่อเก็บใน glycerol 20% ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และใช้สำหรับการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียโดยเทคนิคทางอณูชีววิทยา

3. การแยกเชื้อรา และยีสต์ใช้อาหาร streptomycin rose Bengal agar (SRA) โดยแตะชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน มาวางบนอาหาร SRA เพื่อแยกเชื้อรา และ streak บนอาหารเพื่อแยกยีสต์ ทำเชื้อราให้บริสุทธิ์โดยการตัดปลายเส้นใยถ่ายจนได้เชื้อบริสุทธิ์ กรณีของยีสต์เพาะเลี้ยงในอาหาร yeast extract potato dextrose (YPD) broth เก็บเส้นใยเชื้อรา และยีสต์ใน glycerol 20% ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และใช้สำหรับการจำแนกชนิดของเชื้อรา และยีสต์โดยเทคนิคทางอณูชีววิทยา

4. การจำแนกชนิดของแบคทีเรียเบื้องต้นโดยการย้อมสีแบบแกรม เพื่อดูรูปร่างและการติดสีย้อม จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการจำแนกมาเพาะเลี้ยงในอาหาร TSB นาน 18-24 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นำตะกอนเซลล์มาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด TIANamp Bacteria DNA Kit (TIANGEN Biotech (Beijing) Co.,Ltd, China) นำดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณบริเวณ 16S rRNA ด้วย polymerase chain reaction โดยใช้ไพรเมอร์ 27F (5´-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3´) และ 1492R (5´-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3´) (Firstbase, Malaysia) ใช้ชุด purify PCR products โดยใช้ชุดสำเร็จรูป TIANquick Midi Purification Kit ส่งผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ไปหาลำดับเบสที่ บริษัท ATCG Co., Ltd. นำลำดับเบสที่ได้ใส่โปรแกรม BLAST ในฐานข้อมูล GenBank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) เพื่อระบุชนิดของแบคทีเรีย

5. การจำแนกชนิดของเชื้อรา และยีสต์ เลือกโคโลนีที่มีลักษณะต่างๆ กัน มาศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยการทำ slide culture และ mount slide ด้วย lactophenol cotton blue เปรียบเทียบลักษณะของสปอร์ และเส้นใยของเชื้อราเบื้องต้นโดยเปรียบเทียบกับ Pepper and Gerba (2004) สำหรับการจำแนกเชื้อราด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา ด้วยการเลี้ยงราบนอาหาร PDA เมื่อราเจริญเต็มที่จึงเขี่ยเอาเส้นใยหรือสปอร์มาสกัดแยกดีเอ็นเอด้วยวิธีชุดสกัดสำเร็จรูปของ Quick-DNA Fungal/Bacterial Kits (Zymoresearch, USA) เพิ่มชิ้นส่วนไอทีเอส (ITS, internal transcribed spacers) บริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ของยีน rDNA ในราที่แยกได้ โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1 (5´-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3´) และ ITS4 (5´-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3´) (White *et al.*,1990) นำส่งผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ และส่งไปหาลำดับเบส เช่นเดียวกับการหาชนิดของแบคทีเรีย

3.2 ระบุชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคทางอณูวิทยา

3.3 สรุปข้อมูล วิเคราะห์แหล่งที่มาและจุดเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน

แบคทีเรียปนเปื้อนจากงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝก ได้แก่ เลี้ยงบนอาหาร TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแบคทีเรียปนเปื้อนที่ใช้ทดสอบมาปรับปริมาณเชื้อด้วย 0.9% NaCl วัดความขุ่นโดยวัดค่า OD_{600} ให้เท่ากับ 0.1±0.05 แล้วนำมา swab บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที วางแผ่นกระดาษตาปลา (Macherey-Nagel, Germany) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ซึ่งบรรจุน้ำกลั่น, 3% hydrogen peroxide, PPM ความเข้มข้น 2 ml/l และ 0.1% streptomycin ปริมาตร 15 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 48 ชั่วโมง และสังเกตการยับยั้งจากบริเวณใส (clear zone) และวัดเส้นผ่าศูนย์กลาง

สำหรับการทดสอบเชื้อรา *Fusarium* และ *Cladosporium* ใช้อาหาร PDA ผสม carbendazim ให้มีความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 (%) ตัดเส้นใยของเชื้อราอายุ 5 วัน โดยใช้ cork borer ให้มีขนาด 6 มิลลิเมตร วางลงบนผิวหน้าอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5-7 วัน สังเกตผลจากการเจริญของเชื้อราก่อโรค วัดความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อรา (Fungal growth)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ผลการวิจัย

กิจกรรมที่ 1 การชักนำการเกิดต้นหญ้าแฝกหอม

จากวิธีการที่ 1 ชิ้นส่วนหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่ใส่ PPM พบว่าเกิดการปนเปื้อนด้วยเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราทั้งหมด ส่วนชิ้นส่วนที่ใส่ PPM 2 ml/l พบว่าต้นสามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยมีบางชิ้นส่วนที่มีเชื้อราเกิดขึ้น และบางชิ้นส่วนพบว่ามีแบคทีเรียเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นส่วนที่ไม่ใส่ PPM จึงทำการย้ายซ้ำลงไปในอาหารที่มี PPM 2 ml/l อีกครั้ง พบว่าหากมีแบคทีเรียที่เกิดขึ้นให้คัดทิ้ง และหากไม่มีจะทำการเพาะเลี้ยงต่อให้ครบ 1 เดือน แล้วจึงทำการย้ายลงอาหารที่ไม่มี PPM และเพิ่ม BA เป็น 3 mg/l ร่วมกับ NAA 0.1 mg/l เพื่อทำการเพิ่มปริมาณต้นต่อจากนั้นจึงย้ายไปเลี้ยงต่อด้วยระบบ TIB เพื่อเตรียมพร้อมเข้าสู่การทดลองเพิ่มปริมาณต้นต่อไป (ภาพที่ 11-13)

ภาพที่ 11 ต้นอ่อนที่ได้จากการชักนำการเกิดต้น

ภาพที่ 12 ต้นอ่อนอายุ 1 เดือน ที่ได้จากการชักนำการเกิดต้นเจริญเติบโตพร้อมที่จะนำไปตัดย้ายเพิ่มปริมาณต้น

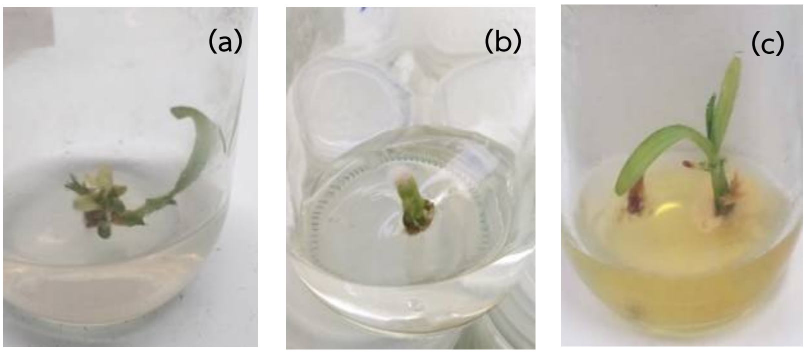
ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ภาพที่ 13 ต้นอ่อนกำลังแตกตาข้างในระยะการเพิ่มปริมาณต้น

วิธีการที่ 2 จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนที่นำมาจากการปลูกเลี้ยงและดูแลในโรงเรือนแล้วเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งที่ไม่มี PPM ในสัปดาห์ที่ 1 พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียเกิดขึ้นบริเวณโคนชิ้นส่วนแต่ไม่รุนแรงเท่ากับชิ้นส่วนที่มาจากธรรมชาติ และพบเชื้อราเกิดขึ้นบนใบของชิ้นส่วน โดยพบมากในสัปดาห์ที่ 2 เมื่อใบมีการเจริญเติบโตยืดยาวขึ้น ผลการเพาะเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 1 พบต้นปลอดเชื้อ 73.7 เปอร์เซ็นต์ และมีการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียมากกว่าเชื้อรา ในสัปดาห์ที่ 2 เหลือต้นปลอดเชื้อ 50.9 เปอร์เซ็นต์ โดยเป็นการปนเปื้อนจากเชื้อรามากกว่าแบคทีเรีย และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ พบต้นปลอดเชื้อเหลือเพียง 24.6 เปอร์เซ็นต์ โดยต้นที่ปนเปื้อนเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่โคนชิ้นส่วนเพียงเล็กน้อย (ตารางที่ 1 ภาพที่ 14)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนปลอดเชื้อและเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนจากเชื้อราและแบคทีเรียของหญ้าแฝกหอมเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

จำนวนชิ้นส่วนเพาะเลี้ยง	สัปดาห์ที่	จำนวนชิ้นส่วนปลอดเชื้อ	ชิ้นส่วนปลอดเชื้อ (%)	ชิ้นส่วนปนเปื้อน (%)	
				เชื้อรา	แบคทีเรีย
114	1	84	73.7	47.3	28.1
	2	58	50.9		
	4	28	24.6		



ภาพที่ 14 ลักษณะต้นหญ้าแฝกหอม (a) ต้นปลอดเชื้อ (b) ต้นปนเปื้อนเชื้อรา และ (c) ต้นปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย

ดังนั้น การชักนำการเกิดต้นของหญ้าแฝกหอมควรใช้ชิ้นส่วนที่ได้จากการปลูกเลี้ยงและดูแลในโรงเรือนมาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งที่เติม PPM 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ได้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อเพิ่มมากขึ้น และลดการปนเปื้อนของเชื้อโรคลง โดยในการเพาะเลี้ยงในโรงเรือนนั้นควรมีโปรแกรมการให้ยาป้องกันกำจัดโรคอย่างสม่ำเสมอ

กิจกรรมที่ 2 ปัจจัยการเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด (TIB)

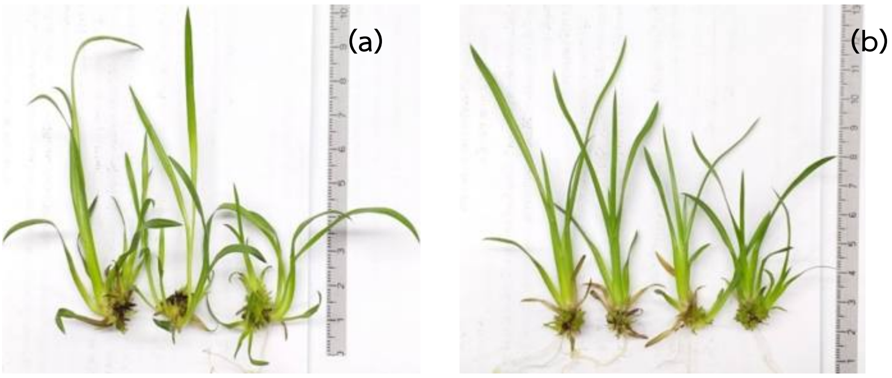
2.1 การเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอม

2.1.1 ผลของ BA ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ภาชนะขวดแก้ว 700 มิลลิลิตร

การเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นของชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี BA ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยระบบ TIB ภายหลังการทดลองได้ 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนต้นเดี่ยว กับชิ้นส่วนต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น มีการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของต้นเหมือนกัน คือ ต้นหลัก มีการเจริญเติบโตยืดยาวขึ้น ใบเดิมที่โดนตัดแห้งเป็นสีน้ำตาล ใบใหม่มีความยาวของใบมากกว่า 10 เซนติเมตร มีการแตกและยืดยาวของตาข้าง โดยมีความสูงต้นรองลงมา มีต้นเล็กๆ แตกจากข้อบริเวณโคนต้น บางต้นพุ่งยืดยาวเห็นเป็นต้นชัดเจนบางต้นยังเกาะกลุ่มความสูงน้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร (ต้นจิ๋ว) (ภาพที่ 15) ในขณะที่ชิ้นส่วนกลุ่มต้นเล็ก 3 ต้น จะให้ความสูงของต้นน้อยกว่าต้นเดี่ยวและต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น ต้นที่แตกใหม่จะมีความสูงใกล้เคียงกัน และมีต้นจิ๋ว (ขนาดความสูง <0.5 เซนติเมตร) และต้นเล็ก (ขนาดความสูง 0.6-2.0 เซนติเมตร) บริเวณโคนต้นมาก และเมื่อเลี้ยงไปนานๆ จะมีต้นเดี่ยวหลุดมาจากชิ้นส่วนเดิมและยังสามารถเกิดกลุ่มต้นเล็กๆ บริเวณโคนต้นได้เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 16a และ 16b)

ภาพที่ 15 ลักษณะการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของต้นหญ้าแฝกหอม เมื่อใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นด้วยต้นเดี่ยวและต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น ในอาหารที่มี BA จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 16 ลักษณะการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของต้นหญ้าแฝกหอม เมื่อใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นด้วยกลุ่มต้นเล็ก 3 ต้น ในอาหารที่มี BA จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB (a) ชิ้นส่วนเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณตามปกติ และ (b) ต้นเดี่ยวที่หลุดจากชิ้นส่วนเดิมมีการเจริญเติบโตและแตกกลุ่มต้นเล็กๆ บริเวณโคนต้น

จากลักษณะการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของชิ้นส่วนหญ้าแฝกหอมภายหลังการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ได้นำชิ้นส่วนมาแยกต้นออกตามขนาดความสูงได้ 5 ระดับ คือ ขนาดความสูง <0.5 เซนติเมตร (ต้นจิ๋ว), 0.6-2.0 เซนติเมตร (ต้นเล็ก), 2.1-6.0, 6.1-10.0 และ >10 เซนติเมตร (ภาพที่ 17) แล้วนับจำนวนต้นที่ได้ทั้งหมดต่อชิ้นส่วน

ความสูงต้น (ซม.)

>10

6.1-10

2.1-6.0

0.6-2.0

<0.5

ภาพที่ 17 ต้นหญ้าแฝกหอมความสูงขนาดต่างๆ ที่แยกได้จากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

จากผลการวิจัยการใช้ชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมทั้ง 3 ลักษณะที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยระบบ TIB ที่มีการให้อาหารทุก 4 ชั่วโมง จำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที โดยเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ ได้ผลดังนี้

ชิ้นส่วนตั้งต้นที่เป็นต้นเดี่ยว BA ความเข้มข้น 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นที่เกิดต่อชิ้นส่วนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 14.8-18.3 ต้นต่อชิ้นส่วน โดย BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นมากที่สุด และเป็นต้นเล็กที่มีขนาดความสูง 0.6-2.0 เซนติเมตร มากที่สุดถึง 13.0 ต้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA เป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้จำนวนต้นจิ๋วขนาดความสูง <0.5 เซนติเมตร มากที่สุดถึง 11.5 ต้นต่อชิ้นส่วน ในขณะที่ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ขนาดต้นที่มีความสูง 2.1 เซนติเมตรขึ้นไปมากที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก BA ความเข้มข้นอื่นๆ ส่วนการไม่ใช้ BA ในอาหารนั้น พบว่า ให้จำนวนต้นน้อยที่สุดเพียง 2.0 ต้นเท่านั้น แต่ให้จำนวนใบต้นหลักมากที่สุดถึง 5.5 ใบ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ BA ทั้ง 3 ระดับ ที่มีจำนวนใบต้นหลักอยู่ในช่วง 3.9-4.4 ใบต่อต้น และการไม่ใช้ BA ในอาหารยังทำให้เกิดรากได้ทั้งหมด ในขณะที่การใช้ BA ความเข้มข้นต่ำ 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีรากเล็กๆ เป็นเส้นบางๆ เกิดขึ้น 22.2-40.0 เปอร์เซ็นต์ ตามความเข้มข้นของ BA แต่ถ้าใช้ BA สูงขึ้นเป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร จะไม่พบการเกิดรากเลย และยังให้น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วนน้อยที่สุดด้วยเพียง 0.93 กรัมต่อชิ้นส่วน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ BA ความเข้มข้นต่ำ 0-2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีน้ำหนักสดอยู่ในช่วง 1.02-1.51 กรัมต่อชิ้นส่วน โดยการใช้ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดมากที่สุด (ตารางที่ 2 และ 3 ภาพที่ 18 และ 19)

ชิ้นส่วนต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น พบว่า ผลของ BA ความเข้มข้น 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 17.6-23.8 ต้นต่อชิ้นส่วน โดย BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้จำนวนต้นมากที่สุด โดยเป็นต้นจิ๋วขนาดความสูง <0.5 เซนติเมตร มากถึง 15.0 ต้นต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้ต้นจิ๋ว 8.7 ต้นต่อชิ้นส่วน ในขณะที่การใช้ BA ความเข้มข้นต่ำ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ต้นที่มีความสูง >2.1 เซนติเมตร ขึ้นไปมากที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับการไม่ใช้ BA ในอาหารที่มีจำนวนต้นเพียง 2.7 ต้นต่อชิ้นส่วน เท่านั้น แต่การไม่ใช้ BA ในอาหารกลับให้จำนวนใบต้นหลักมากที่สุดถึง 5.0 ใบ และมีรากเกิดขึ้น 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้ BA ทั้ง 3 ระดับ นอกจากนี้การใช้ BA ทั้ง 3 ระดับ ยังให้น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 1.29-1.67 กรัมต่อต้น แต่แตกต่างจากการไม่ใช้ BA ในอาหารที่ให้น้ำหนักสดน้อยที่สุด คือ 0.97 กรัมต่อต้น เท่านั้น (ตารางที่ 2 และ 3 ภาพที่ 18 และ 19)

ชิ้นส่วนกลุ่มต้นเล็ก 3 ต้น การใช้ BA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยง ให้จำนวนต้นที่เกิดใหม่ต่อชิ้นส่วนไม่แตกต่างกัน คือ 17.7-21.1 ต้นต่อชิ้นส่วน โดย BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ BA ความเข้มข้นสูงขึ้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และการไม่ใช้ BA ในอาหาร ที่มีจำนวนต้นที่เกิดเพียง 12.5 และ 8.2 ต้นต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ โดยการใช้ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นที่ขนาดความสูง 0.6-6.0 เซนติเมตร มากที่สุด ในขณะที่การใช้ BA ความเข้มข้นต่ำหรือสูงกว่านี้ จะให้จำนวนต้นจิ๋วขนาดความสูง <0.5 เซนติเมตร มากที่สุด

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

คือ 7.2-9.4 ต้นต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้การไม่ใช้ BA หรือใช้ BA ความเข้มข้นต่ำ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนใบต้นหลักมากที่สุด คือ 4.1 และ 4.3 ใบ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากการใช้ BA ความเข้มข้นสูงขึ้น 2-3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ต้นหลักมีจำนวนใบ 3.5-3.8 ใบ และการไม่ใช้ BA ในอาหารยังทำให้เกิดรากได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และให้น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วนมากที่สุดด้วย คือ 1.45 กรัมต่อชิ้นส่วน แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ BA ความเข้มข้น 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้น้ำหนักสด 0.98 และ 1.11 กรัมต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ในขณะที่ การใช้ BA ความเข้มข้นสูง 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดน้อยที่สุดเพียง 0.70 กรัมต่อชิ้นส่วน เท่านั้น (ตารางที่ 2 และ 3 ภาพที่ 18 และ 19)

ตารางที่ 2 ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

ชิ้นส่วนตั้งต้น[1/]	BA (mg/l)	ขนาดความสูงต้น (ซม.)					จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน	จำนวนใบต้นหลัก
		<0.5 (ต้นจิ๋ว)	0.6-2.0 (ต้นเล็ก)	2.1-6.0	6.1-10	>10		
ต้นเดี่ยว	0	0^{b}[2/]	0.6^{c}	0.3^{c}	0.1^{c}	1.0^{ab}	2.0 ± 1.56^{b}	5.5 ± 1.15^{a}
	1	0.9^{b}	13.0^{a}	2.7^{ab}	1.2^{b}	0.5^{b}	18.3 ± 8.59^{a}	3.9 ± 0.73^{b}
	2	1.0^{b}	6.0^{b}	3.6^{a}	2.9^{a}	1.3^{a}	14.8 ± 6.44^{a}	4.4 ± 0.72^{b}
	3	11.5^{a}	3.3^{bc}	1.4^{bc}	1.0^{b}	0.4^{b}	17.6 ± 6.50^{a}	4.1 ± 0.97^{b}
ต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น	0	0^{b}	1.3^{c}	0.2^{b}	0.2^{c}	1.0	2.7 ± 2.06^{b}	5.0 ± 1.21^{a}
	1	1.9^{b}	6.5^{a}	5.0^{a}	2.9^{a}	1.3	17.6 ± 7.90^{a}	4.1 ± 0.54^{b}
	2	15.0^{a}	3.4^{bc}	3.1^{a}	1.3^{b}	1.0	23.8 ± 16.24^{a}	3.9 ± 0.38^{b}
	3	8.7^{a}	4.6^{ab}	3.7^{a}	1.6^{b}	0.8	19.4 ± 7.42^{a}	3.7 ± 0.44^{b}
กลุ่มต้นเล็ก 3 ต้น	0	0.5^{b}	2.0^{b}	3.7^{b}	1.3	0.7^{a}	8.2 ± 4.58^{c}	4.1 ± 0.41^{ab}
	1	9.4^{a}	3.8^{b}	3.2^{b}	1.2	0.1^{b}	17.7 ± 6.16^{ab}	4.3 ± 0.62^{a}
	2	1.3^{b}	11.4^{a}	7.0^{a}	1.3	0.1^{b}	21.1 ± 8.96^{a}	3.8 ± 0.53^{bc}
	3	7.2^{a}	2.3^{b}	2.4^{b}	0.6	0^{b}	12.5 ± 4.03^{bc}	3.5 ± 0.42^{c}

1/การวิเคราะห์ผลทางสถิติแยกวิเคราะห์ตามลักษณะของชิ้นส่วนตั้งต้นแต่ละลักษณะ

2/ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (เปรียบเทียบเฉพาะชิ้นส่วนตั้งต้นกลุ่มเดียวกัน)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 3 ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการพัฒนารากและน้ำหนักสดของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

ชิ้นส่วนตั้งต้น[1/]	BA (mg/l)	การเกิดราก (%)[2/]	จำนวนรากต่อชิ้นส่วน	ความยาวราก (ซม.)	น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วน (กรัม)
ต้นเดี่ยว	0	100^{a}	14.2	4.0	1.02±0.54^{ab}
	1	22.2^{bc}	2.5	1.4	1.08±0.33^{ab}
	2	40.0^{b}	2.3	2.0	1.51±0.82^{a}
	3	0^{c}	0	0	0.93±0.27^{b}
ต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น	0	100^{a}	12.3	3.1	0.97±0.49^{b}
	1	50.0^{b}	3.0	2.5	1.67±0.54^{a}
	2	70.0$^{.ab}$	2.2	1.9	1.29±0.39^{ab}
	3	0^{c}	0	0.0	1.54±0.44^{a}
กลุ่มต้นเล็ก 3 ต้น	0	100	17.0	3.4	1.45±0.53^{a}
	1	20.0	1.5	1.1	0.98±0.17^{ab}
	2	10.0	1.0	0.5	1.11±0.14^{ab}
	3	0	0	0	0.70±0.17^{b}

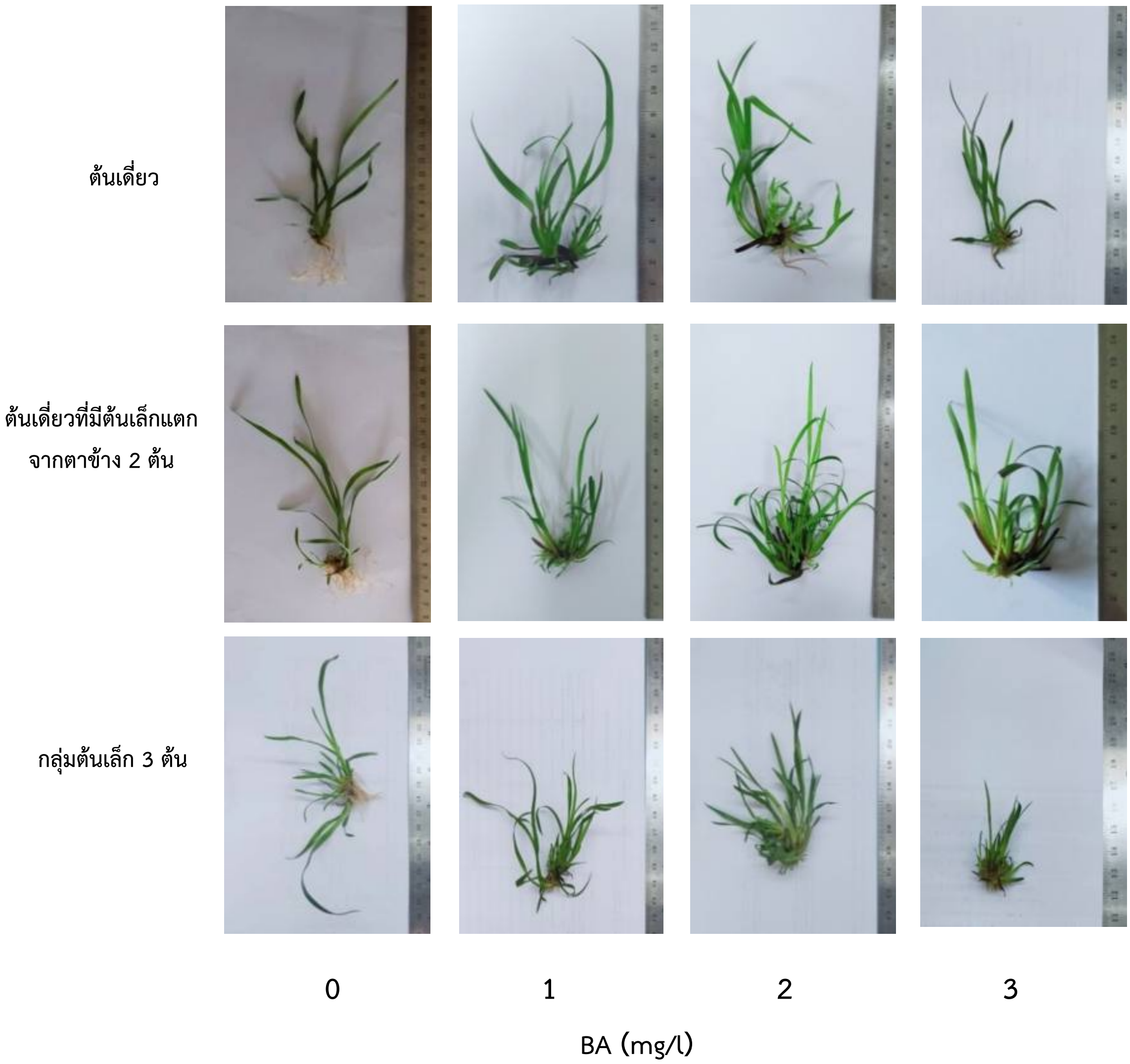
1/การวิเคราะห์ผลทางสถิติแยกวิเคราะห์ตามลักษณะของชิ้นส่วนตั้งต้นแต่ละลักษณะ

2/ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (เปรียบเทียบเฉพาะชิ้นส่วนตั้งต้นกลุ่มเดียวกัน)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ภาพที่ 18 ผลของ BA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่ใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นแตกต่างกัน จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 19 ลักษณะการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่ใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นแตกต่างกัน จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

2.1.2 ผลของ TDZ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นเดี่ยวหญ้าแฝกหอมที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น ในอาหารเหลวที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ลักษณะของต้นเดี่ยวที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ มีใบเดิมที่โดนตัดและส่วนบริเวณโคนต้นเป็นสีน้ำตาลเข้ม และมีใบใหม่เกิดขึ้นยาวประมาณ 6-10 เซนติเมตร ส่วนลักษณะของต้นเล็ก 2 ต้น บางชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตมีความสูงของทั้ง 2 ต้นใกล้เคียงกัน แต่บางต้นที่ไม่พัฒนาจะเป็นสีน้ำตาลเข้ม และมีต้นเล็กเกิดขึ้นใหม่บริเวณโคนต้น ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ไม่เติม TDZ ต้นหลักมีความสูงของต้นมากกว่า 10 เซนติเมตร (ภาพที่ 20)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

การเพิ่มปริมาณต้นของชิ้นส่วนต้นเดี่ยวหญ้าแฝกหอมที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นมากที่สุด 5.48 ต้นต่อชิ้นส่วน และเป็นต้นจิ๋วขนาดความสูง <0.5 เซนติเมตร มากที่สุด คือ 1.72 ต้นต่อชิ้นส่วน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ไม่มี TDZ และที่มี TDZ 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนต้นอยู่ระหว่าง 2.27-3.11 ต้นต่อชิ้นส่วนเท่านั้น ในด้านการพัฒนาของใบต้นหลัก พบว่าในอาหารเหลวที่ไม่มี TDZ ให้จำนวนใบต้นหลักมากที่สุด 5.47 ใบ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอาหารที่มี TDZ ที่ให้จำนวนใบต้นหลักอยู่ระหว่าง 2.93-3.50 ใบต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 4 ภาพที่ 20)

ตารางที่ 4 ผลของ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

TDZ (mg/l)	ขนาดความสูงต้น (ซม.)					จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน	จำนวนใบต้นหลัก
	<0.5	0.6-2.0	2.1-6.0	6.1-10	>10		
0	0.47^{b}	0.40^{b}	0.20^{c}	0.10^{c}	1.10^{a}	2.27 ± 0.79^{b}	5.47 ± 0.94^{a}
0.25	1.72^{a}	1.04^{a}	1.65^{a}	0.90^{a}	0.17^{b}	5.48 ± 3.00^{a}	2.93 ± 0.72^{c}
0.50	0.50^{b}	0.83^{ab}	1.03^{b}	0.77^{ab}	0.17^{b}	3.30 ± 2.10^{b}	3.43 ± 0.94^{bc}
0.75	0.78^{b}	0.44^{ab}	0.89^{b}	0.67^{ab}	0.22^{b}	3.00 ± 2.54^{b}	3.11 ± 0.90^{bc}
1.0	0.00^{b}	0.50^{ab}	1.83^{a}	0.44^{b}	0.33^{b}	3.11 ± 1.37^{b}	3.50 ± 0.92^{b}

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ส่วนน้ำหนักสดของชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอม เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี TDZ ความเข้มข้น 0.75 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วนมากที่สุด คือ 0.87 และ 0.85 กรัมต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ไม่มี TDZ และมี TDZ ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนน้ำหนักแห้งพบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักแห้งต่อชิ้นส่วนมากที่สุด แต่ไม่แตกต่างจากการไม่ใช้ TDZ หรือการใช้ TDZ 0.50 และ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.10, 0.07 และ 0.10 กรัมต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้น้ำหนักแห้งน้อยที่สุดคือ 0.05 กรัมต่อชิ้นส่วน และเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง พบว่า อาหารเหลวที่ไม่ใช้ TDZ ใช้น้ำหนักสด 7.1 กรัมต่อน้ำหนักแห้งที่ได้ 1 กรัม ซึ่งมีการใช้น้ำหนักสดน้อยกว่าอาหารเหลวที่ใช้ TDZ แต่อย่างไรก็ตาม การใช้ TDZ ความเข้มข้นสูง 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งรองลงมา คือ 7.7:1 และการใช้น้ำหนักสดจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ TDZ ที่ลดลง (ตารางที่ 5 ภาพที่ 20)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 5 ผลของ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

TDZ (mg/l)	น้ำหนักสด ต่อชิ้นส่วน (กรัม)	น้ำหนักแห้ง ต่อชิ้นส่วน (กรัม)	นน.สด/นน.แห้ง (กรัม)
0	0.71±0.34[ab]	0.10±0.01[ab]	7.1:1
0.25	0.66±0.27[b]	0.05±0.04[b]	13.2:1
0.50	0.78±0.31[ab]	0.07±0.05[ab]	11.1:1
0.75	0.87±0.34[a]	0.10±0.03[ab]	8.7:1
1.0	0.85±0.26[a]	0.11±0.01[a]	7.7:1

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

0 0.25 0.50 0.75 1.0

TDZ (mg/l)

ภาพที่ 20 ผลของ TDZ ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่ใช้ชิ้นส่วนต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

2.1.3 ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

การให้อาหารแก่ชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB จำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 และ 10 นาที และจำนวน 12 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 1 และ 5 นาที เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของจำนวนต้นต่อชิ้นส่วนและจำนวนใบต้นหลัก โดยมีจำนวนต้นอยู่ในช่วง 14.3-15.9 ต้นต่อชิ้นส่วน ซึ่งการให้อาหารจำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที ให้ขนาดความสูงต้น 6.1-10.0 เซนติเมตร มากที่สุด คือ 2.5 ต้น และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการให้อาหารจำนวน 12 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 1 และ 5 นาที ที่ให้จำนวนต้นเพียง 1.2 และ 1.0 ต้น ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการให้อาหารในทุกกรรมวิธีจะให้ต้นที่มีความสูง >10 เซนติเมตรน้อยที่สุด และให้ต้นจิ๋วที่มีขนาดความสูง <0.5 เซนติเมตร มากที่สุด และมีจำนวนใบต้นหลัก 3.6-4.1 ใบ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนน้ำหนักสดของชิ้นส่วนพบว่าการให้อาหารจำนวน 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 10 นาที ให้น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วนมากที่สุดด้วย คือ 1.64 กรัมต่อต้น และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการให้อาหารจำนวน 12 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 1 นาที ที่มีน้ำหนักสดเพียง 1.02 กรัมต่อชิ้นส่วนเท่านั้น แต่ไม่พบความแตกต่างจากการให้อาหารจำนวน 6 และ 12 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที (ตารางที่ 6 ภาพที่ 21 และ 22)

ตารางที่ 6 ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

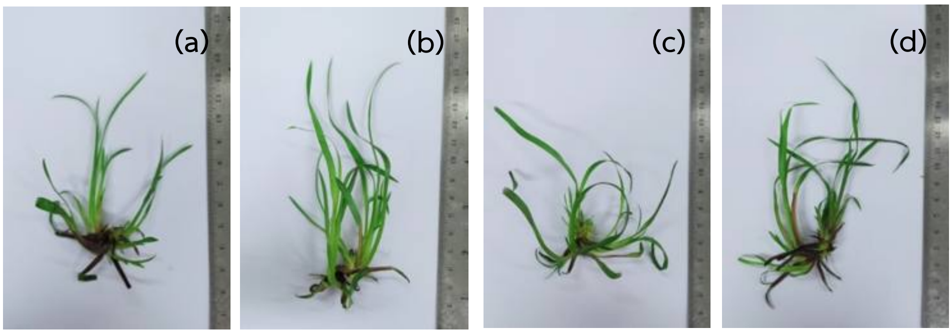
จำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหาร	ขนาดความสูงต้น (ซม.)					จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน	จำนวนใบต้นหลัก	น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วน (กรัม)
	<0.5 (ต้นจิ๋ว)	0.6-2.0 (ต้นเล็ก)	2.1-6.0	6.1-10	>10			
6 ครั้ง /5 นาที	8.6	2.4	1.4	2.5^{a}	0.7	15.6±5.15	3.6±0.40	$1.39±0.48^{ab}$
6 ครั้ง /10 นาที	6.0	2.4	2.7	2.1^{ab}	1.1	14.3±3.71	4.1±0.44	$1.64±0.51^{a}$
12 ครั้ง /1 นาที	7.2	2.2	2.7	1.2^{bc}	0.7	14.3±7.41	3.5±0.83	$1.02±0.42^{b}$
12 ครั้ง /5 นาที	8.1	3.0	2.7	1.0^{c}	1.1	15.9±6.97	3.8±0.54	$1.40±0.55^{ab}$

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

6 ครั้ง/วัน	6 ครั้ง/วัน	12 ครั้ง/วัน	12 ครั้ง/วัน
ครั้งละ 5	ครั้งละ 10	ครั้งละ 1	ครั้งละ 5

ภาพที่ 21 การเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารแตกต่างกัน



ภาพที่ 22 ลักษณะการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอม จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารแตกต่างกัน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ (a) ให้อาหาร 6 ครั้ง/วัน ครั้งละ 5 นาที (b) ให้อาหาร 6 ครั้ง/วัน ครั้งละ 10 นาที (c) ให้อาหาร 12 ครั้ง/วัน ครั้งละ 1 นาที และ (d) ให้อาหาร 12 ครั้ง/วัน ครั้งละ 5 นาที

2.1.4 ผลของจำนวนชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมต่อภาชนะเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในระยะเพิ่มปริมาณต้น

จากการนำกลุ่มต้นจิ๋วหญ้าแฝกหอมที่มีความสูงไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตโดยมีความสูงของต้นไม่เกิน 6.0 เซนติเมตร และมีการแตกต้นใหม่ในทุกกรรมวิธี ซึ่งจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะที่แตกต่างกันให้จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 12.97-13.97 ต้นต่อชิ้นส่วน โดยการเพาะเลี้ยงด้วยจำนวน 30 และ 40 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ให้ต้นที่มีขนาดความสูง <0.5 เซนติเมตร มากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 5.57-6.57 ต้นต่อชิ้นส่วน แต่เมื่อจำนวนชิ้นส่วนลดลงเหลือ 20 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ จะให้ต้นที่มีขนาดความสูง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

0.6-2.0 เซนติเมตร มากที่สุดถึง 7.83 ต้นต่อชิ้นส่วน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงด้วยจำนวน 40 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ที่พบว่าให้ต้นที่มีขนาดความสูง 2.1-6.0 เซนติเมตร มากที่สุดถึง 2.37 ต้นต่อชิ้นส่วน และให้จำนวนใบต้นหลักมากที่สุด 3.83 ใบ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงด้วยจำนวน 20 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ที่มีจำนวนใบต้นหลักน้อยที่สุดเพียง 3.37 ใบ นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงด้วยชิ้นส่วน 40 ชิ้นส่วนต่อภาชนะยังให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับจำนวน 20 และ 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ โดยมีน้ำหนักสด 0.33 กรัมต่อชิ้นส่วน และน้ำหนักแห้ง 0.031 กรัมต่อชิ้นส่วน คิดเป็นอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งอยู่ที่ 10.6:1 (ตารางที่ 7 ภาพที่ 23)

ตารางที่ 7 ผลของจำนวนชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมต่อภาชนะเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ	ขนาดความสูงต้น (ซม.)				จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน	จำนวนใบต้นหลัก	น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วน (กรัม)	น้ำหนักแห้งต่อชิ้นส่วน (กรัม)	นน.สด/นน.แห้ง (กรัม)
	<0.5 (ต้นจิ๋ว)	0.6-2.0 (ต้นเล็ก)	2.1-6.0	6.1-10					
20	4.23^{b}	7.83^{a}	1.83^{ab}	0.00	13.90	3.37 ± 0.09^{b}	0.23 ± 0.50^{b}	0.020 ± 0.005^{c}	11.5:1
30	6.57^{a}	6.13^{ab}	1.27^{b}	0.00	13.97	3.77 ± 0.82^{ab}	0.26 ± 0.08^{b}	0.024 ± 0.003^{b}	10.8:1
40	5.57^{a}	5.07^{b}	2.37^{a}	0.03	12.97	3.83 ± 0.79^{a}	0.33 ± 0.09^{a}	0.031 ± 0.007^{a}	10.6:1

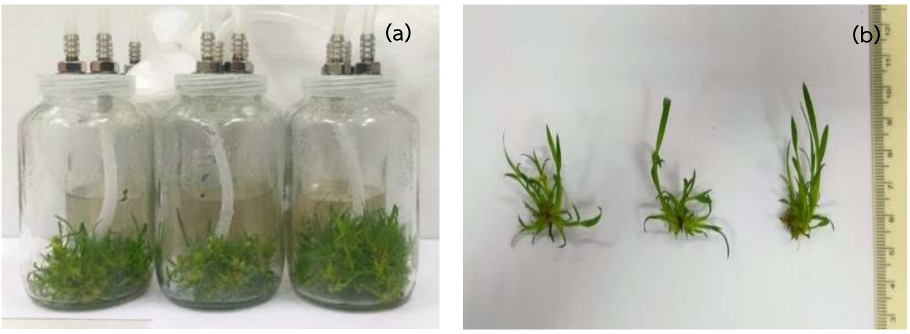
ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

เมื่อพิจารณาจำนวนชิ้นส่วนหญ้าแฝกหอมต่อภาชนะเพาะเลี้ยงแล้วพบว่า การเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมด้วยจำนวน 40 ชิ้นส่วนต่อภาชนะให้ผลดีที่สุด โดยมีจำนวนต้น 518.8 ต้น น้ำหนักสด 13.2 กรัม และน้ำหนักแห้ง 1.24 กรัมต่อภาชนะ รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงด้วยจำนวน 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ส่วนการเพาะเลี้ยงด้วยจำนวนชิ้นส่วน 20 ชิ้นส่วนต่อภาชนะให้ผลน้อยที่สุด (ตารางที่ 8 ภาพที่ 23)

ตารางที่ 8 จำนวนต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อภาชนะของต้นหญ้าแฝกหอมเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนชิ้นส่วนแตกต่างกัน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ	จำนวนต้นต่อภาชนะ	น้ำหนักสดต่อภาชนะ (กรัม)	น้ำหนักแห้งต่อภาชนะ (กรัม)
20	278.0	4.6	0.40
30	419.1	7.8	0.72
40	518.8	13.2	1.24

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



20 30 40 20 30 40

จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ

ภาพที่ 23 (a และ b) ลักษณะต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่มีจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะที่แตกต่างกันด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

2.1.5 ผลของจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะร่วมกับขนาดความสูงของชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

ลักษณะการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมจากการใช้ชิ้นส่วนที่มีขนาดความสูง 0.6-2.0 และ 2.1-6.0 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงจำนวน 20 และ 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะในอาหารที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยระบบ TIB ภายหลังการเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ พบว่าจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในด้าน จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน จำนวนใบต้นหลัก เปอร์เซ็นต์การเกิดราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต่อชิ้นส่วน แต่ขนาดความสูงชิ้นส่วนเริ่มทดลองให้จำนวนต้นและเปอร์เซ็นต์การเกิดราก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงโดยมีจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ ร่วมกับขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มทดลองแตกต่างกัน พบว่าการเพาะเลี้ยงจำนวน 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ที่มีขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มทดลอง 0.6-2.0 เซนติเมตร ให้จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนมากที่สุด คือ 22.87 ต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีอื่นๆ ที่มีจำนวนต้นต่อชิ้นส่วน 12.97-15.85 ต้น ส่วนจำนวนใบต้นหลัก ในการเพาะเลี้ยงทุกกรรมวิธีให้จำนวนใบต้นหลักไม่แตกต่างกัน คือ 4.20-4.83 ใบ โดยการเพาะเลี้ยงจำนวน 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะที่มีขนาดความสูงเริ่มทดลอง 0.6-2.0 เซนติเมตร ให้จำนวนใบมากที่สุด (ตารางที่ 9 ภาพที่ 24)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 9 ผลของจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะร่วมกับขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโต และการเพิ่มปริมาณของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ	ขนาดความสูงเริ่มทดลอง (ซม.)	ขนาดความสูงต้น (ซม.)				จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน	จำนวนใบต้นหลัก
		<0.5 (ต้นจิ๋ว)	0.6-2.0 (ต้นเล็ก)	2.1-6.0	6.1-10		
20	**0.6-2.0**	5.17	7.37^{b}	2.47^{b}	0.63^{ab}	15.63 ± 7.19^{b}	4.70±0.99
	2.1-6.0	5.30	6.00^{b}	4.00^{a}	0.35^{b}	15.85 ± 6.27^{b}	4.65±1.18
30	**0.6-2.0**	6.47	11.57^{a}	4.20^{a}	0.83^{a}	22.87 ± 11.70^{a}	4.83±1.21
	2.1-6.0	4.90	4.20^{b}	3.20^{ab}	0.67^{ab}	12.97 ± 5.74^{b}	4.20±1.06
จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ		ns	ns	ns	ns	ns	ns
ขนาดความสูงเริ่มทดลอง (ซม.)		ns	*	ns	ns	*	ns
จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ x ขนาดความสูงเริ่มทดลอง (ซม.)		ns	*	*	*	*	ns

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

จากตารางที่ 10 พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยชิ้นส่วนจำนวน 20 และ 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ที่มีความสูงชิ้นส่วนเริ่มทดลอง 2.1-6.0 เซนติเมตร มีรากเกิดขึ้น 25.0 และ 16.67 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชิ้นส่วนที่มีขนาดความสูงเริ่มทดลอง 0.6-2.0 เซนติเมตร ที่ไม่มีรากเกิดขึ้นเลย ส่วนน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อชิ้นส่วนพบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่อภาชนะจำนวน 20 ชิ้นส่วน โดยชิ้นส่วนมีขนาดความสูงเริ่มทดลอง 2.1-6.0 เซนติเมตร และการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่อภาชนะจำนวน 30 ชิ้นส่วน โดยชิ้นส่วนมีขนาดความสูงเริ่มทดลอง 0.6-2.0 เซนติเมตร ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อชิ้นส่วนมากที่สุด คือ มีน้ำหนักสด 0.51 และ 0.52 กรัม ตามลำดับ และมีน้ำหนักแห้ง 0.07 และ 0.09 กรัม ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ และเมื่อคิดอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งแล้วพบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่อภาชนะจำนวน 30 ชิ้นส่วน ที่มีขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มต้น 0.6-2.0 เซนติเมตร ใช้น้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด คือ 5.8:1 (ภาพที่ 24)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 10 ผลของจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะร่วมกับขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่แตกต่างกันต่อการเกิดราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ	ขนาดความสูงเริ่มทดลอง (ซม.)	การเกิดราก (%)	น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วน (กรัม)	น้ำหนักแห้งต่อชิ้นส่วน (กรัม)	นน.สด/นน.แห้ง
20	0.6-2.0	0^{b}	0.46±0.22^{ab}	0.05±0.3^{ab}	9.2:1
	2.1-6.0	25.00^{a}	0.51±0.15^{a}	0.07±0.2^{a}	7.3:1
30	0.6-2.0	0^{b}	0.52±0.23^{a}	0.09±0.12^{a}	5.8:1
	2.1-6.0	16.67^{a}	0.37±0.15^{b}	0.06±0.02^{b}	6.2:1
จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ		ns	ns	ns	-
ขนาดความสูงเริ่มทดลอง (ซม.)		*	ns	ns	-
จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ x ขนาดความสูงเริ่มทดลอง (ซม.)		*	*	*	-

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะเพาะเลี้ยงแล้ว พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยชิ้นส่วนจำนวน 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ที่มีขนาดความสูงเริ่มทดลอง 0.6-2.0 เซนติเมตร ให้ผลดีที่สุด โดยมีจำนวนต้นมากถึง 686.1 ต้น ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อภาชนะ 15.6 และ 2.7 กรัม ตามลำดับ และมีอัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งน้อยที่สุดเพียง 5.8:1 (ตารางที่ 11 ภาพที่ 24)

ตารางที่ 11 จำนวนต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต่อภาชนะของต้นหญ้าแฝกหอม เมื่อเพาะเลี้ยงด้วย TIB ที่มีจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะและขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

จำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะ	ขนาดความสูงเริ่มทดลอง (ซม.)	จำนวนต้นต่อภาชนะ	น้ำหนักสดต่อภาชนะ (กรัม)	น้ำหนักแห้งต่อภาชนะ (กรัม)
20	0.6-2.0	312.6	9.2	1.0
	2.1-6.0	317.0	10.2	1.4
30	0.6-2.0	686.1	15.6	2.7
	2.1-6.0	389.1	11.1	1.8

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

(a) (b) (c) (d)

ภาพที่ 24 การเจริญเติบโต และการเพิ่มปริมาณของต้นหญ้าแฝกหอมที่มีจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะร่วมกับขนาดความสูงของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่แตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์
(a และ b) ขนาดความสูงเริ่มทดลอง 0.6-2.0 เซนติเมตร. จำนวน 20 และ 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ตามลำดับ
(c และ d) ขนาดความสูงเริ่มทดลอง 2.1-6.0 เซนติเมตร. จำนวน 20 และ 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ตามลำดับ

2.2 การยืดยาวของต้นและชักนำการเกิดราก

2.2.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของออกซินต่อการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอม

การใช้ NAA และ IBA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ทั้ง NAA และ IBA (ชุดควบคุม) ในอาหารเหลว เพื่อชักนำการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB พบว่า ต้นหญ้าแฝกหอมเกิดรากได้ทั้งหมด 100 เปอร์เซ็นต์ ในทุกกรรมวิธี โดย NAA ความเข้มข้นต่ำ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากมากที่สุดถึง 25.63 รากต่อกอ และแตกต่างจากกรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือ NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้จำนวนราก 19.43 รากต่อกอ และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการใช้ IBA และชุดควบคุม ที่มีจำนวนรากเฉลี่ยอยู่ในช่วง 7.60-8.33 รากต่อกอ โดยพบว่า NAA และ IBA จะให้จำนวนรากที่ลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ส่วนชุดควบคุมมีแนวโน้มให้จำนวนรากที่มากกว่าการใช้ IBA ทั้ง 2 ระดับ และมีความยาวรากมากที่สุดคือ 3.37 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างจากการใช้ IBA ความเข้มข้นต่ำ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความยาวรากรองลงมาคือ 3.02 เซนติเมตร แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้ IBA ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความยาวราก 2.52, 2.19 และ 1.53 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยการใช้ NAA ความเข้มข้นสูงขึ้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากน้อยที่สุด และจากการสังเกตพบว่า การใช้ NAA ให้รากที่มีความหนามากที่สุด โดยเฉพาะ NAA ความเข้มข้นที่สูงขึ้น ในขณะที่ IBA ให้รากที่มีความยาวมากกว่าแต่รากจะบางกว่าเช่นเดียวกับชุดควบคุม (ตารางที่ 12 ภาพที่ 25)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

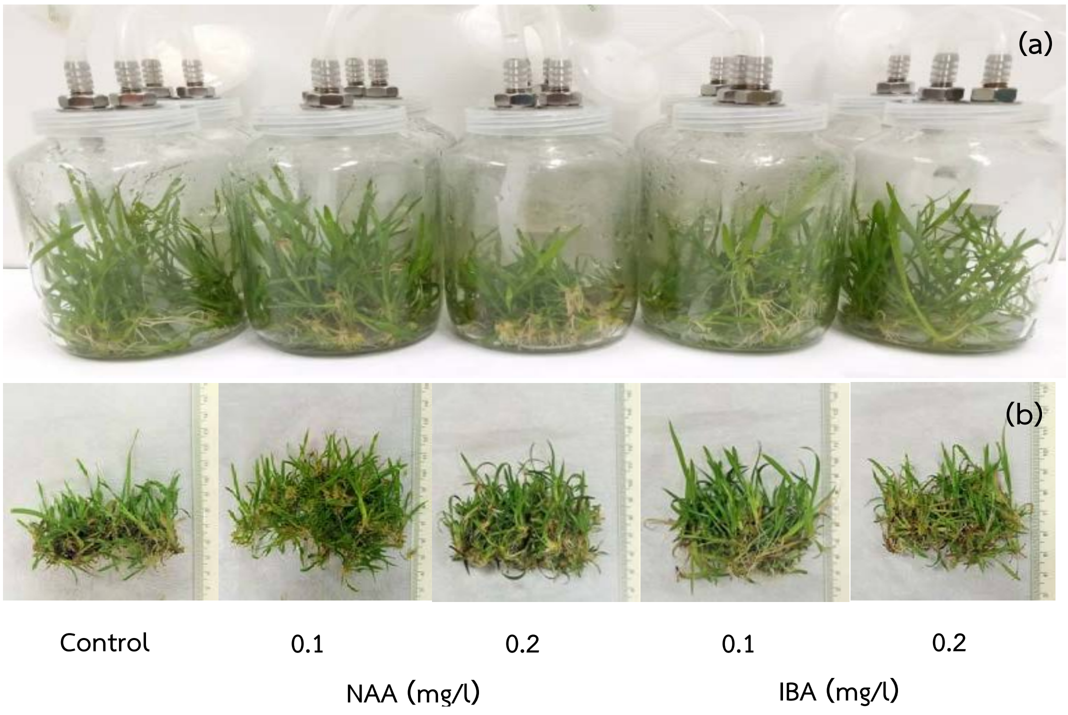
ตารางที่ 12 ผลของ NAA และ IBA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนารากของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์

กรรมวิธี	การเกิดราก (%)	จำนวนราก	ความยาวราก (ซม.)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนต้นต่อกอ
Control	100	8.33±1.10[c]	3.37±0.44[a]	7.51±0.67[b]	12.20±1.91[ab]
NAA 0.1 mg/l	100	25.63±6.01[a]	2.19±0.25[b]	7.54±0.16[b]	13.53±2.43[a]
NAA 0.2 mg/l	100	19.43±2.38[b]	1.53±0.10[c]	5.64±0.41[c]	13.80±1.30[a]
IBA 0.1 mg/l	100	8.03±1.30[c]	3.02±0.13[a]	8.25±0.33[ab]	13.80±0.95[a]
IBA 0.2 mg/l	100	7.60±0.69[c]	2.52±0.17[b]	8.60±0.57[a]	9.80±0.44[b]

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

นอกจากนี้แล้วการใช้ IBA ยังทำให้ได้ความสูงต้นของหญ้าแฝกหอมสูงมากที่สุดโดยเฉพาะ IBA ความเข้มข้นสูง 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงต้นมากถึง 8.60 เซนติเมตร และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA และชุดควบคุมที่มีความสูงน้อยกว่า โดยเฉพาะ NAA ความเข้มข้นสูง 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงต้นเพียง 5.64 เซนติเมตรเท่านั้น และในขณะเดียวกันการใช้ IBA ความเข้มข้นสูง 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร กลับให้จำนวนต้นน้อยที่สุดเพียง 9.80 ต้นต่อกอ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีอื่นๆ (ตารางที่ 12 ภาพที่ 25)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 25 (a และ b) ลักษณะต้นหญ้าแฝกหอมที่ชักนำการเกิดรากด้วย NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ก่อนย้ายออกปลูกและปรับสภาพต้นในโรงเรือน

ดังนั้น การใช้ NAA หรือ IBA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือการไม่ใช้ทั้ง NAA และ IBA ในอาหารเลยนั้น สามารถชักนำการเกิดรากของหญ้าแฝกหอมได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เหมือนกัน แต่การใช้ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด โดยให้จำนวนรากและจำนวนต้นมากที่สุด มีความสูงต้นและความยาวรากที่เหมาะสมต่อการย้ายปลูก

การย้ายต้นหญ้าแฝกหอมออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือน

ภายหลังนำต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA และ IBA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ออกปลูกและปรับสภาพแวดล้อมในโรงเรือนเพาะเลี้ยงต้นกล้าอ่อน พบว่าทุกกรรมวิธีมีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน โดยต้นที่เพาะเลี้ยงด้วย NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากมากที่สุดถึง 29.33 รากต่อกอ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนรากรองลงมาคือ 26.73 รากต่อกอ รวมทั้ง IBA ความเข้มข้นทั้ง 2 ระดับ และชุดควบคุมที่มีจำนวนรากพียง 9.20-11.67 รากต่อกอ โดยชุดควบคุมให้จำนวนรากน้อยที่สุด แต่มีความยาวรากมากที่สุดถึง 7.44 เซนติเมตร และไม่แตกต่างจากการใช้ IBA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่แตกต่างจาก IBA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้นทั้ง 2 ระดับ (ตารางที่ 13 ภาพที่ 26)

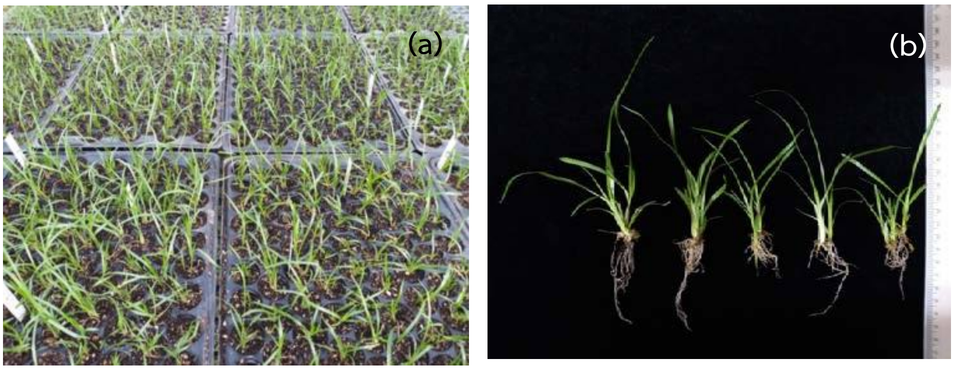
ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 13 ผลของ NAA และ IBA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย การพัฒนาราก และการเจริญเติบโตของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ภายหลังย้ายออกปลูกในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์

กรรมวิธี	ต้นรอดตาย (%)	จำนวนราก ต่อกอ	ความยาวราก (ซม.)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนต้น ต่อกอ
Control	100	9.20±0.90^{d}	7.44±0.27^{a}	13.18±0.71^{b}	2.73±0.28^{b}
NAA 0.1 mg/l	100	29.33±0.85^{a}	5.58±1.38^{c}	14.29±0.18^{a}	3.07±0.28^{b}
NAA 0.2 mg/l	100	26.73±0.72^{b}	3.96±0.24^{d}	13.22±0.71^{b}	2.67±0.00^{b}
IBA 0.1 mg/l	100	9.33±0.33^{d}	6.63±0.31^{ab}	12.32±0.31^{c}	3.99±0.41^{a}
IBA 0.2 mg/l	100	11.67±0.47^{c}	6.01±0.14^{bc}	13.94±0.35^{a}	4.47±1.26^{a}

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

นอกจากนี้แล้ว NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังให้ความสูงต้นมากที่สุด คือ 14.29 เซนติเมตร รองลงมาคือ IBA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความสูงต้น 13.94 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีอื่นๆ ที่มีความสูงต้น 12.32-13.22 เซนติเมตร ส่วนจำนวนต้นต่อกอ พบว่า การใช้ IBA 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นที่สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาต่อได้ไม่แตกต่างกัน คือ 3.99 และ 4.47 ต้นต่อกอ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ทั้ง 2 ระดับ และชุดควบคุมที่มีจำนวนต้นที่สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาต่อได้ 2.67-3.07 ต้นต่อกอ โดย NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นที่สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาต่อได้น้อยที่สุด (ตารางที่ 13 ภาพที่ 26)



อายุ 2 สัปดาห์ Control 0.1 0.2 0.1 0.2

NAA (mg/l) IBA (mg/l)

ภาพที่ 26 (a และ b) ต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA และ IBA ตามความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังย้ายออกปลูกและปรับสภาพต้นในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

2.2.2 ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

เมื่อนำชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมมาเพาะเลี้ยงเพื่อให้ต้นยืดยาวและชักนำการเกิดรากในอาหารเหลวที่มี NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งการให้อาหาร 6 และ 12 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 1 และ 5 นาที เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า จำนวนครั้งการให้อาหาร และระยะเวลาการให้อาหารเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือจำนวนครั้งร่วมกับระยะเวลาการให้อาหารต้นหญ้าแฝกหอม ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก ความยาวราก ขนาดความสูงต้น จำนวนต้นต่อกอ และน้ำหนักสด โดยในทุกกรรมวิธีมีการเกิดรากได้ทั้งหมด 100 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน ให้จำนวนราก 16.37-16.70 รากต่อกอ โดยมีความยาวรากต่อกอ 1.11-1.24 เซนติเมตร ให้จำนวนต้นต่อกอ 6.60-7.50 ต้น โดยมีจำนวนต้นในแต่ละขนาดความสูง < 0.5-10.0 เซนติเมตร ใกล้เคียงกัน และให้น้ำหนักสดต่อกอ 0.26-0.29 กรัม (ตารางที่ 14 และ 15 ภาพที่ 27)

แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อดูขนาดความสูงต้นแต่ละขนาดแล้ว จะเห็นได้ว่าจำนวนครั้งของการให้อาหารทำให้ได้ต้นที่มีขนาดความสูง <0.5 และ 6.1–10 เซนติเมตร แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน ให้ต้นที่มีขนาดเล็ก <0.5 และ 6.1–10 เซนติเมตร มากกว่าจำนวนครั้งการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน คือ 4.23–4.37 ต้น และ 0.27 ต้น เท่ากัน ตามลำดับ ในขณะที่ให้จำนวนต้นขนาด 0.6-2.0 และ 2.1-6.0 เซนติเมตร ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 15 ภาพที่ 27)

ตารางที่ 14 ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและการพัฒนารากของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์

จำนวนครั้งการให้อาหาร	ระยะเวลาการให้อาหาร (นาที)	การเกิดราก (%)	จำนวนรากต่อกอ	ความยาวราก(ซม.)
6	1	100	16.50±1.21	1.14±0.15
	5	100	16.67±2.55	1.15±0.16
12	1	100	16.70±1.73	1.24±0.03
	5	100	16.37±2.21	1.11±0.09
จำนวนครั้งการให้อาหาร		ns	ns	ns
ระยะเวลาการให้อาหาร (นาที)		ns	ns	ns
จำนวนครั้งการให้อาหาร x ระยะเวลาการให้อาหาร (นาที)		ns	ns	ns

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 15 ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์

จำนวนครั้งการให้อาหาร	ระยะเวลาการให้อาหาร (นาที)	ขนาดความสูงต้น (ซม.)				จำนวนต้นต่อกอ	น้ำหนักสดต่อกอ (กรัม)
		<0.5	0.6-2.0	2.1-6.0	6.1-10		
6	1	3.60	1.93	1.67	0.10^{b}	7.30±0.50	0.26±0.01
	5	3.57	1.37	1.57	0.10^{b}	6.60±0.78	0.27±0.04
12	1	4.23	1.43	1.50	0.27^{a}	7.43±0.58	0.29±0.21
	5	4.37	1.43	1.47	0.27^{a}	7.50±0.79	0.26±0.02
จำนวนครั้งการให้อาหาร		*	ns	ns	*	ns	ns
ระยะเวลาการให้อาหาร (นาที)		ns	ns	ns	ns	ns	ns
จำนวนครั้งการให้อาหาร x ระยะเวลาการให้อาหาร (นาที)		ns	ns	ns	ns	ns	ns

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

6 ครั้ง/วัน ครั้งละ 1 นาที

6 ครั้ง/วันครั้งละ 5 นาที

12 ครั้ง/วันครั้งละ 1 นาที

12 ครั้ง/วันครั้งละ 5 นาที

ภาพที่ 27 ลักษณะต้นและรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารแตกต่างกัน

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

2.2.3 ผลของ NAA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อการเกิดรากและการย้ายต้นหญ้าแฝกหอมออกปลูกในโรงเรือน

จากการทดลองข้างต้นพบว่า NAA ให้จำนวนรากมากกว่า IBA และมีรายงานก่อนหน้านี้ว่ามีการใช้ NAA ความเข้มข้นสูง 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดรากต้นหญ้าแฝกหอม และเมื่อย้ายต้นออกปลูกมีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกัน ดังนั้นการทดลองนี้ต้องการที่จะศึกษาความเข้มข้นของ NAA ที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดราก จนกระทั่งย้ายออกปลูกในโรงเรือน โดยใช้ NAA ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดรากต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 และ 3 สัปดาห์ ได้ผลดังนี้

การเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นสามารถชักนำการเกิดรากได้ทั้งหมด 100 เปอร์เซ็นต์ โดย NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากมากที่สุด 21.77 รากต่อกอ และไม่แตกต่างกันกับการใช้ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนราก 19.53 รากต่อกอ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้ NAA ความเข้มข้นสูง 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนรากลดลงตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น โดยมีจำนวนราก 11.62 และ 7.83 รากต่อกอ ตามลำดับ ในขณะที่การไม่ใช้ NAA ให้จำนวนรากน้อยที่สุดเพียง 5.73 รากต่อกอ แต่มีความยาวรากมากที่สุดถึง 2.60 เซนติเมตร และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ความเข้มข้นต่างๆ โดย NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากรองลงมาคือ 1.76 เซนติเมตร และเมื่อ NAA มีความเข้มข้นสูงขึ้นความยาวของรากจะลดลงตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 16 ภาพที่ 28)

ตารางที่ 16 ผลของ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการพัฒนารากและการเจริญเติบโตของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ก่อนย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือน

NAA (mg/l)	**การเกิดราก (%)**	**จำนวนรากต่อกอ**	**ความยาวราก (ซม.)**	**ความสูงต้น (ซม.)**	**จำนวนต้นต่อกอ**
0	100	5.73 ± 1.17^{c}	2.60 ± 0.19^{a}	5.92 ± 0.19^{b}	6.50 ± 0.95^{ab}
0.1	100	21.77 ± 3.33^{a}	1.79 ± 0.40^{b}	7.50 ± 0.23^{a}	7.27 ± 0.15^{a}
0.5	100	19.53 ± 2.50^{a}	1.03 ± 0.21^{c}	4.02 ± 0.45^{d}	5.77 ± 0.25^{b}
1.0	100	11.62 ± 0.61^{b}	0.78 ± 0.15^{cd}	5.54 ± 0.11^{bc}	6.67 ± 0.59^{ab}
2.0	100	7.84 ± 1.21^{c}	0.54 ± 0.10^{d}	5.12 ± 0.55^{c}	7.17 ± 0.89^{a}

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

การใช้ NAA ความเข้มข้นต่ำ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงต้นและจำนวนต้นต่อกอมากที่สุด คือ 7.50 เซนติเมตร และ 7.27 ต้นต่อกอ ตามลำดับ โดยให้ความสูงต้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นและการไม่ใช้ NAA และให้จำนวนต้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนต้นน้อยสุดเพียง 5.77 ต้นต่อกอ เท่านั้น (ตารางที่ 16 ภาพที่ 28)

0 0.1 0.5 1.0 2.0

NAA (mg/l)

ภาพที่ 28 (a และ b) ลักษณะของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ก่อนย้ายออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือน

การเพาะเลี้ยงนาน 3 สัปดาห์ ภายหลังการเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมเพื่อชักนำรากได้ 3 สัปดาห์ พบว่า NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากมากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 28.93 และ 30.87 รากต่อกอ ตามลำดับ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นและการไม่ใช้ NAA โดยเมื่อใส่ NAA ความเข้มข้นสูง 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนรากที่ได้จะลดลงตามความเข้มข้นที่ใช้ คือ 13.17 และ 5.83 รากต่อกอ ตามลำดับ ส่วนการไม่ใช้ NAA ให้จำนวนราก 9.80 รากต่อกอ แต่ให้ความยาวรากมากที่สุดใกล้เคียงกับการใช้ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 6.57 และ 6.47 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความยาวรากลดลงตามระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือ อยู่ในช่วง 1.82-4.18 เซนติเมตร และจากการสังเกตจะพบความแตกต่างของความหนาของรากซึ่งมีความสัมพันธ์กับความยาวราก โดยเมื่อใช้ NAA ความเข้มข้นสูงขึ้นความหนาของรากที่ได้ก็จะเพิ่มขึ้นด้วยและความยาวของรากจะลดลง (ตารางที่ 17 ภาพที่ 29)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 17 ผลของ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการพัฒนารากและการเจริญเติบโตของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ก่อนย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือน

NAA (mg/l)	การเกิดราก (%)	จำนวนรากต่อกอ	ความยาวราก (ซม.)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนต้นต่อกอ
0	100	9.80±1.89^{c}	6.52±0.75^{a}	11.98±0.16^{a}	7.90±0.69^{bc}
0.1	100	28.93±2.58^{a}	6.47±0.80^{a}	12.06±0.63^{a}	9.50±0.43^{ab}
0.5	100	30.87±4.07^{a}	4.18±0.75^{b}	10.15±0.52^{b}	10.33±2.48^{a}
1.0	100	13.17±1.85^{b}	2.20±0.84^{c}	5.01±0.39^{c}	6.37±1.18^{c}
2.0	100	5.83±0.61^{d}	1.82±0.77^{c}	4.05±0.37^{d}	7.33±1.12^{c}

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ในด้านความสูงของต้นพบว่า การใช้ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือการไม่ใช้ NAA ในอาหารเลยนั้นให้ความสูงต้นมากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 12.06 และ 11.98 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ที่มีความเข้มข้นที่สูงขึ้น ซึ่งให้จำนวนต้นที่ลดลงตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ละระดับความเข้มข้นด้วย โดยมีความสูงต้น 4.05-10.15 เซนติเมตร ส่วนจำนวนต่อกอ พบว่า NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นมากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 9.50 และ 10.33 ต้นต่อกอ ตามลำดับ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 17 ภาพที่ 29)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

0 0.1 0.5 1.0 2.0

NAA (mg/l)

ภาพที่ 29 (a และ b) ลักษณะการเจริญเติบโตและการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ก่อนย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือน

การย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือน

ต้นหญ้าแฝกหอมอายุ 2 สัปดาห์

จากการนำต้นหญ้าแฝกหอมที่ชักนำการเกิดรากด้วย NAA ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ออกปลูกและปรับสภาพต้นในโรงเรือนเพาะเลี้ยงต้นกล้าอ่อนนาน 2 สัปดาห์ พบว่า NAA ความเข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ต้นรอดตายสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ความเข้มข้นสูงขึ้น 1.0–2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตายเพียง 86.0 และ 48.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ NAA ความเข้มข้นต่ำ 0.1–0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังให้จำนวนราก และความสูงต้นมากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 21.67–22.00 รากต่อกอ และ 10.17–10.57 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการไม่ใช้ NAA หรือการใช้ NAA ความเข้มข้นสูงที่มีจำนวนราก และความสูงต้นเพียง 9.73–12.73 รากต่อกอ และ 5.64–9.75 เซนติเมตร ตามลำดับ โดย NAA ที่มีความเข้มข้นสูง 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลน้อยที่สุด ส่วนความยาวรากนั้น การไม่ใช้ NAA ในอาหารให้ความยาวรากมากที่สุด คือ 4.61 เซนติเมตร และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากทุกกรรมวิธี รองลงมาคือ NAA ความเข้มข้นต่ำ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเพิ่ม NAA ความเข้มข้นสูงขึ้น ความยาวรากจะลดลงตามระดับความ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

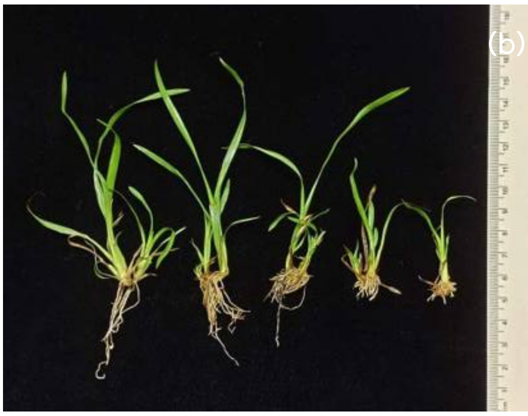
เข้มข้นของ NAA ที่เพิ่มขึ้น ในด้านจำนวนต้นต่อกอ การใช้ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นที่สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาต่อได้มากที่สุด 4.20 ต้นต่อกอ ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่มีจำนวนต้นที่สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาต่อได้เพียง 1.07-2.33 ต้นต่อกอ (ตารางที่ 18 ภาพที่ 30)

ตารางที่ 18 ผลของ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย การพัฒนารากและการเจริญเติบโตของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ภายหลังย้ายออกปลูกในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์

NAA (mg/l)	ต้นรอดตาย (%)	จำนวนรากต่อกอ	ความยาวราก (ซม.)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนต้นต่อกอ
0	100^{a}	9.93 ± 0.28^{c}	4.61 ± 0.28^{a}	9.75 ± 0.43^{b}	2.33 ± 0.00^{b}
NAA 0.1	100^{a}	22.00 ± 0.53^{a}	3.79 ± 0.27^{b}	10.57 ± 0.66^{a}	4.20 ± 1.39^{a}
NAA 0.5	100^{a}	21.67 ± 0.97^{a}	3.48 ± 0.16^{c}	10.17 ± 0.52^{ab}	2.13 ± 0.18^{bc}
NAA 1.0	86.0^{b}	12.73 ± 0.43^{b}	1.31 ± 0.15^{d}	6.95 ± 0.13^{c}	1.40 ± 0.15^{cd}
NAA 2.0	48.0^{c}	9.73 ± 0.28^{c}	1.02 ± 0.21^{d}	5.64 ± 0.18^{d}	1.07 ± 0.15^{d}

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

อายุ 2 สัปดาห์



0 0.1 0.5 1.0 2.0

NAA (mg/l)

ภาพที่ 30 (a และ b) ลักษณะของต้นและรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ภายหลังย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ต้นหญ้าแฝกหอมอายุ 3 สัปดาห์

ภายหลังย้ายต้นที่ชักนำการเกิดรากด้วย NAA ความเข้มข้นต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือนเพาะเลี้ยงต้นกล้าอ่อน เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ พบว่า ต้นหญ้าแฝกหอมที่ใช้ NAA 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์รอดตายทั้งหมด 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นหญ้าแฝกหอมที่ใช้ NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย 98.9 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยต้นถูกทำลายจากความเข้มข้นของ NAA ที่สูงเกินไป ส่วนจำนวนรากนั้น การเพาะเลี้ยงด้วย NAA ทุกระดับความเข้มข้น 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากมากกว่า การไม่ใช้ NAA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากมากที่สุดถึง 50.30 รากต่อกอ และแตกต่างจากการใช้ NAA ทุกระดับความเข้มข้น 0.1, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้จำนวนราก 41.98, 30.66 และ 19.86 รากต่อกอ ตามลำดับ ในขณะที่การไม่ใช้ NAA ให้จำนวนรากน้อยที่สุดเพียง 11.46 รากต่อกอ และในด้านความยาวรากนั้น การไม่ใช้ NAA หรือใช้ NAA ความเข้มข้นต่ำเพียง 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากมากที่สุดไม่แตกต่างกันคือ 6.80 และ 6.94 เซนติเมตร แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA ความเข้มข้นที่สูงขึ้น ที่มีความยาวลดลงตามระดับความเข้มข้นของ NAA ที่เพิ่มขึ้น คือ 5.12, 3.63 และ 1.96 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 19 ภาพที่ 31)

เมื่อพิจารณาให้เห็นว่า ภายหลังย้ายต้นออกปลูกนาน 2 สัปดาห์ การใช้ NAA ชักนำการเกิดรากจะให้จำนวนรากเพิ่มมากขึ้นกว่าการไม่ใช้ โดยการใช้ NAA มีจำนวนรากเพิ่มขึ้น 13.05-19.43 รากต่อกอ โดย NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากเพิ่มมากที่สุด (ตารางที่ 19 ภาพที่ 31)

ตารางที่ 19 ผลของ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย จำนวนรากและความยาวรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ภายหลังย้ายต้นออกปลูกในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์

NAA (mg/l)	**ต้นรอดตาย (%)**	**จำนวนราก ต่อกอ**	**ความยาวราก (ซม.)**	**จำนวนรากต่อกอที่เพิ่มขึ้นหลังย้ายปลูก**
0	100	11.46±0.08[e]	6.80±0.22[a]	1.66
NAA 0.1	100	41.98±1.19[b]	6.94±0.09[a]	13.05
NAA 0.5	100	50.30±1.37[a]	5.12±0.07[b]	19.43
NAA 1.0	100	30.66±0.43[c]	3.63±0.12[c]	17.49
NAA 2.0	98.9	19.86±0.55[d]	1.96±0.06[d]	14.63

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ดังนั้นการชักนำการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ แล้วย้ายต้นออกปลูกในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์ การใช้ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการชักนำการเกิดรากจะได้จำนวนรากเพิ่มได้มากที่สุดในขณะที่ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรจะให้ความยาวรากมากที่สุด

อายุ 2 สัปดาห์

0 0.1 0.5 1.0 2.0
NAA (mg/l)

ภาพที่ 31 (a และ b) ลักษณะของต้นและรากของต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้จากการชักนำการเกิดรากด้วย NAA ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยระบบ TIB เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ภายหลังย้ายต้นออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์

2.3. สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการให้ผลผลิตและการเพิ่มปริมาณสารสำคัญของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

2.3.1 ผลของ BA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อการให้ผลผลิตของต้นหญ้าแฝกหอม

นำชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมในระยะการเพิ่มปริมาณอายุ 1 เดือน มาเพาะเลี้ยงจำนวน 10 กอต่อขวด (1 กอมีประมาณ 15 ต้น) ด้วยระบบ TIB ในอาหารเหลวที่มี BA ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาเพาะเลี้ยง 15, 30, 45, และ 60 วัน พบว่า การใช้ BA ความเข้มข้นต่างๆ หรือระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือ การใช้ BA ร่วมกับระยะเวลาเพาะเลี้ยงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งจำนวนต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง โดยการใช้ BA 0.25-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยงนาน 15-60 วัน จะให้จำนวนต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ BA ที่สูงขึ้น และระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่นานขึ้น โดย BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงระยะเวลา 60 วัน ให้ผลดีที่สุด คือ ใน 1 กอ จะให้จำนวนต้นทั้งหมด 159.19 ต้น มีน้ำหนักสด 5.42 กรัม และน้ำหนักแห้ง 0.56 กรัม หรือใน 1 ภาชนะเพาะเลี้ยง (ขวดแก้วขนาด 700 มิลลิลิตร)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ให้จำนวนต้น 1,591.9 ต้น มีน้ำหนักสด 54.17 กรัม และน้ำหนักแห้ง 5.63 กรัม โดย BA ความเข้มข้นต่ำ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลน้อยกว่าความเข้มข้น 0.5 และ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งการใช้ BA ความเข้มข้นต่างๆ จะให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการที่ไม่ใช้ BA ในอาหารเลย ที่มีจำนวนต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม ในระยะเวลาเพาะเลี้ยง 45 วันนั้น การใช้ BA ความเข้มข้น 0.5-0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้จำนวนต้นน้อยกว่า BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่กลับให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากกว่า (ตารางที่ 20 ภาพที่ 32)

ตารางที่ 20 ผลของ BA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันต่อจำนวนต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

BA (mg/l)	ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)	จำนวนต้นต่อกอ	น้ำหนักสดต่อกอ (กรัม)	น้ำหนักแห้งต่อกอ (กรัม)	นน.สด/นน.แห้ง (กรัม)	จำนวนต้นต่อภาชนะ	น้ำหนักสดต่อภาชนะ (กรัม)	น้ำหนักแห้งต่อภาชนะ (กรัม)
0	15	34.80±2.09^{j}	0.39±0.01^{h}	0.07±0.00^{h}	5.7:1	348.0	3.90±1.00^{g}	0.77±0.06^{h}
	30	34.50±1.59^{j}	1.09±0.16^{g}	0.15±0.01^{fg}	7.3:1	345.0	10.09±0.19^{g}	1.53±0.15^{fg}
	45	34.72±1.70^{j}	1.67±0.10^{f}	0.25±0.03^{de}	6.7:1	347.2	16.70±1.01^{f}	2.50±0.26^{de}
	60	29.92±5.05^{j}	2.44±0.39^{e}	0.38±0.05^{c}	6.4:1	299.2	24.37±3.95^{e}	3.83±0.55^{c}
0.25	15	54.08±3.69^{i}	0.55±0.06^{gh}	0.09±0.01^{h}	9.2:1	540.8	5.53±0.57^{g}	0.90±0.10^{h}
	30	68.36±0.90^{h}	1.75±0.11^{f}	0.19±0.01^{ef}	9.2:1	683.6	17.50±1.11^{f}	1.93±0.11^{ef}
	45	69.22±1.92^{h}	2.12±0.37^{ef}	0.27±0.04^{d}	7.8:1	692.2	21.27±3.73^{ef}	2.73±0.45^{d}
	60	83.47±1.33^{g}	3.41±0.21^{cd}	0.46±0.02^{b}	7.4:1	834.7	34.10±2.10^{cd}	4.63±0.15^{b}
0.5	15	68.27±3.07^{h}	0.64±0.69^{gh}	0.10±0.01^{gh}	6.4:1	682.7	6.40±0.69^{g}	1.00±0.10^{gh}
	30	103.77±4.53^{f}	2.05±0.12^{ef}	0.22±0.23^{de}	9.3:1	1,037.7	20.53±1.21^{ef}	2.23±0.23^{de}
	45	116.47±0.65^{d}	3.76±0.29^{c}	0.44±0.03^{bc}	8.5:1	1,164.7	37.57±2.91^{c}	4.40±0.26^{bc}
	60	133.97±3.26^{b}	5.03±1.02^{ab}	0.58±0.08^{a}	8.7:1	1,339.7	50.30±10.18^{ab}	5.83±0.80^{a}
0.75	15	68.37±3.48^{h}	0.77±0.12^{gh}	0.11±0.02^{gh}	7.0:1	683.7	7.70±1.23^{g}	1.10±0.17^{gh}
	30	104.05±2.53^{f}	2.19±0.31^{ef}	0.23±0.03^{de}	9.5:1	1,040.5	21.93±3.10^{ef}	2.30±2.65^{de}
	45	126.11±1.92^{c}	3.20±0.16^{cd}	0.42±0.03^{bc}	7.6:1	1,261.1	32.03±1.56^{cd}	4.23±0.30^{bc}
	60	137.12±1.51^{b}	4.71±0.55^{b}	0.54±0.06^{a}	8.7:1	1,371.2	47.10±5.52^{b}	5.43±0.55^{a}
1.0	15	51.13±1.64^{i}	0.71±0.12^{gh}	0.09±0.01^{h}	7.9:1	511.3	7.10±1.22^{g}	0.93±0.06^{h}
	30	110.28±0.75^{e}	2.14±0.17^{ef}	0.26±0.02^{d}	8.2:1	1,102.8	21.43±1.68^{ef}	2.56±0.25^{d}
	45	133.06±6.76^{b}	3.09±0.40^{d}	0.39±0.03^{c}	7.9:1	1,330.6	30.90±4.01^{d}	3.93±0.32^{c}
	60	159.19±2.16^{a}	5.42±0.46^{a}	0.56±0.03^{a}	9.7:1	1,591.9	54.17±4.60^{a}	5.63±0.30^{a}
BA		*	*	*	-	-	*	*
ระยะเวลา (วัน)		*	*	*	-	-	*	*
BA x ระยะเวลา (วัน)		*	*	*	-	-	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

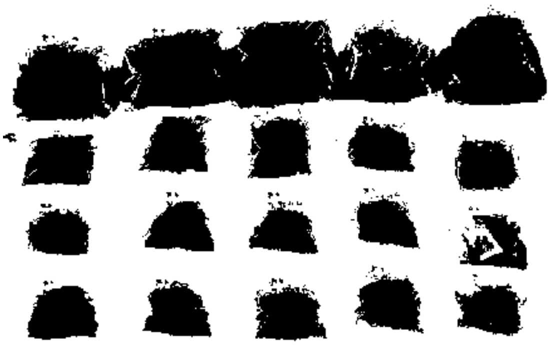
ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

เมื่อคิดอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งแล้ว พบว่าในระยะเวลาเพาะเลี้ยง 15-60 วัน การไม่ใช้ BA ในอาหาร ให้อัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งน้อยที่สุดกว่าการใช้ BA ความเข้มข้นต่างๆ โดยเฉพาะเวลาเพาะเลี้ยงได้ 15 วันที่มีอัตราน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด 5.7:1 ในขณะที่ การใช้ BA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งดีที่สุดที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยงนาน 60 วัน คือ 7.4:1 และ BA 0.5 และ 0.75 ต้องใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยงนาน 15 วัน เช่นเดียวกับการไม่ใช้ BA โดยมีอัตราน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้ง 6.4:1 และ 7.0:1 ตามลำดับ ส่วน BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น ต้องใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยงนาน 45 วัน จะให้น้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งเท่ากับ 7.9:1 (ตารางที่ 20)

ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)	BA (mg/l)				
	0	0.25	0.50	0.75	1.0
15					
30					
45					
60					

ภาพที่ 32 ผลของ BA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อการให้ผลผลิตหญ้าแฝกหอม

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 33 ผลผลิตหญ้าแฝกหอมที่เก็บเกี่ยวได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันด้วยระบบ TIB

2.3.2 ผลของชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงต่อการให้ผลผลิตต้นหญ้าแฝกหอม

ได้นำ BA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มาทดลองเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ผลผลิตต้นหญ้าแฝกหอม 2 ลักษณะ คือ การใช้ BA เพื่อให้ได้ต้นและใบ ส่วนการใช้ NAA เพื่อให้ได้ต้นใบและรากด้วย แล้วเปรียบเทียบต้นที่ไม่ใช้ทั้ง BA และ NAA (ชุดควบคุม) เพื่อจะนำไปวิเคราะห์หาสารสำคัญ

จากผลการทดลองพบว่าในด้านการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณต้นนั้นที่ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเดียวกัน ชุดควบคุมจะให้ความสูงของต้นหญ้าแฝกหอมมากที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้ BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเฉพาะที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 45 และ 60 วัน ที่มีความสูงของต้น 26.55 และ 31.66 เซนติเมตร แต่เมื่อระยะเวลาเพาะเลี้ยงลดลงเหลือ 15 และ 30 วัน ความสูงของต้นทั้ง 3 กรรมวิธีจะใกล้เคียงกัน ส่วนจำนวนต้นต่อกอของหญ้าแฝกหอม การใช้ BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้จำนวนต้อต่อกอมากที่สุด โดยเฉพาะที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 30-60 วัน ที่มีจำนวนต้น 78.13-85.53 ต้นต่อกอ (ตารางที่ 21) หรือ 1,204.0-1,282.9 ต้นต่อภาชนะ (ตารางที่ 22) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนต้นรองลงมา ส่วนชุดควบคุมมีจำนวนต้นน้อยที่สุด และในทุกกรรมวิธีมีรากเกิดขึ้นทั้งหมด ยกเว้น BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 15 วัน มีรากเกิดขึ้น 40 เปอร์เซ็นต์ โดยรากที่เกิดขึ้นนี้ จะมีลักษณะบางมากและบางกว่าชุดควบคุม ส่วนการใช้ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร รากจะหนามาก และมีจำนวนรากมากกว่าชุดควบคุมและการใช้ BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนรากมากถึง 39.60-64.60 รากต่อกอ โดยระยะเวลาเพาะเลี้ยง 60 วัน ให้จำนวนรากมากที่สุดใกล้เคียงกับชุดควบคุม แต่ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

15 และ 30 วัน จะให้จำนวนรากที่มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมและการใช้ BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร การใช้ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากจะให้จำนวนรากมากแล้วยังทำให้ความยาวรากมากที่สุดด้วยที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 45 และ 60 วัน พบว่า ให้ความยาวรากมากที่สุด 10.87-11.57 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุมที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยงเดียวกัน โดยชุดควบคุมให้ความยาวรากรองลงมา (ตาราง ที่ 21 ภาพที่ 34)

ตารางที่ 21 ผลของชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและพัฒนารากของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต	ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนต้นต่อกอ	การเกิดราก (%)	จำนวนรากต่อกอ	ความยาวราก (ซม.)	น้ำหนักสดต่อกอ (กรัม)	น้ำหนักแห้งต่อกอ (กรัม)
ชุดควบคุม	15	5.47±0.73^{f}	18.20±1.91^{h}	100	12.73±0.61^{e}	3.07±0.14^{e}	0.49±0.02^{g}	0.07±0.01^{h}
	30	14.77±2.18^{cd}	21.40±0.92^{fg}	100	41.53±7.72^{c}	7.89±1.35^{bc}	1.47±0.17^{f}	0.20±0.02^{fg}
	45	26.55±2.46^{b}	23.33±1.75^{f}	100	55.87±2.99^{ab}	8.19±0.18^{b}	1.89±0.06^{e}	0.30±0.02^{d}
	60	31.66±5.10^{a}	25.33±4.03^{f}	100	61.67±5.91^{ab}	8.31±0.81^{b}	2.27±0.25^{de}	0.38±0.05^{c}
BA 0.25 mg/l	15	5.08±0.20^{f}	31.53±1.70^{de}	40	3.83±0.76^{e}	2.58±0.67^{e}	0.79±0.06^{g}	0.10±0.01^{h}
	30	9.61±1.37^{e}	78.13±1.30^{b}	100	8.62±1.88^{e}	3.22±0.26^{e}	1.98±0.20^{e}	0.27±0.05^{de}
	45	14.34±1.56^{cd}	80.27±2.14^{b}	100	22.80±1.78^{d}	5.34±0.41^{d}	2.56±0.05^{cd}	0.39±0.02^{c}
	60	18.10±0.88^{c}	85.53±10.06^{a}	100	32.80±3.94^{c}	6.61±1.53^{cd}	3.21±0.29^{b}	0.46±0.01^{b}
NAA 0.1 mg/l	15	7.17±0.43^{ef}	30.80±3.20^{e}	100	39.60±8.66^{c}	2.50±0.24^{e}	1.26±0.16^{f}	0.16±0.03^{g}
	30	13.89±1.01^{d}	36.00±2.80^{d}	100	53.20±3.50^{b}	6.65±0.71^{cd}	2.11±0.02^{e}	0.24±0.02^{ef}
	45	14.49±2.10^{cd}	36.33±2.97^{d}	100	60.00±6.13^{ab}	10.87±0.82^{a}	2.67±0.15^{c}	0.38±0.02^{c}
	60	16.04±2.30^{cd}	53.75±4.63^{c}	100	64.60±8.43^{a}	11.57±0.54^{a}	3.92±0.56^{a}	0.54±0.05^{a}
ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต		*	*	ns	*	*	*	*
ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)		*	*	ns	*	*	*	*
ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต x ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)		*	*	ns	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ด้านน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งพบว่า การเพาะเลี้ยงด้วย NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด เมื่อระยะเวลาเพาะเลี้ยงเท่ากัน รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงด้วย BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนชุดควบคุมให้น้ำหนักน้อยที่สุด โดยในทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ซึ่ง NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 60 วัน ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ ใน 1 กอ ให้น้ำหนักสด 3.92 กรัม ให้น้ำหนักแห้ง 0.54 กรัม หรือ ใน 1 ภาชนะเพาะเลี้ยงให้น้ำหนักสด 58.75 กรัม น้ำหนักแห้ง 8.10 กรัม และมีอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งเท่ากับ 7.2:1 และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแล้ว พบว่าชุดควบคุมจะให้น้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด คือ 6.0:1 แต่อย่างไรก็ตาม ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 45 วัน BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งน้อยที่สุดคือ 6.6:1 และ 7.0:1 ตามลำดับ (ตารางที่ 22 ภาพที่ 34)

ตารางที่ 22 จำนวนต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อภาชนะของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต	ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)	จำนวนต้นต่อภาชนะ	น้ำหนักสดต่อภาชนะ	น้ำหนักแห้งต่อภาชนะ	นน.สด/นน.แห้ง (กรัม)
ชุดควบคุม	15	273.0	7.40±0.31^{f}	1.05±0.23^{h}	7.0:1
	30	321.0	22.10±2.49^{e}	3.01±0.28^{fg}	7.3:1
	45	349.9	28.30±0.92^{d}	4.45±0.31^{d}	6.3:1
	60	379.9	32.43±2.40^{d}	5.70±0.69^{c}	6.0:1
BA 0.25 mg/l	15	472.9	11.60±0.90^{f}	1.55±0.09^{h}	7.9:1
	30	1,171.9	29.65±2.98^{d}	4.05±0.69^{de}	7.3:1
	45	1,204.0	38.35±0.71^{c}	5.85±0.26^{c}	6.6:1
	60	1,282.9	48.15±4.44^{b}	6.95±0.23^{b}	7.0:1
NAA 0.1 mg/l	15	462.0	18.93±2.40^{e}	2.45±0.48^{g}	7.9:1
	30	540.0	31.70±0.35^{d}	3.55±0.35^{ef}	8.0:1
	45	544.9	40.05±2.31^{c}	5.80±0.23^{c}	7.0:1
	60	806.2	58.75±8.43^{a}	8.10±0.78^{a}	7.2:1
ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต		-	*	*	-
ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)		-	*	*	-
ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต x ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)		-	*	*	-

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

<table>
<tr><th rowspan="2">ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)</th><th colspan="3">ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต</th></tr>
<tr><th>Control</th><th>BA 0.25 mg/l</th><th>NAA 0.1 mg/l</th></tr>
<tr><td>15</td><td colspan="3"> </td></tr>
<tr><td>30</td><td colspan="3"> </td></tr>
<tr><td>45</td><td colspan="3"> </td></tr>
<tr><td>60</td><td colspan="3"> </td></tr>
</table>

ภาพที่ 34 ผลของชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อการให้ผลผลิตหญ้าแฝกหอม

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ด้านน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งพบว่า การเพาะเลี้ยงด้วย NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด เมื่อระยะเวลาเพาะเลี้ยงเท่ากัน รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงด้วย BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนชุดควบคุมให้น้ำหนักน้อยที่สุด โดยในทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ซึ่ง NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 60 วัน ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ ใน 1 กอ ให้น้ำหนักสด 3.92 กรัม ให้น้ำหนักแห้ง 0.54 กรัม หรือ ใน 1 ภาชนะเพาะเลี้ยงให้น้ำหนักสด 58.75 กรัม น้ำหนักแห้ง 8.10 กรัม และมีอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งเท่ากับ 7.2:1 และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแล้ว พบว่าชุดควบคุมจะให้น้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด คือ 6.0:1 แต่อย่างไรก็ตาม ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 45 วัน BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด คือ 6.6:1 และ 7.0:1 ตามลำดับ (ตารางที่ 23 ภาพที่ 35)

ตารางที่ 23 จำนวนต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อภาชนะของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต	ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)	จำนวนต้นต่อภาชนะ	น้ำหนักสดต่อภาชนะ	น้ำหนักแห้งต่อภาชนะ	นน.สด/นน.แห้ง (กรัม)
ชุดควบคุม	15	273.0	7.40±0.31^{f}	1.05±0.23^{h}	7.0:1
	30	321.0	22.10±2.49^{e}	3.01±0.28^{fg}	7.3:1
	45	349.9	28.30±0.92^{d}	4.45±0.31^{d}	6.3:1
	60	379.9	32.43±2.40^{d}	5.70±0.69^{c}	6.0:1
BA 0.25 mg/l	15	472.9	11.60±0.90^{f}	1.55±0.09^{h}	7.9:1
	30	1,171.9	29.65±2.98^{d}	4.05±0.69^{de}	7.3:1
	45	1,204.0	38.35±0.71^{c}	5.85±0.26^{c}	6.6:1
	60	1,282.9	48.15±4.44^{b}	6.95±0.23^{b}	7.0:1
NAA 0.1 mg/l	15	462.0	18.93±2.40^{e}	2.45±0.48^{g}	7.9:1
	30	540.0	31.70±0.35^{d}	3.55±0.35^{ef}	8.0:1
	45	544.9	40.05±2.31^{c}	5.80±0.23^{c}	7.0:1
	60	806.2	58.75±8.43^{a}	8.10±0.78^{a}	7.2:1
ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต		-	*	*	-
ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)		-	*	*	-
ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต x ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (วัน)		-	*	*	-

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ภาพที่ 35 ผลผลิตหญ้าแฝกหอมที่เก็บเกี่ยวได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกันด้วยระบบ TIB

2.3.3 ศึกษาหาปริมาณสารสำคัญจากผลผลิตหญ้าแฝกหอม (Total Phenolic Content)

จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในระยะการเพิ่มปริมาณต้นอายุ 1 เดือน ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บเกี่ยวในลักษณะต่างกัน ทั้งต้นสีเขียว จนถึงสีน้ำตาล พบว่า ใบหญ้าแฝกหอมที่มีสีน้ำตาลและตายระหว่างการเพาะเลี้ยงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าใบลักษณะอื่น รวมถึงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่สูงที่สุดด้วย (ตารางที่ 24)

ตารางที่ 24 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในระยะการเพิ่มปริมาณต้นอายุ 1 เดือน

กรรมวิธี	รายละเอียด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (μg/mg)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (μg/mg)
T1	ต้นสีเขียวขนาดใหญ่	4.35 ± 0.36	26.16 ± 0.29
T2	ต้นสีเขียวขนาดเล็ก	4.35 ± 0.45	48.61 ± 0.85
T3	ต้นและใบสีน้ำตาล (ทิ้งให้แห้งในขวดก่อนเก็บเกี่ยว)	4.02 ± 0.28	7.60 ± 0.16
T4	ใบสีน้ำตาล (ใบแห้งตายในขณะเพาะเลี้ยง)	6.70 ± 1.62	65.04 ± 1.98

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในระยะการเกิดรากที่อายุ 1 2 และ 3 เดือน โดยได้แยกส่วนของใบและรากออกจากกันในการวิเคราะห์ พบว่า ภาพรวมปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในรากสูงกว่าในส่วนของใบ โดยในส่วนของใบระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง คือ 2 เดือน คือ 3.54 μg/mg ส่วนของรากคือ 1 เดือน คือ 5.64 μg/mg (ตารางที่ 25)

ตารางที่ 25 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในระยะการเกิดรากที่อายุต่างๆกัน

กรรมวิธี	อายุ (เดือน)	ซ้ำที่	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (μg/mg)		ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (μg/mg)	
			ใบ	ราก	ใบ	ราก
T1	1	1	3.34±0.70	5.64±2.76	14.38±1.85	36.57±0.72
T2	2	1	3.54±1.64	3.63±1.69	15.52±0.12	20.88±2.58
T3	3	1	2.41±1.25	3.21±2.36	4.68±0.17	0.88±0.36
		2	3.29±2.07	2.96±1.25	42.75±1.07	22.62±0.42
		3	3.25±3.10	6.55±2.08	23.29±0.54	31.18±0.44

นอกจากนี้ได้ศึกษาผลของชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน พบว่าระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง คือ 30-45 วัน โดย NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุมมีแนวโน้มให้สารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าการใช้ BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างทางสถิติจากทุกกรรมวิธี และการเติม BA ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพิ่มขึ้น

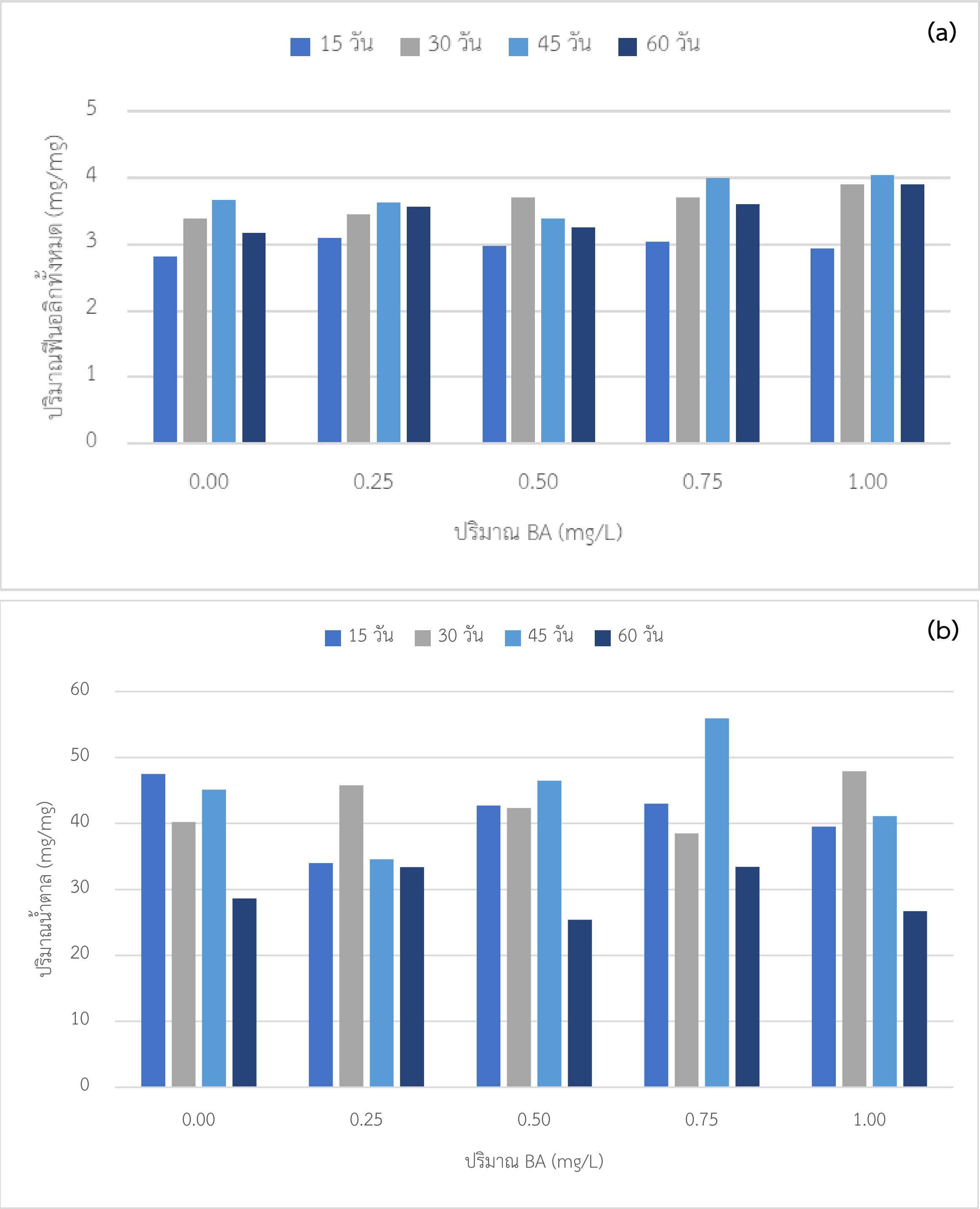
ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 26 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของหญ้าแฝกหอม ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มีชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

สารควบคุมการเจริญเติบโต	อายุ (วัน)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (µg/mg)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (µg/mg)
control	15	2.72 ± 1.96	47.57 ± 1.77
	30	3.36 ± 0.62	18.91 ± 0.49
	45	3.18 ± 1.06	35.49 ± 0.68
	60	2.36 ± 0.77	32.67 ± 1.02
BA 0.25 mg/l	15	2.92 ± 1.60	44.20 ± 0.81
	30	2.97 ± 1.67	48.61 ± 0.85
	45	2.99 ± 2.02	32.44 ± 1.04
	60	2.24 ± 2.88	36.00 ± 0.22
NAA 0.1 mg/l	15	3.02 ± 1.49	31.72 ± 0.82
	30	3.04 ± 1.98	31.63 ± 0.38
	45	3.16 ± 1.06	37.52 ± 0.81
	60	3.10 ± 1.17	48.62 ± 1.21

ในการศึกษาผลของความเข้มข้นของ BA ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ BA ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในหญ้าแฝกหอมเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้นไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ดังแสดงในภาพที่ 36

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 36 (a) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และ (b) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ที่มี BA ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับจำนวนวันเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหญ้าแฝกหอมจากแหล่งต่างๆ เทียบกับเพาะเลี้ยงด้วย TIB ต้นไม่มีรากในระยะเพิ่มปริมาณต้น และต้นมีรากจากการชักนำรากด้วย NAA 0.1 mg/l และสกัดด้วยวิธีการต้มถึงแม้ว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์ต่างๆ ที่มาจากแปลงปลูกจะสูงกว่าที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ก็ตาม แต่ต้นที่มีใบสีน้ำตาลและตายระหว่างการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 30.61 μg/mg ซึ่งสูงกว่าพันธุ์ขอนแก่น (25.02 μg/mg) และใกล้เคียงกับพันธุ์มหาสารคาม (32.29 μg/mg) อีกทั้งต้นที่เพาะเลี้ยงโดยการชักนำรากด้วย NAA 0.1 mg/l มีแนวโน้มของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าในระยะเพิ่มปริมาณต้น (ตารางที่ 27)

ตารางที่ 27 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compound; TPC) สารสกัดจากหญ้าแฝกหอมจากแหล่งต่างๆเทียบกับสารมาตรฐาน gallic acid

แหล่ง	รหัส	TPC μg/mg	แหล่ง	รายละเอียด	TPC μg/mg
ขอนแก่น	KK	25.02	เพาะเลี้ยงด้วย TIB ต้นไม่มีรากในระยะเพิ่มปริมาณต้น	T1ต้นสีเขียวขนาดใหญ่	15.17
กาฬสินธุ์	KL	37.41		T2 ต้นสีเขียวขนาดเล็ก	14.74
มหาสารคาม	MH	32.29		T3 ต้นและใบสีน้ำตาล (ทิ้งให้แห้งในขวดก่อนเก็บเกี่ยว)	18.41
สกลนคร	SK	42.15			
สุรินทร์	SR	47.20		T4 ใบสีน้ำตาล (ใบแห้งตายขณะเพาะเลี้ยง)	30.61
มหาสารคาม	Vz2	37.00	ต้นมีรากจากการชักนำรากด้วย NAA 0.1 mg/l	T1 อายุ 15 วัน	19.45
มหาสารคาม	Vz3	34.54		T2 อายุ 30 วัน	15.34
สเปร์ยดาย	SpD	27.32		T3 อายุ 45 วัน	17.03
				T4 อายุ 60 วัน	19.77

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

3. ตรวจสอบและจัดการการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝกหอมในระบบอาหารแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

3.1 แยกเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝกหอมในระบบอาหารแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวภาชนะขวดแก้วปริมาตร 700 มิลลิลิตร

ผลการวิจัย

จากการรวบรวมเนื้อเยื่อหญ้าแฝกหอมที่มีการปนเปื้อนจากระบบอาหารแข็งจำนวน 24 ตัวอย่าง และจากระบบอาหารเหลวจำนวน 10 ตัวอย่าง มาตรวจสอบลักษณะการปนเปื้อน พบว่าในระบบอาหารแข็งเป็นการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย 8 ตัวอย่าง ส่วนที่เหลือเป็นการปนเปื้อนเชื้อราทั้งหมดโดยเชื้อราที่พบทั้งหมดในการปนเปื้อนเป็นเชื้อราเส้นใยสีขาวฟูเมื่อจัดจำแนกพบว่าเป็น *Fusarium* sp. (ภาพที่ 37)

ภาพที่ 37 ลักษณะการปนเปื้อนของเชื้อราในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง

ในขณะที่การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย พบลักษณะการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสีขาว สีเหลือง รวมทั้งสีชมพู ในขวดอาหารแข็ง (ภาพที่ 38 และภาพที่ 39) ตรวจพบทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ โดยบางส่วนได้จำแนกชนิดแล้ว พบว่า แบคทีเรียโคโลนีสีเหลืองเป็น *Kosakonia arachidis, Kosakonia oryzae, Burkholderia cepacian* และ *Pantoea dispersa* ส่วนแบคทีเรียโคโลนีสีขาวเป็นเชื้อแบคทีเรียใสสกุล *Bacillus* สำหรับแบคทีเรียโคโลนีสีชมพูจำแนกได้เป็น *Methylorubrum rhodesianum*

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

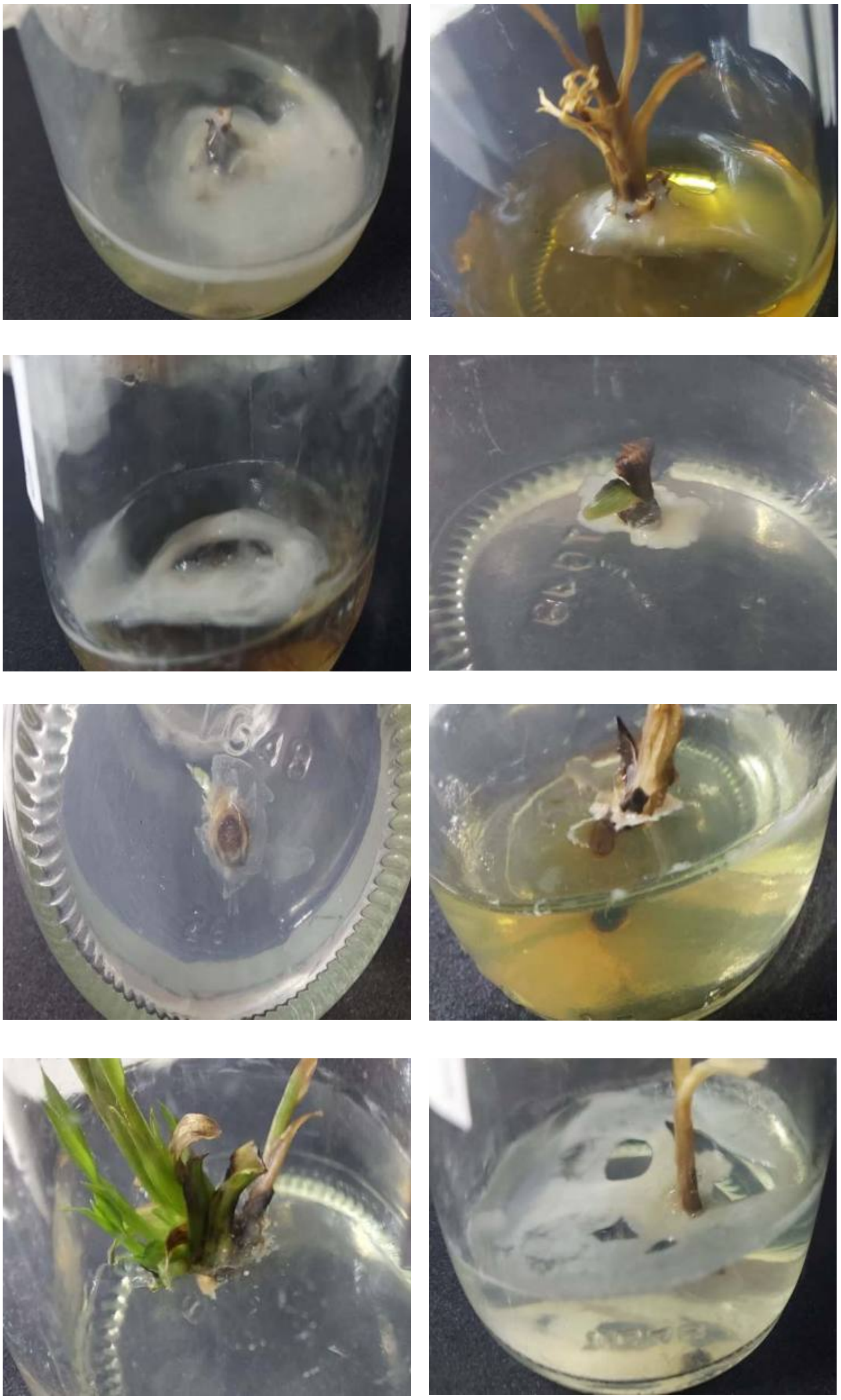
3.2 การจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา

ข้อมูลการจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหารแข็งด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (ตารางที่ 28)

ตารางที่ 28 ข้อมูลเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบในเนื้อเยื่อหญ้าแฝกที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง

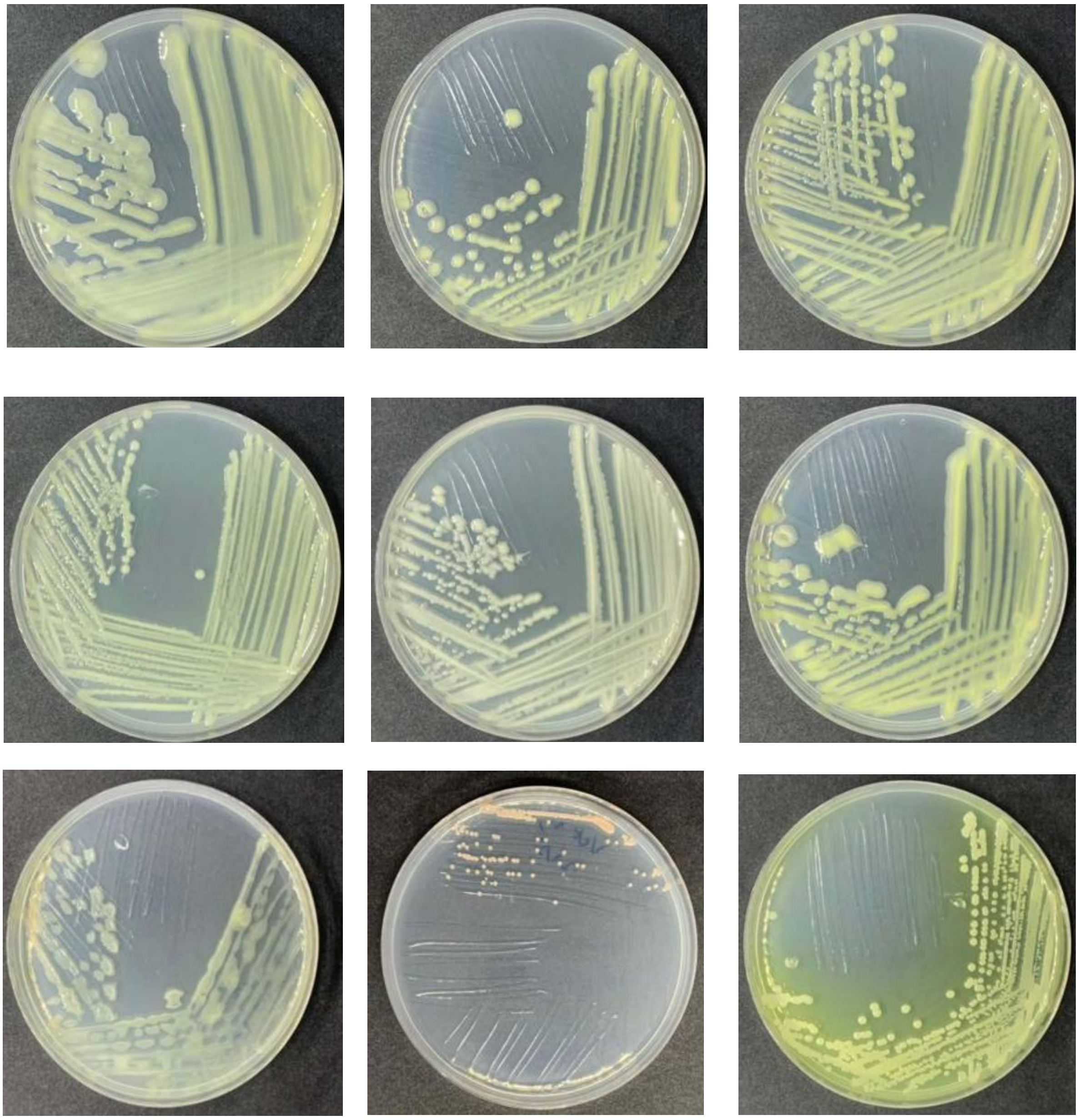
เชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบ	Accession no.	% homology
Acinetobacter bereziniae	LR135541	100
Acinetobacter bereziniae	MN082116	100
Agrobacterium fabrum	MN826531	100
Bacillus altitudinis	MT627439	100
Burkholderia cepacia	MN691129	100
Burkholderia contaminans	MT565302	100
Burkholderia gladioli	MT626030	99.89
Kosakonia arachidis	CP045300	99.51
Kosakonia oryzae	MK872359	99.87
Pantoea dispersa srain SA004	MN725743	100
Rhizobium pusense	MT573157	100
Pantoea dispersa	MN725743	100
Methylorubrum rhodesianum	MK318619	100

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 38 ลักษณะการปนเปื้อนของแบคทีเรียในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 39 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการปนเปื้อนในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

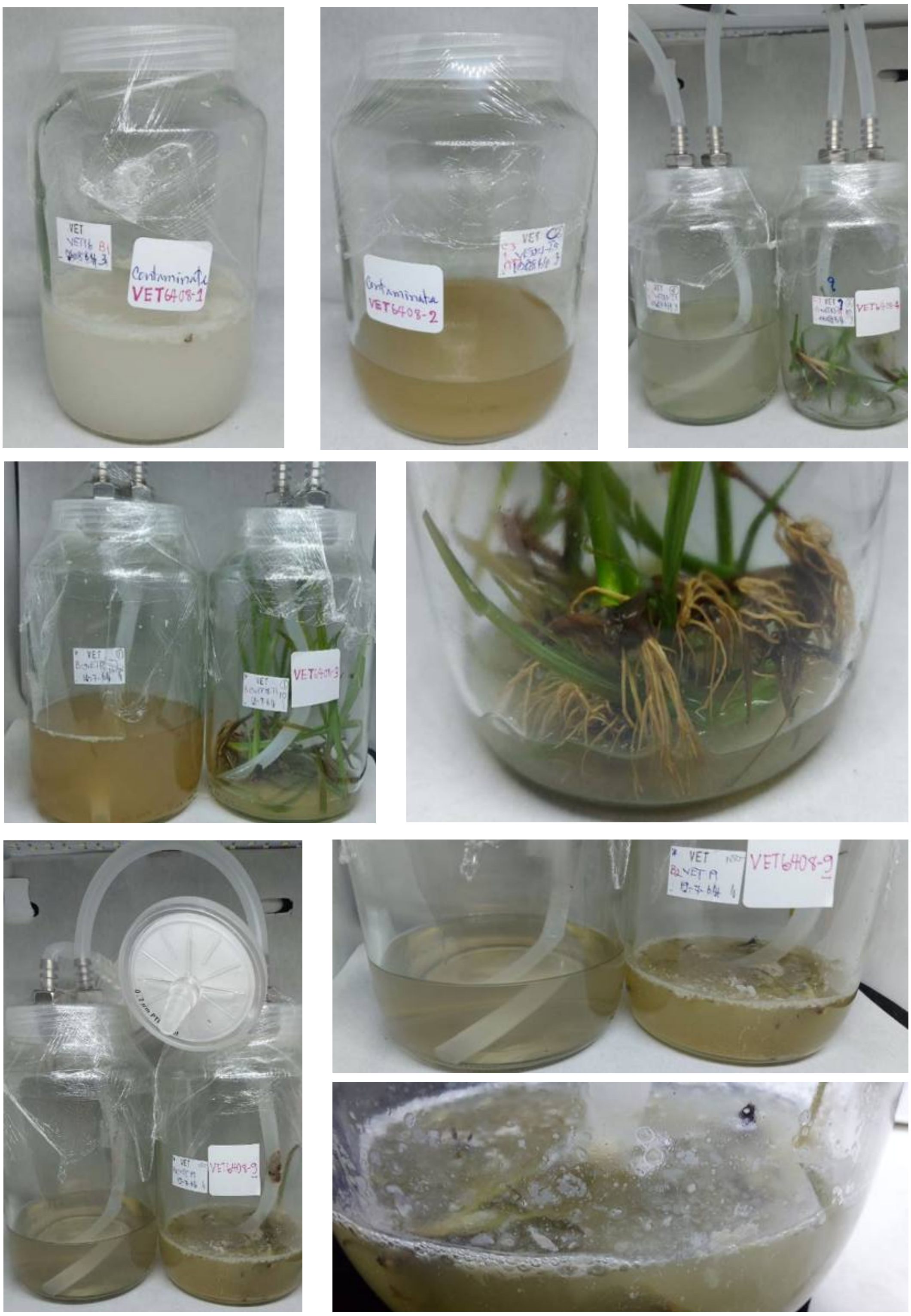
สำหรับการปนเปื้อนในอาหารเหลวในระบบ TIB จากการนำตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่าง มาตรวจสอบ พบว่าเป็นการปนเปื้อนแบคทีเรียจำนวน 6 ตัวอย่าง (ภาพที่ 40) เมื่อนำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร TSA พบว่า เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด มีสีขาว บางส่วนโคโลนีเยิ้มใส (ภาพที่ 41) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน สร้างสปอร์เมื่อนำมาจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา พบว่า ในการปนเปื้อนแบคทีเรียทั้งหมดมีสาเหตุมาจากแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* โดยประกอบด้วย *B. amyloliquefaciens* (Acession no. MT626036), *B. subtilis* (Acession no. MT605298, MZ712061, MT539995), *B. tequilensis* (Acession no. MT641220) และ *B. velezensis* (Acession no. MZ749456, MT626060) โดยในแต่ละตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนอาจพบ Bacillus มากกว่า 1 สปีชีส์ ดังแสดงในตารางที่ 29

ตารางที่ 29 การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ในการเพาะเลี้ยงหญ้าแฝกด้วยระบบ TIB

ตัวอย่าง	**สปีชีส์ที่ตรวจพบ**			
	B. amyloliquefaciens	*B. subtilis*	*B. tequilensis*	*B. velezensis*
VET6408-1	✓			
VET6408-2		✓		✓
VET6408-3				✓
VET6408-4		✓		
VET6408-9		✓	✓	
VET6408-10		✓		✓

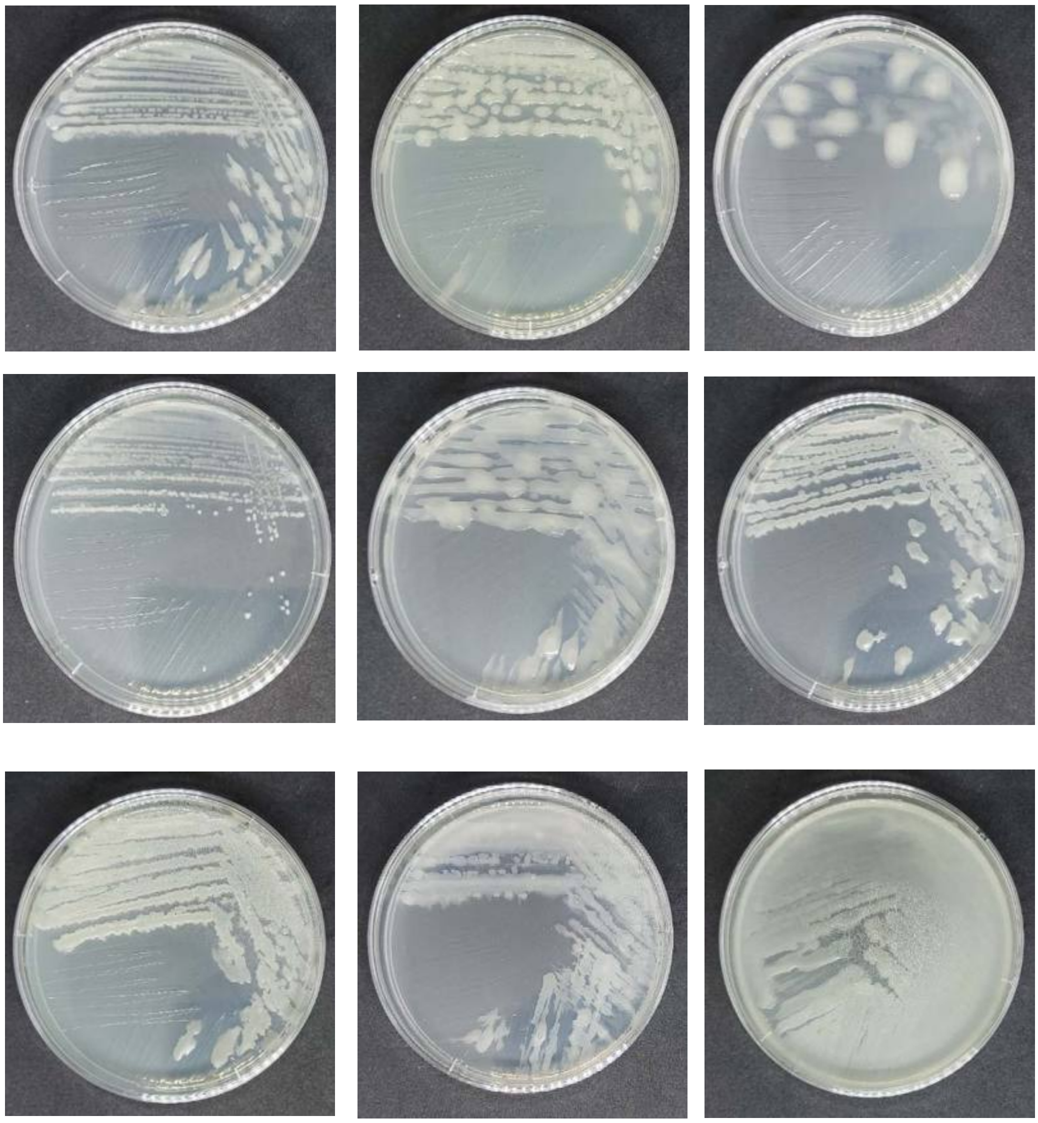
การปนเปื้อนของเชื้อราในระบบ TIB (ภาพที่ 42) เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร SRA (ภาพที่ 43) พบว่าเป็นการปนเปื้อนของเชื้อราเส้นใยสีขาว และสีดำ จากการจำแนกชนิดพบว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium solani* (AF129104) และ *Cladosporium* sp. (Acession no. LR813144)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 40 ลักษณะการปนเปื้อนของแบคทีเรียในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB

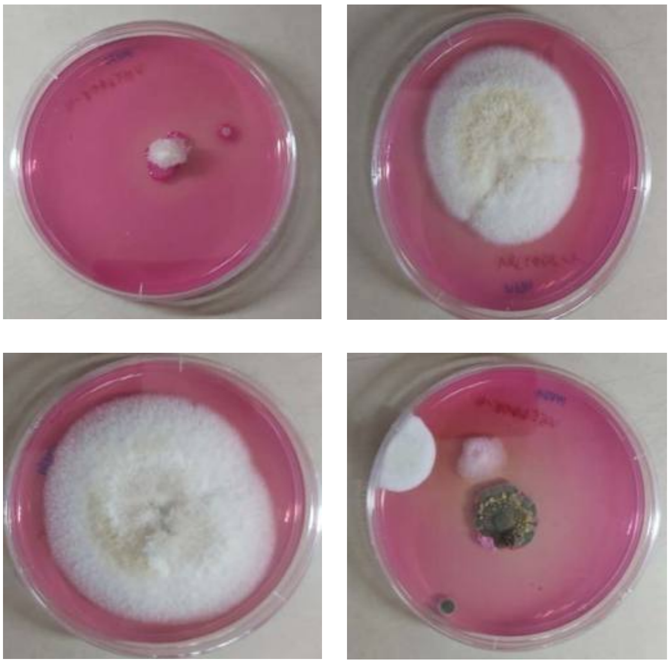
ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 41 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ภาพที่ 42 ลักษณะการปนเปื้อนของเชื้อราในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB



ภาพที่ 43 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราในหญ้าแฝกหอมที่ปนเปื้อนจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

3.3 การวิเคราะห์แหล่งที่มาของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงหญ้าแฝก

จากการจำแนกชนิดของแบคทีเรียและเชื้อราที่มีการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยง เปรียบเทียบกับข้อมูลการวิจัยที่มีมาก่อนหน้าดังตารางที่ 30 และ 31 โดยการปนเปื้อนของแบคทีเรียในตัวอย่างอาหารแข็งที่ได้รับมาจึงอาจมีแหล่งหลักจากชิ้นส่วนพืช ซึ่งเป็นกลุ่มของเอนโดไฟท์ และเชื้อแบคทีเรียในดิน อย่าง *Agrobacterium* ในขณะที่การปนเปื้อนของแบคทีเรียทั้งหมดในระบบ TIB เป็นการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus* โดยอยู่ในสปีชีส์ *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. tequilensis* และ *B. velezensis* ซึ่งต่างจากที่พบการปนเปื้อนในอาหารแข็ง อาจสามารถระบุได้ว่าการกำจัดเชื้อแบคทีเรียชิ้นส่วนพืชก่อนเข้าสู่ระบบ TIB ทำได้สมบูรณ์ แต่การการปนเปื้อนในระบบ TIB น่าจะมาจากการจัดการสิ่งแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

สำหรับการปนเปื้อนเชื้อราทั้งในระบบอาหารแข็งและ TIB พบเชื้อราในจีนัส *Fusarium* และ *Cladosporium* จึงอาจระบุได้ว่าอาจจากสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนลงไป โดยห้องปฏิบัติการอาจมีอากาศจากด้านนอกอาคารเข้าไปได้ อีกทั้งเชื้อราเอนโดไฟท์จากหญ้าแฝกโดยเฉพาะในส่วนของอาหารแข็ง

ตารางที่ 30 เชื้อแบคทีเรียที่มีรายงานการเป็นเอนโดไฟท์ในหญ้าแฝก

เชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบ	เอกสารอ้างอิงรายงานการเป็นเอนโดไฟท์ในหญ้าแฝก
Acinetobacter	Monteiro *et al.* (2009); Munakata *et al.* (2021)
Agrobacterium	-
Bacillus	Monteiro *et al.* (2011); Munakata *et al.* (2021)
Burkholderia	Monteiro *et al.* (2009); Monteiro *et al.* (2011); Ho and Huang (2015)
Kosakonia	Munakata *et al.* (2021)
Pantoea	Monteiro *et al.* (2009); Munakata *et al.* (2021)
Rhizobium	Munakata *et al.* (2021)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 31 เชื้อราที่เป็นเอนโดไฟท์ในหญ้าแฝกและในสิ่งแวดล้อมห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

แหล่งที่มา	**เชื้อรา**	**อ้างอิง**
เอนโดไฟท์ในหญ้าแฝก	*Aspergillus* sp.	Praveen *et al.* (2014)
	Cladosporium sp.	
	Fusarium sp.	
	Pestalotiopsis sp.	
สิ่งแวดล้อมห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	*Alternaria* sp.	Odutayu *et al.* (2007); Altan *et al.* (2010)
	Aspergillus sp.	Odutayu *et al.* (2007); Altan *et al.* (2010)
	Cladosporium sp.	Odutayu *et al.* (2007); Muangsue and Amimanan (2018)
	Curvularia sp.	Muangsue and Amimanan (2018)
	Fusarium sp.	Odutayu *et al.* (2007); Altan *et al.* (2010)
	Penicillium sp.	Altan *et al.* (2010); Muangsue and Amimanan (2018)
	Rhizopus sp.	Odutayu *et al.* (2007); Altan *et al.* (2010); Muangsue and Amimanan (2018)
	Mycellia sterillia	Altan *et al.* (2010)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

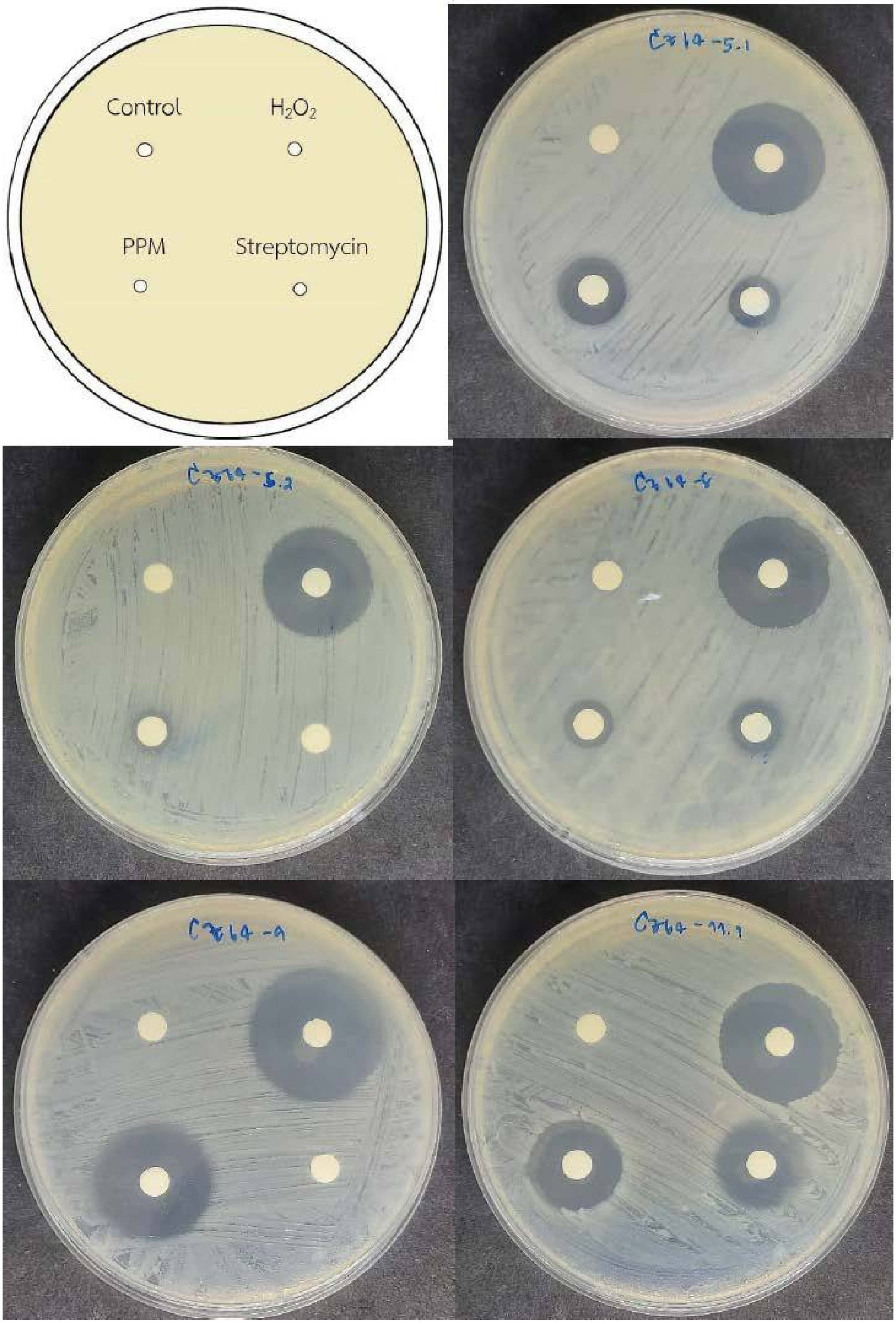
3.4 ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยสารฆ่าเชื้อ

เมื่อทดสอบสารฆ่าเชื้อที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 3 ชนิด ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (6%) PPM (2ml/l) และ streptomycin (0.1%) กับแบคทีเรียจำนวน 11 สายพันธุ์ ที่ปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝก ด้วยวิธี paper disc agar diffusion (ภาพที่ 44) ได้ผลแสดงในตารางที่ 32 จากตารางจะเห็นได้ว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิดที่ทดสอบซึ่งเป็นการอ่านผลที่ 48 ชั่วโมง หากบ่มเชื้อนานกว่านี้บริเวณการยับยั้งจะเล็กลงและหายไปในที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากการสลายตัวของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในขณะที่ PPM ในระดับความเข้มข้นที่ใช้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้เกือบทุกตัว ยกเว้น *Bacillus tequilensis* ซึ่งเป็นเชื้อที่ปนเปื้อนในระบบ TIB รวมถึง PPM ยังให้ผลการยับยั้งเชื้อในจีนัส Burkholderia ได้น้อยกว่าจีนัสอื่นๆ สำหรับ streptomycin 0.1% ยับยั้งได้เฉพาะ *Kosakonia, Rhizobium, Acinitobacter, Bacillus amyloliquefaciens, B. velezensis* และ *Bacillus subtilis subsp. subtilis*

ตารางที่ 32 การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนด้วยสารฆ่าเชื้อ

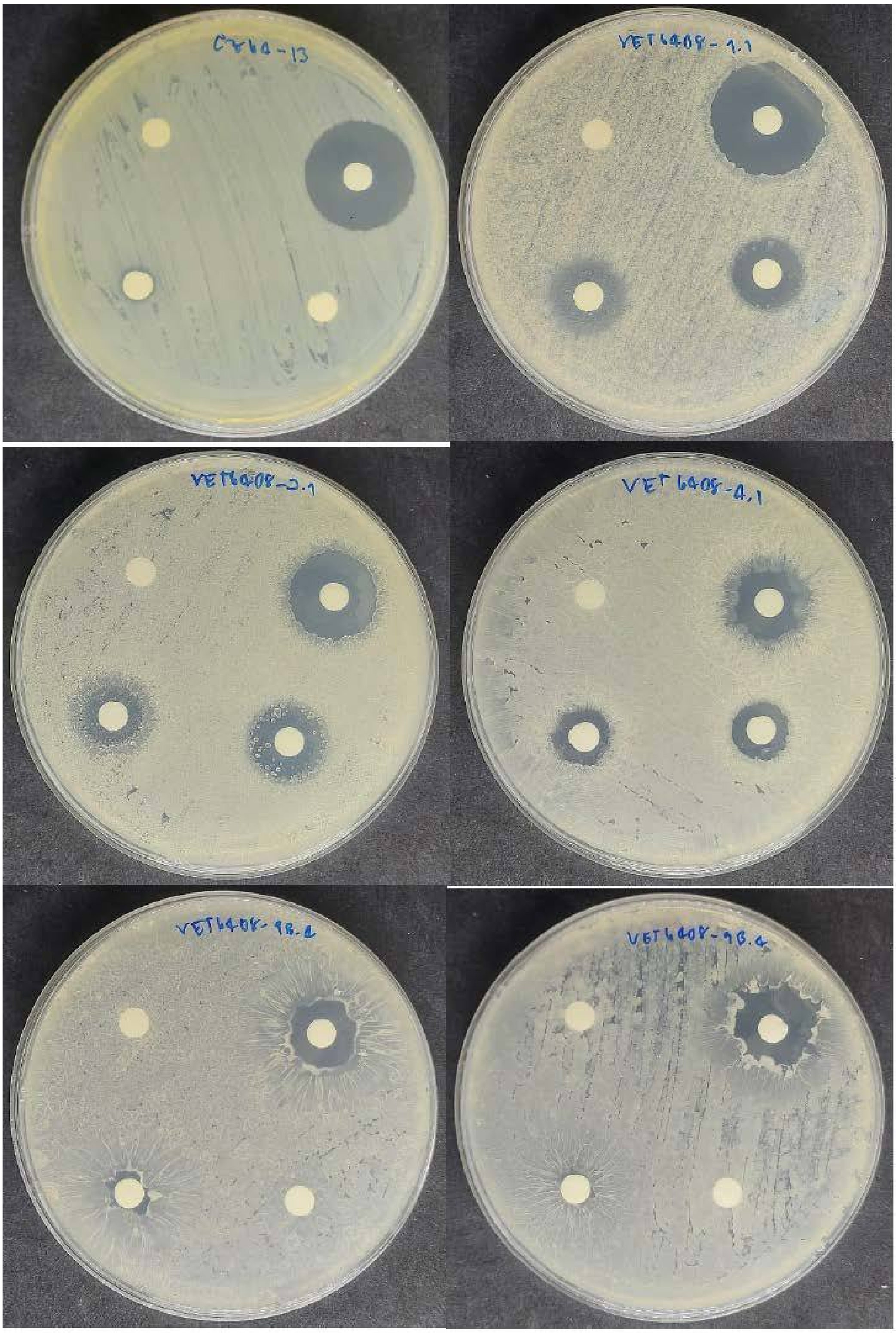
รหัสเชื้อ	เชื้อแบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์บริเวณยับยั้ง (mm)		
		H_2O_2 (6%)	PPM (2 mi/l)	Streptomycin (0.1%)
Cz64-5.1	*Kosakonia oryzae*	18.53	13.57	11.43
Cz64-5.2	*Burkholderia contaminans*	24.70	9.00	
Cz64-8	*Pantoea dispersa*	27.63	23.13	
Cz64-9	*Rhizobium pusense*	25.53	10.93	11.53
Cz64-11.1	*Acinetobacter bereziniae*	26.33	19.47	18.27
Cz64-13	*Burkholderia cepacia*	24.03	6.87	
VET6408-1.1	*Bacillus amyloliquefaciens*	24.30	13.20	14.30
VET6408-3.1	*Bacillus velezensis*	18.83	12.71	16.09
VET6408-4.1	*Bacillus subtilis subsp. subtilis*	17.36	11.25	12.74
VET6408-9B.2	*Bacillus subtilis*	17.19	9.91	
VET6408-9B.4	*Bacillus tequilensis*	11.98		

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



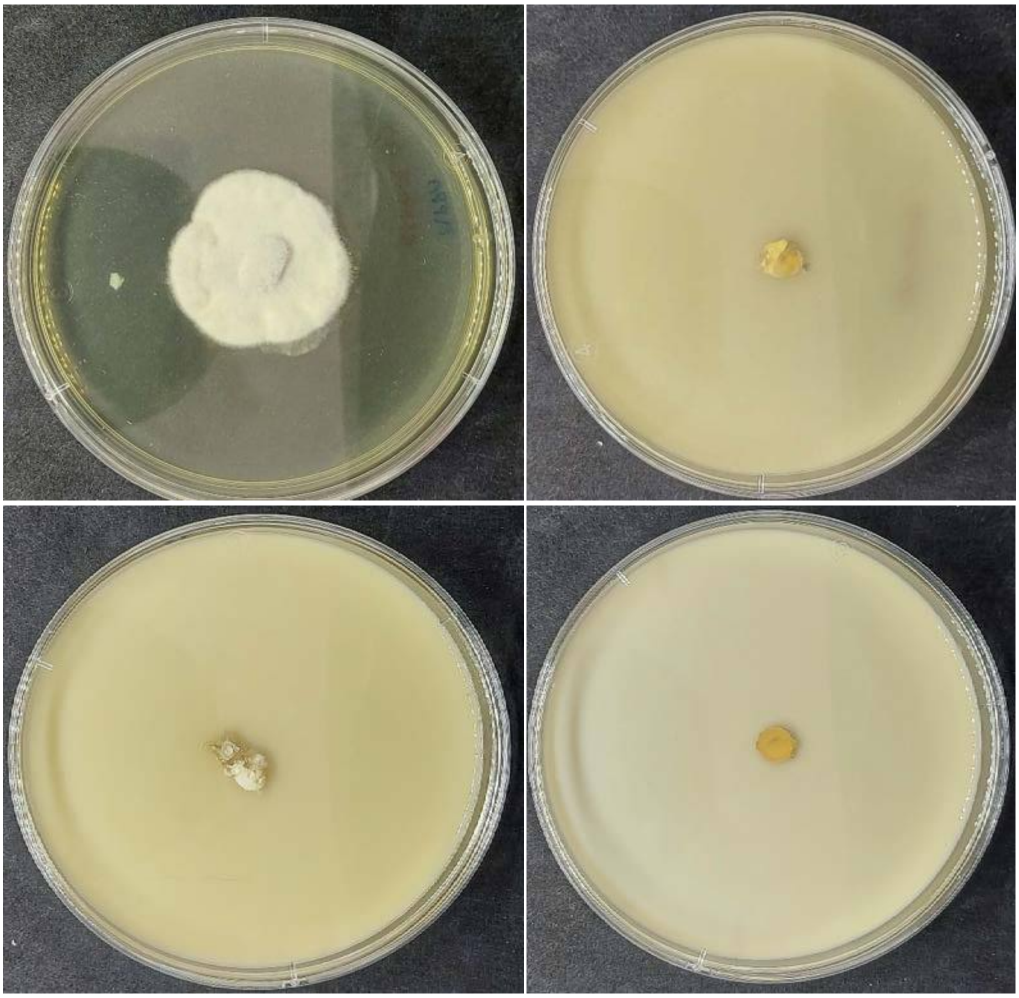
ภาพที่ 44 บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (6%) PPM (2ml/l) และ streptomycin (0.1%)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



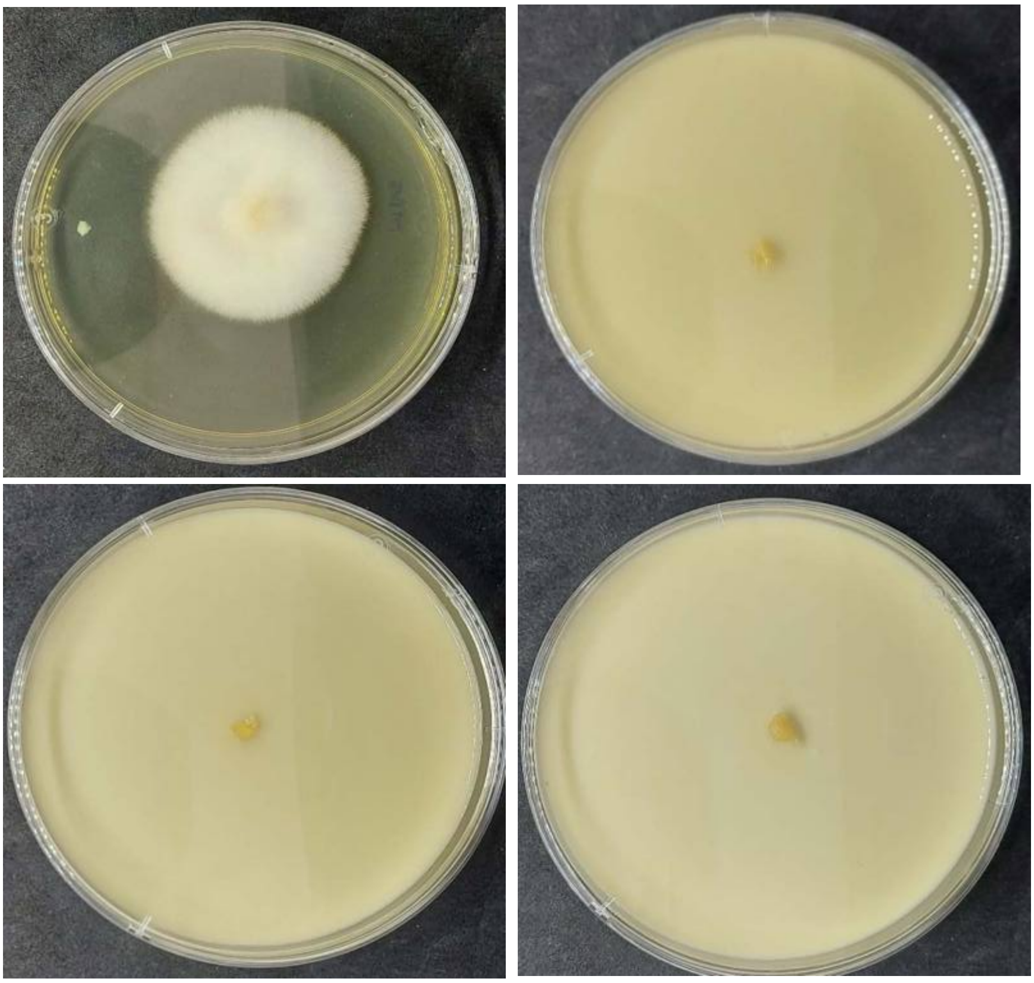
ภาพที่ 44 (ต่อ)

สำหรับการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา 3 สายพันธุ์ คือ *Fusarium* sp., *F. solani* และ *Cladosporium* กับ คาร์เบนดาซิม 1 2 และ 3% พบว่า ทั้ง 3 ความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ (ภาพที่ 45-47)

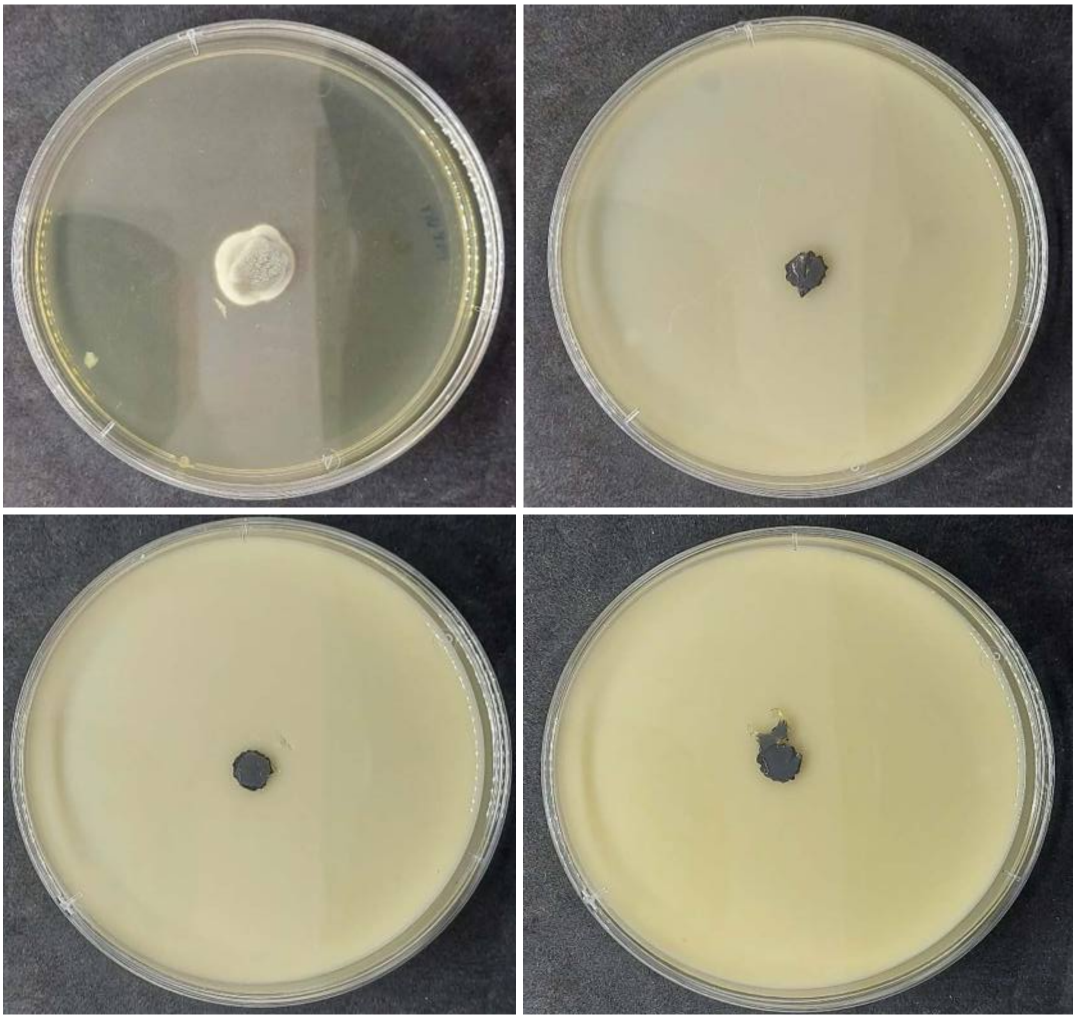


ภาพที่ 45 การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* sp. ด้วย คาร์เบนดาซิม 0 1 2 และ 3%

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 46 การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium solani* ด้วย คาร์เบนดาซิม 0 1 2 และ 3%



ภาพที่ 47 การยับยั้งเชื้อรา *Cladosporium* ด้วย คาร์เบนดาซิม 0 1 2 และ 3%

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

วิจารณ์ผลการวิจัย

การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่เกิดขึ้นกับชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง ถึงแม้ว่าในกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อจะมีการใช้สารเคมีที่ได้รับความนิยมในการควบคุมการปนเปื้อนแล้วก็ตาม เช่น ยาปฏิชีวนะ Streptomycin (0.2%) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (6%) ก็ยังไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งหมด จึงทำให้ชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม PPM เกิดการปนเปื้อนทั้งหมด ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม PPM 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ต้นปลอดเชื้อเพิ่มขึ้น ซึ่งเมื่อนำสารทั้ง 3 ชนิด มาทำการทดสอบกับแบคทีเรียจำนวน 11 สายพันธุ์ที่ปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝก พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิดที่ทดสอบที่ 48 ชั่วโมง หากบ่มเชื้อนานกว่านี้บริเวณการยับยั้งจะเล็กลงและหายไปในที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากการสลายตัวของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในขณะที่ PPM ในระดับความเข้มข้นที่ใช้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้เกือบทุกตัว ยกเว้น *Bacillus tequilensis* ซึ่งเป็นเชื้อที่ปนเปื้อนในระบบ TIB รวมถึง PPM ยังให้ผลการยับยั้งเชื้อในจีนัส *Burkholderia* ได้น้อยกว่าจีนัสอื่นๆ สำหรับ streptomycin 0.1% ยับยั้งได้เฉพาะ *Kosakonia, Rhizobium, Acinitobacter, Bacillus amyloliquefaciens, B. velezensis* และ *Bacillus subtilis subsp. Subtilis* ซึ่งมีรายงานการตรวจพบแบคทีเรียในจีนัส *Acinetobacter, Burkholderia* และ *Pantoea* ในดินรอบรากหญ้าแฝก (Monteiro *et al*., 2009) ส่วนในรากหญ้าแฝกจากรายงานของ Monteiro *et al*. (2011) มีการตรวจพบ *Burkholderia cepacia* ดังนั้นการปนเปื้อนในตัวอย่างอาหารแข็งที่ได้รับมาจึงอาจมีแหล่งหลักจากชิ้นส่วนพืช

การเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมในระบบอาหารแข็งภายหลังจากการชักนำการเกิดต้นพบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงเข้าสู่สัปดาห์ที่ 3-4 ต้นจะชะงักการเจริญเติบโต ใบเริ่มแห้งและตาย ลำต้นเป็นสีน้ำตาลโดยเฉพาะอาหารบริเวณที่สัมผัสกับโคนต้นจะเห็นเป็นสีน้ำตาลที่ชัดเจน และหากไม่มีการย้ายลงอาหารใหม่ต้นจะตายในที่สุด เนื่องจากเกิดจากสารประกอบฟีนอลิคซึ่งอยู่ในต้นพืชเอง ดังนั้นจึงได้ย้ายต้นจากการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็งไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB ซึ่งต้นพืชไม่ได้สัมผัสกับอาหารตลอดเวลา และสารประกอบฟีนอลิคสามารถแพร่กระจายในอาหารเหลวได้ซึ่งทำให้เจือจาง ลดความรุนแรงลง ส่งผลให้ต้นหญ้าแฝกหอมสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณต่อได้ และเมื่อเพาะเลี้ยงนานขึ้น 4 สัปดาห์ อาหารเหลวที่เพาะเลี้ยงจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้นชัดเจน ซึ่งต้องทำการเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

ในการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอม BA ได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมกับอาหาเหลวจะอยู่ในช่วง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร MS (1962) ซึ่งให้ผลดีที่สุดในการเพิ่มปริมาณ โดยให้จำนวนต้นมากที่สุดเฉลี่ย 8 ยอดใหม่ใน 6 สัปดาห์ (Le van Be *et al.*, 2008) ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบ TIB ในอาหารเหลว การใช้ BA ที่เหมาะสม คือ 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชิ้นส่วนต้นจิ๋วควรใช้ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนที่มีขนาดความสูง 0.6-2.0 และ 2.1-6.0 เซนติเมตร ควรใช้ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้จำนวนต้นที่มีขนาด <0.5-10.0 เซนติเมตร จำนวน 13.97, 22.87 และ 15.85 ต้นต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ และเมื่อเพาะเลี้ยงที่

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ความเข้มข้นเดียวกัน คือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ยังให้จำนวนต้นที่เกิดมากกว่า TDZ ด้วย ส่วน Widoretno *et al.* (2017) ได้ทำการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝก โดยใช้ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้จำนวนต้นเฉลี่ย 126 ต้นต่อชิ้นส่วน และการใช้ BA 3-5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะกระตุ้นยอดได้มากขึ้นแต่ได้ยอดสั้น ในทางตรงกันข้ามในอาหารเพิ่มปริมาณที่เติม BA 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นน้อยกว่าแต่มีความยาวยอดมากกว่า

จำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต้นหญ้าแฝกหอมในระยะเพิ่มปริมาณต้นนั้น การให้อาหารจำนวน 6 ครั้ง นานครั้งละ 5 และ 10 นาที และการให้อาหารจำนวน 12 ครั้ง นานครั้งละ 1 และ 5 นาที ให้การเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นไม่แตกต่างกัน แต่การให้อาหารเป็นเวลานาน 5-10 นาที มีผลต่อน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากชิ้นส่วนแช่อยู่ในอาหารเหลวเป็นเวลานานกว่า ดังนั้นจึงเลือกให้อาหารจำนวน 6 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที เพราะค่าใช้จ่ายลดลงครึ่งหนึ่งจากการให้อาหารจำนวน 12 ครั้ง ส่วนในระยะการยืดยาวของต้น และการชักนำการเกิดราก การให้อาหารจำนวน 6 และ 12 ครั้ง นานครั้งละ 1 และ 5 นาที ก็ให้ผลไม่แตกต่างกันทั้งจำนวนต้นและน้ำหนักสดต่อกอ ซึ่ง นพมณี และคณะ (2555) ได้รายงานว่าการให้อาหารแก่ต้นพืชที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป เช่น ในอ้อยให้อาหารจำนวน 12 ครั้ง นานครั้งละ 15 นาที ในขณะที่ในกล้วยหอมให้อาหารจำนวน 6 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที ส่วนจำนวนต้นต่อภาชนะจะเพิ่มประสิทธิภาพอัตราการขยายพันธุ์และลดต้นทุนการผลิต แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับลักษณะของชิ้นส่วนและระยะเวลาที่เพาะเลี้ยงด้วย

การยืดยาวของต้นและชักนำการเกิดราก พบว่าการใช้ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรเหมาะสมที่สุดในการชักนำการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอม โดยให้จำนวนรากต่อกอและจำนวนต้นต่อกอมากที่สุดถึง 25.63 ราก และ 21.77 ต้น ตามลำดับ และเมื่อย้ายปลูกต้นรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างจาก Le Van Be *et al.*, (2008) ที่ใช้ NAA ความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการออกราก ทำให้ได้จำนวนรากต่อกอเฉลี่ย 19 ราก ในขณะที่การไม่ใช้ NAA ให้จำนวนราก 7.6 รากต่อกอ ซึ่งจากการทดลองนี้ การใช้ NAA ความเข้มข้นสูงเกิน 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนรากที่เกิดลดลง

ในการเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมในระยะยืดยาวและชักนำการเกิดรากนาน 3 สัปดาห์ แล้วนำออกปลูกนั้น การใช้ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพิ่มจำนวนรากที่เกิดใหม่ได้มากที่สุดถึง 19.43 รากต่อกอในเวลา 2 สัปดาห์ ซึ่งอาจพิจารณาเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งในการผลิตต้นออกปลูกเพื่อนำไปทดสอบกับแปลงปลูกพริกเพราะจะทำให้ได้ระบบรากที่แข็งแรง และมีการกระจายตัวของรากได้มากขึ้น หรือใช้ในการผลิตสาระสำคัญด้วยระบบ TIB ซึ่งจากงานวิจัยของ Gebashe *et al.* (2020) ที่พบว่าในส่วนของรากจะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคมากกว่าส่วนของใบ

เมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB กับหญ้าแฝกจากแปลงปลูกเมื่อสกัดโดยการต้ม จะเห็นได้ว่าในระบบ TIB มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่า อยู่ระหว่าง 15.17-30.61 μg/mg และเนื่องจากปริมาณตัวอย่างจากการเพาะเลี้ยงด้วย

ระบบ TIB มีปริมาณไม่มากพอจึงสกัดด้วยการใช้ sonicator แทนการต้ม พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะอยู่ในช่วง 2.41-6.55 μg/mg ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งเมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Prajna *et al*., (2013) ที่สกัดหญ้าแฝกด้วยน้ำและ methanol ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ระหว่าง 0.165-0.445 μg/mg น้ำหนักสด โดยส่วนที่ให้ปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุดในงานวิจัยดังกล่าวเป็นส่วนของ water soluble alkaline ซึ่งเมื่อวิเคราะห์สารสกัดนี้ด้วย HPLC พบว่าสารสำคัญประกอบด้วย p-hydroxybenzoic acid, p-coumaric acid และ ferulic acid ในขณะที่งานวิจัยของ Gebasha *et al*., (2020) สกัดหญ้าแฝกหอมด้วย 80% methanol ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในรากสูงกว่าในใบ เช่นเดียวกับงานวิจัยนี้ โดยในรากมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 7.3 μgGAE/mg ของน้ำหนักแห้ง ส่วนของใบมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 6.0 μgGAE/mg ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบด้วย UHPLC พบว่ากลุ่มของ hydroxybenzoic acids ที่พบปริมาณสูงสุดคือ vanillic acid นอกจากนี้ยังพบ syringic acid, salicylic acid, photocatechuic acid และ p-hydroxybenzoic acid สำหรับกลุ่มของ hydroxycinnamic acids ที่พบสูงสุดคือ p-coumaric acid รองลงมาคือ ferulic acid และยังพบ caffeic acid chlorogenic acid และ sinapic acid ซึ่งจากงานวิจัยที่มีมาก่อนหน้าที่กล่าวมานี้นั้นจะเห็นได้ว่าวิธีการสกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้ด้วย ดังนั้นจะเป็นแนวทางในการผลิตหญ้าแฝกด้วยระบบ TIB เพื่อให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกซึ่งถือเป็นสารสำคัญในการกำจัดไส้เดือนฝอยศัตรูพริก เนื่องจากปริมาณฟีนอลิกไม่แตกต่างจากงานวิจัยเหล่านี้มากนัก

เชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบอาหารแข็ง ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เมื่อจำแนกชนิดด้วยเทคนิคอณูชีววิทยาอยู่ในจีนัส *Acinetobacter, Agrobacterium, Burkholderia, Cupriavidus, Kosakonia, Pantoea* และ *Rhizobium* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้สามารถพบได้ทั่วไปในดิน รวมถึงมีรายงานการตรวจพบแบคทีเรียในจีนัส *Acinetobacter, Burkholderia* และ *Pantoea* ในดินรอบรากหญ้าแฝก (Monteiro *et al*., 2009) ส่วนในรากหญ้าแฝกจากรายงานของ Monteiro *et al* (2011) มีการตรวจพบ *Burkholderia cepacia* ดังนั้นการปนเปื้อนในตัวอย่างอาหารแข็งที่ได้รับมาจึงอาจมีแหล่งหลักจากชิ้นส่วนพืช สำหรับแบคทีเรียแกรมบวกที่พบในการปนเปื้อนในระบบอาหารแข็งที่จำแนกแล้วคือ *Bacillus altitudinis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างท่อน ซึ่งในรายงานของ Monteiro *et al*. (2011) พบว่าสามารถแยก *Bacillus* จากรากหญ้าแฝกแต่ไม่ได้ระบุสปีชีส์ ในขณะที่การปนเปื้อนของแบคทีเรียทั้งหมดในระบบ TIB เป็นการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus* โดยอยู่ในสปีชีส์ *B. amyloliquefaciens, B. subtilis, B. tequilensis* และ *B. velezensis* ซึ่งต่างจากที่พบการปนเปื้อนในอาหารแข็ง โดยเชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* มีมากกว่า 226 สปีชีส์ สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทั้งดิน อากาศ คน สัตว์ และ พืช (Mandic-Mulec *et al*., 2015) อาจสามารถระบุได้ว่าการกำจัดเชื้อแบคทีเรียชิ้นส่วนพืชก่อนเข้าสู่ระบบ TIB ทำได้สมบูรณ์ แต่การปนเปื้อนในระบบ TIB น่าจะมาจากการจัดการสิ่งแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง

สำหรับการปนเปื้อนเชื้อราทั้งในระบบอาหารแข็งและ TIB พบเชื้อราในจีนัส *Fusarium* ส่วน *Cladosporium* พบเฉพาะในระบบ TIB ซึ่งเชื้อรา *Cladosporium* ถือว่าเป็น air spora ดังนั้นการปนเปื้อนของ *Cladosporium* จึงสามารถระบุได้ว่าอาจมาจากสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนลงไป ห้องปฏิบัติการอาจมีอากาศจากด้านนอกอาคารเข้าไปได้ สำหรับ *Fusarium* sp. จากงานวิจัยของ Altan *et al., (*2010) รายงานว่าเชื้อราที่ปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมลงในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลิลลี่ที่สำคัญ ได้แก่ *Fusarium, Alternaria, Aspergillus, Penicillium, Rhizopus* และ *Mycellia sterilia* อย่างไรก็ดี Praveen *et al*. (2014) ได้แยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพรรวมทั้งหญ้าแฝก พบว่าเป็นเชื้อราในจีนัส *Aspergillus*, *Sterile mycelium*, *Pestalotiopsis* รวมถึง *Cladosporium* และ *Fusarium* ด้วย

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาเพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวภาชนะชวดแก้วขนาด 700 มิลลิลิตร สามารถสรุปผลการวิจัยได้ดังนี้

1.ระยะชักนำการเกิดต้น การนำชิ้นส่วนจากต้นหญ้าแฝกหอมที่ปลูกอยู่ในดินหรือวัสดุปลูกมาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้น ควรใช้สาร PPM 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ใส่ลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS (1962) ที่มี BA 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นเอนโดรไฟท์จากดินที่เข้าไปอยู่ในลำต้น เนื่องจากเป็นสาเหตุหลักของการปนเปื้อน และควรตรวจสอบซ้ำว่าต้นที่ได้ปลอดเชื้อจริงๆ โดยการนำไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี PPM และเมื่อได้ต้นปลอดเชื้อจริงแล้ว จึงทำการเพิ่มปริมาณต้นต่อในระบบอาหารแข็งที่มี BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือระบบ TIB ในอาหารเหลวที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ระยะการเพิ่มปริมาณต้น

2.1 สารควบคุมการเจริญเติบโต การใช้ BA ให้จำนวนต้น จำนวนใบ และน้ำหนักสดต่อชิ้นส่วน ดีกว่าการใช้ TDZ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน คือ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเมื่อใช้ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงเหมือนกัน จะให้จำนวนต้นเพียง 15.7 ต้น ในขณะที่ BA ให้จำนวนต้น 17.6 ต้น โดย BA ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณ คือ 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเมื่อใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นเป็นต้นเดี่ยว (ความสูง 2.5 ซม.) ควรใช้ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้น 18.3 ต้น ในขณะที่ชิ้นส่วนต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น และกลุ่มต้นเล็ก 3 ต้น (ความสูงประมาณ 1 ซม.) ควรใช้ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้น 23.8 และ 21.1 ต้นต่อชิ้นส่วนตามลำดับ และการใช้ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังให้น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วนมากที่สุดด้วย

2.2 จำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหาร การให้อาหารจำนวน 6 ครั้ง นานครั้งละ 5 และ 10 นาที และการให้อาหารจำนวน 12 ครั้ง นานครั้งละ 1 และ 5 นาที ให้การเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ต้นไม่แตกต่างกัน โดยมีจำนวนต้น 14.3-15.6 ต้นต่อชิ้นส่วน แต่การให้อาหารเป็นเวลานาน ครั้งละ 5-10 นาที มีผลทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้น

2.3 จำนวนชิ้นส่วนที่เหมาะสมต่อภาชนะเพาะเลี้ยง การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนจากกลุ่มต้นจิ๋ว (จำนวน 5 ต้นต่อชิ้นส่วน และมีขนาดความสูงน้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร) จำนวน 20, 30 และ 40 ชิ้นส่วนต่อภาชนะในอาหารเหลวที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 4 สัปดาห์ ให้จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนไม่แตกต่างกัน คือ 12.97-13.97 ต้น แต่เมื่อเทียบต่อภาชนะแล้ว การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนจำนวน 40 ชิ้นส่วนต่อภาชนะให้ผลดีที่สุด โดยให้จำนวนใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต่อชิ้นส่วนและต่อภาชนะมากที่สุด และยังให้จำนวนต้นต่อภาชนะมากที่สุดด้วย คือ 518.8 ต้น

2.4 ขนาดความสูงชิ้นส่วนเริ่มต้นเพาะเลี้ยง การใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นเพาะเลี้ยงที่มีความสูง 0.6-2.0 และ 2.1-6.0 ซม. จำนวน 20 และ 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนเริ่มต้นเพาะเลี้ยง 0.6-2.0 เซนติเมตร.จำนวน 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ให้จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนมากที่สุด 22.87 ต้น ในขณะที่การใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นที่มีความสูง 2.1-6.0 เซนติเมตร. จำนวน 20 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ให้จำนวนต้น 15.85 ต้นต่อชิ้นส่วน แต่เมื่อเทียบต่อภาชนะแล้ว การใช้ชิ้นส่วนที่มีความสูงทั้ง 2 ขนาด ควรเพาะเลี้ยงจำนวน 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ เพราะจะให้จำนวนต้นมากที่สุด คือ 686.1 และ 389.1 ต้นต่อภาชนะ ตามลำดับ มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากกว่า และอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งน้อยกว่าการใช้ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงจำนวน 20 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ

3. ระยะการยืดยาวของต้นและชักนำการเกิดราก

3.1 ชนิดและความเข้มข้นของออกซิน การใช้ NAA และ IBA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดรากของหญ้าแฝกหอมพบว่า ทั้ง NAA และ IBA ทั้ง 2 ระดับ ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน เช่นเดียวกับการไม่ใช้ แต่ NAA ชักนำการเกิดรากได้ดีกว่าการใช้ IBA ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน โดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนราก และจำนวนต้นต่อกอมากที่สุด คือ 25.63 ราก และ 13.53 ต้น ตามลำดับ ให้ความยาวรากและความสูงต้นเหมาะสมต่อการย้ายปลูก และเมื่อใช้ NAA ความเข้มข้นสูงขึ้น จำนวนราก ความยาวรากและความสูงต้นจะลดลง และเมื่อนำต้นออกปลูกนาน 2 สัปดาห์ ยังให้จำนวนรากและความสูงต้นมากที่สุดถึง 29.33 รากต่อกอ และ 14.29 เซนติเมตร. ตามลำดับ แต่ให้ความยาวรากและจำนวนต้นที่สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาต่อได้น้อยกว่า IBA

3.2 ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง การใช้ NAA 0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมนาน 2 และ 3 สัปดาห์ สามารถชักนำการเกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมด โดยที่ 2 สัปดาห์ การใช้ NAA 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากมากที่สุด คือ 19.53 และ 21.77 รากต่อกอ ตามลำดับ โดย NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงต้นและจำนวนต้นมากกว่า และเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 3 สัปดาห์ NAA 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังให้จำนวนรากและจำนวนต้นมากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 28.93 และ 30.87 รากต่อกอ และ 9.50 และ 10.33 ต้นต่อกอ ตามลำดับ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

เมื่อนำต้นกล้าออกปลูกในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์ NAA 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตายได้ 100 ทั้งหมด แต่ NAA ความเข้มข้นสูง 1.0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตายลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยต้นกล้าอายุ 2 สัปดาห์ NAA 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากต่อกอ 21.67-22.00 ต้น และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังให้ความสูงต้นและจำนวนต้นต่อกอมากที่สุด และเมื่อ NAA ความเข้มข้นสูงขึ้น 1.0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย จำนวนราก ความยาวราก ความสูงต้น และจำนวนต้นจะลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และเมื่อนำต้นกล้าอายุ 3 สัปดาห์ออกปลูก NAA 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากและจำนวนต้นต่อกอมากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 28.93 และ 30.87 รากต่อกอ และ 9.50 และ 10.33 ต้นต่อกอ ตามลำดับ และการนำต้นกล้าอายุ 3 สัปดาห์ออกปลูกนี้ การใช้ NAA ให้จำนวนรากใหม่เพิ่มมากขึ้นทุกความเข้มข้น และมากกว่าการไม่ใช้ NAA โดยเฉพาะที่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากใหม่ที่เพิ่มขึ้นมากถึง 19.43 รากต่อกอ

3.3. จำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหาร การให้อาหารจำนวน 6 และ 12 ครั้ง นานครั้งละ 1 และ 5 นาที ให้ผลไม่แตกต่างกันคือ ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน ให้จำนวนรากและความยาวรากใกล้เคียงกัน

4. สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการให้สารสำคัญในต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วย TIB พบว่า ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 30-45 วัน มีแนวโน้มให้ Total Phenolic Content (TPC) มากที่สุด โดย BA ความเข้มข้นสูง 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ TPC มากกว่า BA ความเข้มข้นต่ำ และการไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเลยนั้น (ชุดควบคุม) มีแนวโน้มให้ TPC มากกว่าการใช้ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดวัตถุดิบหญ้าแฝกหอมที่ได้จากส่วนราก ยังให้ TPC สูงกว่าสารสกัดที่ได้จากส่วนต้นและใบ และใบสีน้ำตาลที่แห้งตายขณะเพาะเลี้ยงในระยะเพิ่มปริมาณต้นอายุ 1 เดือน ให้ปริมาณ TPC และน้ำตาลทั้งหมดสูงที่สุด คือ 6.70 และ 65.04 µg/mg ตามลำดับ และเมื่อนำไปสกัดด้วยวิธีการต้ม จะมีปริมาณ TPC ทั้งหมด เท่ากับ 30.61 µg/mg ซึ่งสูงกว่าพันธุ์ขอนแก่น (25.02 µg/mg) และใกล้เคียงกับพันธุ์มหาสารคาม (32.29 µg/mg) ที่ได้จากแหล่งปลูกในธรรมชาติ

5. ตรวจสอบและจัดการการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

5.1 การปนเปื้อนแบคทีเรียในระบบอาหารแข็งประกอบด้วยแบคทีเรียในจีนัส *Acinetobacter, Agrobacterium, Bacillus, Burkholderia, Kosakonia, Pantoea* และ *Rhizobium*

5.2 การปนเปื้อนแบคทีเรียในระบบ TIB มีสาเหตุสำคัญมาจากเชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* ส่วนการปนเปื้อนของเชื้อราในระบบอาหารแข็งเป็นการปนเปื้อนของเชื้อรามีสาเหตุสำคัญจาก *Fusarium* ในขณะที่การปนเปื้อนของเชื้อราในระบบ TIB เป็นการปนเปื้อน *Cladosporium* และ *Fusarium*

5.3 การปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงหญ้าแฝกด้วยระบบอาหารแข็งมีสาเหตุจากชิ้นส่วนพืชคือกลุ่มเอนโดไฟท์เป็นสำคัญ ในขณะที่ระบบ TIB มีสาเหตุจากสิ่งแวดล้อม

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

5.4 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิดคือ hydrogen peroxide 6% ในขณะที่ PPM 2 มิลลิลิตร/ลิตร ไม่สามารถทำลาย *Bacillus tequilensis* ส่วนสเตรปโตมัยซิน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถทำลาย *B. tequilensis, Burkholderia* และ *Pantoea dispersa* ความเข้มข้นของคาร์เบนดาซิม 1 เปอร์เซ็นต์ เพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงหญ้าแฝกได้อย่างสมบูรณ์

6. ได้กำลังผลิตต้นหญ้าแฝกหอมที่มีแนวโน้มให้สารสำคัญมากที่สุดที่ระยะการเก็บเกี่ยว 30-45 วันต่อรอบ ในระยะเพิ่มปริมาณต้นด้วย BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 1,102.8-1,330.6 ต้นต่อภาชนะ และในระยะการเกิดรากด้วย NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 540.0-544.9 ต้นต่อภาชนะ

7. ได้ระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด (ภาชนะขวดแก้ว 700 มิลลิลิตร) (ภาพที่ 48)

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการดำเนินงานต่อเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบ TIB เพื่อชักนำให้หญ้าแฝกหอมผลิตสารสำคัญเพิ่มมากขึ้นสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด

ระบบอาหารแข็ง

1.ระยะชักนำการเกิดต้น

1. ชิ้นส่วนตาข้าง/ต้นอ่อนจากธรรมชาติหรือในโรงเรือน
2. เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็งก่อนเมื่อปลอดเชื้อ แล้วย้ายสู่ระบบ TIB
3. อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS (1962) + BA 1 mg/l +NAA 0.1 mg/l เติม PPM 2 ml/l
4. ต้นปลอดเชื้อถูกเลี้ยงต่อด้วยอาหารแข็งที่เติม BA 3 mg/l +NAA 0.1 mg/l และอาหารเหลว BA 1 mg/l+NAA 0.1 mg/l

2.ระยะเพิ่มปริมาณต้น

1. เพาะเลี้ยงด้วย TIB ในอาหารเหลว 300 ml/ขวด นาน 4 สัปดาห์
2. อาหารเหลวสูตร MS + BA 1-2 mg/l + NAA 0.1 mg/l
3. ให้อาหารทุก 4 ชั่วโมง จำนวน 6 ครั้ง/วัน นานครั้งละ 5 นาที
4. ชิ้นส่วนต้นจิ๋วเพาะเลี้ยง 40 ชิ้นส่วน/ขวด ให้จำนวนต้น 518.8 ต้น/ขวด ชิ้นส่วนความสูงต้น 0.6-2.0 ซม. และ 2.1-6.0 ซม. เพาะเลี้ยง 30 ชิ้นส่วน/ขวด ให้จำนวนต้น 686.1 และ 389.1 ต้น/ขวด ตามลำดับ

ระบบ TIB

ชิ้นส่วนตั้งต้น ชักนำราก ต้นพร้อมปลูก

3.ระยะยืดยาวของต้นและชักนำการเกิดราก

1. เพาะเลี้ยงด้วย TIB ในอาหารเหลว 300 ml/ขวด นาน 2 สัปดาห์
2. สูตรอาหาร MS + NAA 0.1 mg/l
3. ให้อาหารทุก 4 ชั่วโมง จำนวน 6 ครั้ง/วัน นานครั้งละ 5 นาที

4.การย้ายต้นกล้าออกปลูกในโรงเรือน

1. วัสดุปลูก ดิน: ทราย: ขี้เถ้าแกลบ: พีทมอส อัตราส่วน 1:0.5:3:4.5
2. อนุบาลนาน 2 สัปดาห์

อายุ 2 สัปดาห์ อายุ 4 สัปดาห์ อายุ 6 สัปดาห์

ภาพที่ 48 ระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด (ภาชนะขวดแก้ว 700 มิลลิลิตร)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

เอกสารอ้างอิง

นพมณี โทปุญญานนท์ รังสิมา อัมพวัน ลักขณา เพ็ชรประดับ และ โยฮัน เพเพอ. 2538. การวิจัยและพัฒนางานขยายพันธุ์เยอบีร่าโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเข้าสู่ระบบอุตสาหกรรม. น. 135-141. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับแห่งชาติ ครั้งที่ 1.** 17-19 พฤษภาคม ณ โรงแรมเซ็นทรัลพลาซ่า กรุงเทพมหานคร: ม.ป.พ.

นพมณี โทปุญญานนท์ ปวีณา นวมเจริญ วิภาดา ทองทักษิณ สุปัน ไม้ดัดจันทร์ รังสิมา อัมพวัน ทิพย์สุดา ปุกมณี และพรศักดิ์ บุญมณี. 2548. **การพัฒนาระบบการผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำด้วยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว**. รายงานฉบับสมบูรณ์. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 88 น.

นพมณี โทปุญญานนท์ พูนพัฒน์ พูนน้อย จาตุพงศ์ วาฤทธิ์ ปิยะ เนียมทรัพย์ นลิน วงศ์ขัตติยะ ศรีกาญจนา คล้ายเรือง รังสิมา อัมพวัน เอกชัย บูรณะไทย และศรีเมฆ ชาวโพงพาง. 2555. **ระบบการผลิตต้นพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม.** 242 น. *ใน* รายงานผลการวิจัย. กรุงเทพฯ: คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

อนงค์นุช สาสนรักกิจ มนตรี เอี่ยมวิมังสา และบัญชา ชิณศรี. ม.ป.ป. **ความสำคัญของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชต่อผลผลิตทางการเกษตรและการส่งออกนำเข้าของประเทศไทย**. [Online]. Available http://www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/52/04-plant/anongnuch/plant_00.html (20 กรกฎาคม 2563).

Atan, F., B. Burun and N. Sahin. 2010. Fungal contaminants observed during micropropagation of *Lilium candidum* L. the effect of chemotherapeutic substances applied after sterilization. **African Journal of Biotechnology** 9: 991-995.

Boxus, P.H. and J.M. Terzi. 1988. Control of accidental contaminations during mass propagation. **Acta Horticulturae** 225: 198-190.

Berthouly, M. and H. Etienne. 2005. Liquid Culture Systems for *In Vitro* Plant Propagation. pp. 165-195. *In* Hvoslef-Eide, A.K. and W. Preil (eds). **Liquid Culture Systems for *In Vitro* Plant Propagation.** Netherland: Springer, Dordrecht.

Chitra, T., S. Jayashree, J. Rathinamala and A. Suganya. 2014. Preliminary studies *in vitro* regeneration of *Vetiveria zizanioides* through meristem tip culture. **J. Bio. Innov.** 3(4): 189-196.

Etienne, H. and M. Berthouly. 2002. Temporary immersion systems in plant micropropagation. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 69(3): 215-231.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Gebashe, F., Aremu, A.O., Gruz, J., Finnie, J.F., Staden, J.V. 2020. Phytochemical profiles and antioxidant activity of grasses used in South African traditional medicine. **Plants**. doi:10.3390/plants9030371. 23p.

Ho, Y.N. and C.C. Huang. 2015. Draft genome sequence of *Burkholderia cenocepacia* strain 869T2, a plant-beneficial endophytic bacterium. **Genome Announcements** 3(6): e01327-15.

Jindapunnapat, K., N.D Reetz, M.H. MacDonald, G. Bhagavathy, B. Chinnasri, N. Soonthornchareonnon, A. Sasnarukkit, K.R. Chauhan, D.J. Chitwood, S.L.F. Meyer. 2018. Activity of Vetiver Extracts and Essential Oil against *Meloidogyne incognita*. **J. Nematol.** 50(2):147-162.

Kastrop, P.M.M., L.A.M. de Graaf-Miltenburg, D.R. Gutknecht and S.M. Weima. 2007. Microbial contamination of embryo cultures in an ART laboratory: sources and management. **Human Reproduction** 22(8): 2243-2248.

Khunchuay, C. and K. Sompornpailin. 2015. The Effects of Cytokinins on Plant Regeneration of Vetiver Grass (*Vetiveria nemoralis* A. Camus cv. Roiet). **Applied Mechanics and Materials** 804: 259-262.

Klayraung, S., P. Niamsup, P. Poonnoy and N. Topoonyanont. 2017. Diversity and control of bacterial contamination of plants propagated in temporary immersion bioreactor system. **Acta Horticuturae** 1155: 439-445.

Leifert, C. and S. Woodward. 1998. Laboratory contamination management; The requirement for biological quality assurance. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 83: 237-244.

Leifert, C. and A.C. Cassells. 2001. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. ***In Vitro*** **Cellular and Developmental Biology** 37:133-138.

Le Van Be., Vo Thanh Tan., Nguyen Thi To Uyen., Le Viet Dung. 2008. Low-cost Micropropagation of *Vetiveria zizanioides*. **Assumption University Journal of Technology** 12(1): 18-24.

Mandic-Mulec, I., P. Stefanic and J.D. van Elsas. 2015. Ecology of Bacillaceae. **Microbiology Spectrum** 3: TBS-0017-2013. doi:10.1128 /microbiolspec.TBS-0017-2013.

Mejía-Márquez P.K., S.G. Bañuelos-Cabrera, S.F. Velázquez and M. Alvarado-Rodriguez. 2018. Development of a system for the micropropagation of vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides*). **Biotecnología y Sustentabilidad** 3(2): 60-67.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Monteir, J.M., R.E. Vollu, M.R.R. Coelho, C.S. Alviano, A.F. Blank and L. Seldin, 2009. Comparison of the bacterial community and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from different genotypes of *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty (Vetiver) rhizosphere. **The Journal of Microbiology** 47: 363-370.

Monteir, J.M., R.E. Vollu, M.R.R. Coelho, F. Adriano, S.S.G. Neto, A.F. Blank and L. Seldin. 2011. Bacterial communities within the rhizosphere and roots of vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) sampled at different growth stages. **European Journal of Soil Biology** 47: 236-242.

Muangsue, N. and P. Amimanan. 2018. Determination of airborne bacteria and fungi in the laboratories of a university. **Naresuan Phayao Journal** 11(2): 52-55.

Munakata, Y., C. Gavira, J. Genestier, F. Bourgaud, Hehn and S.Slezack-Deschaumes. 2021. Composition and functional comparison of vetiver root endophytic microbiota originating from different geographic locations that show antagonistic activity towards *Fusarium graminearum*. **Microbiological Research**. 243. 1266650. https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126650. 13p.

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

Odutayo, O.I., N. A. Amusa, O.O. Okutade and Y.R. Ogunsanwo. 2007. Sources of microbial contamination in tissue culture laboratories in southwestern Nigeria. **African Journal of Agricultural Research** 2(3): 067-072.

Prajna, J., J. Richa and C. Dipjyoti. 2013. HPLC quantification of phenolic acids from *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash and its antioxidant and antimicrobial activity. **Journal of Pharmaceutics** https://doi.org/10.1155/2013/270472 6p.

Praveen, V.K., S.D. Bhargavi and J. Savitha. 2014. Endophytic fungi: A poor candidate for the production of lovastatin. British Microbiology Research Journal 4: 1511-1520. Gebashe, F., Aremu, A.O., Gruz, J., Finnie, J.F., Staden, J.V. 2020. Phytochemical profiles and antioxidant activity of grasses used in South African traditional medicine. **Plants** doi:10.3390/plants9030371. 23p

Prasertsongskun, S. 2003. Plant regeneration from callus of vetiver (*Vetiveria zizanioides* Nash). **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 25(5): 637-642.

Sompornpailin, K. and C. Khunchuay. 2016. Synergistic effects of BAP and kinetin media additives on regeneration of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides* L. Nash). **Australian Journal of Crop Science** 10(5):726-731.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Takayama, S and M. Akita. 2005. Practical aspects of bioreactor application in mass propagation of plants. pp. 61-78. *In* Hvoslef-Eide, A.K. and W. Preil (eds). **Liquid Culture Systems for *In Vitro* Plant Propagation.** Netherland: Springer, Dordrecht.

Topoonyanont, N., P. Pumisutapon, S. Klayraung and P. Poonnoy. 2017. Temporary immersion bioreactors for large scale *Globba* micropropagation. **Acta Horticuturae** 1155: 51-57.

Unakata, Y., Gavira, C., Genestier, J., Bourgaud, F., Hehn, Slezack-Deschaumes, S. 2021. Composition and functional comparison of vetiver root endophytic microbiota originating from different geographic locations that show antagonistic activity towards *Fusarium graminearum*. **Microbiological Research** 243: 1266650. https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126650. 13p.

Widoretno, W., A. Fauziah, S. Indriyani and E.P. Utomo. 2017. Clonal propagation of *Vetiveria zizanioides* L. through tissue culture technique. **Indonesian Journal of Essential Oil** 2(1): 38-44.

Yang, B., H. XIA and Z. Ma. 2007. Study on tissue culture of *Vetiveria zizanioides*. **Acta Prataculturae Sinica** 2007(04).

Ziv, M. 2005. Simple bioreactors for mass propagation plant. **Plant Cell Tissue and Organ Culture** 81(3): 79-93.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน