# ผลของกรดซิลิซิกและแคลเซียมซิลิเกตต่อการเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาในกล้วยไม้สกุลหวาย สายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับสภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง

โดย

นางสาวอรพรรณ โตงาม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2562

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

# ผลของกรดซิลิซิกและแคลเซียมซิลิเกตต่อการเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาในกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับสภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง

โดย
นางสาวอรพรรณ โตงาม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

# EFFECTS OF SILICIC ACID AND CALCIUM SILICATE ON GROWTH AND PHYSIOLOGY OF *IN VITRO DENDROBIUM* 'SONIA JO DAENG' UNDER SALT STRESS CONDITION

By

MISS Aoraphan TONGAM

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (BIOLOGY)

Department of BIOLOGY

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2019

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

| | |
|---|---|
| หัวข้อ | ผลของกรดซิลิซิกและแคลเซียมซิลิเกตต่อการเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาในกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับสภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง |
| โดย | อรพรรณ โตงาม |
| สาขาวิชา | ชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต |
| อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กุลนาถ อบสุวรรณ |

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรัณยพร มากทรัพย์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ )

60303206 : ชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : กล้วยไม้สกุลหวาย, ความเครียดเกลือ, โซเดียมคลอไรด์ (NaCl), แคลเซียมซิลิเกต (CaSiO3), กรดซิลิซิก (H4SiO4)

นางสาว อรพรรณ โตงาม: ผลของกรดซิลิซิกและแคลเซียมซิลิเกตต่อการเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาในกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับสภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กุลนาถ อบสุวรรณ

ความเค็มเป็นหนึ่งในปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมที่จำกัดการเจริญเติบโตและผลผลิตทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพของพืชทั่วโลก ในประเทศไทยพบการเผชิญกับปัญหาความเค็มอยู่บ่อยครั้ง ซึ่งความเค็มส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของไม้ตัดดอกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างกล้วยไม้สกุลหวาย งานวิจัยนี้จึงนำสารประกอบซิลิคอน (Si) มาช่วยลดผลกระทบที่เกิดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' ในหลอดทดลอง ซึ่งการทดสอบระดับความเข้มข้นของ NaCl ที่ส่งผลต่อการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายโดยวิธีการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Vacin and Went (VW) ร่วมกับ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของ Si ในการลดความเครียดจาก NaCl โดยการให้แคลเซียมซิลิเกต ($CaSiO_3$) หรือกรดซิลิซิก ($H_4SiO_4$) ที่ระดับความเข้มข้น 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ หรือให้สารดังกล่าวเป็นเวลา 7 วันแก่ต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับความเครียดเกลือ พบว่าการให้ $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วันก่อนได้รับความเครียดเกลือ 200 มิลลิโมลาร์ ช่วยส่งเสริมให้ต้นกล้วยไม้เจริญเติบโตและมีอัตราการรอดชีวิตสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ได้รับสารประกอบซิลิคอนหรือได้รับในระดับความเข้มข้นและวิธีการอื่นๆ นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการ พบว่าเมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้เกิดการสะสมปริมาณโพรลีนและน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับกิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD) และเอนไซม์ Catalase (CAT) เพิ่มขึ้น และยังพบการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์และปริมาณ Malondialdehyde (MDA) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับความเครียดเกลือ แต่เมื่อได้รับสารประกอบ Si พบว่าต้นกล้วยไม้มีการสะสมปริมาณโพรลีนและน้ำตาล รวมถึงกิจกรรมของเอนไซม์ SOD และ CAT สูงขึ้นมากกว่าต้นที่ได้รับความเครียดเกลือเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ Si ยังช่วยลดการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์และปริมาณ MDA ให้ต่ำลงกว่าต้นที่ไม่ได้รับ Si ส่วนในต้นที่ความเครียดเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไปถึง 300 มิลลิโมลาร์ การให้สารประกอบ Si ไม่มีผลต่อการรอดชีวิตเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 10 สัปดาห์

60303206 : Major (BIOLOGY)
Keyword : Dendrobium, Salt stress, Sodium chloride (NaCl), Calcium silicate (CaSiO3), Silicic acid (H4SiO4)

MISS AORAPHAN TONGAM : EFFECTS OF SILICIC ACID AND CALCIUM SILICATE ON GROWTH AND PHYSIOLOGY OF *IN VITRO DENDROBIUM* 'SONIA JO DAENG' UNDER SALT STRESS CONDITION THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR DR. KULLANART OBSUWAN

Salinity is one of the environment factors to limit plant growth development and quantity and quality of plant productivity worldwide. Thailand frequently encounters salinity problems during a summer season. The salinity affects growth and productivity of cut flower that are economically important, especially in *Dendrobium.* This research was used silicon ( Si) compounds to reduce that effects of sodium chloride ( NaCl) on *in vitro* growth of *Dendrobium* 'Sonia Jo Daeng'. This experiment was used calcium silicate ($CaSiO_3$) and silicic acid ($H_4SiO_4$) at the concentration of 0, 1.25, 2.5, 5, 7.5 and 10 mM under NaCl at the concentration of 200 and 300 mM at the same time or 7 days prior to transfer *Dendrobium* to salt stress condition. The result showed that the used of $CaSiO_3$ and $H_4SiO_4$ at the concentration of 1. 25 mM for 7 days before exposure to NaCl at the concentration of 200 mM promotes the growth and survival rate of *Dendrobium* when compared to other treatments. In addition, when analyzing some physiological characteristics found that NaCl at the concentration of 200 mM had an effect to increase proline and total soluble sugar accumulation in *Dendrobium* as well as superoxide dismutase ( SOD) and catalase ( CAT) activity, moreover, the results showed the excess electrolyte leakage (EL) and malondialdehyde (MDA) content when compared to non-NaCl treatment. However, Si treatments are increased proline and total soluble sugar accumulation including activity of SOD and CAT, but lower EL and MDA content when *cultured* on salt stress condition. However, Si was inefficient for improving growth of *Dendrobium* on excess NaCl at the concentration of 300 mM for 10 weeks.

# กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณา และความช่วยเหลือจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ ตลอดจนกำลังใจที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้วิจัย รวมทั้งกรรมการทุกท่านที่ได้สละเวลาเป็น กรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัย เพื่อให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้ สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ขอขอบคุณอาจารย์ทุกๆ ท่าน บุคลากรใน ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนเพื่อนๆ โดยเฉพาะคุณพ่อ คุณแม่ ที่พร้อมให้การสนับสนุน ให้คำแนะนำ คอย รับฟัง และให้กำลังใจจนเป็นแรงผลักดันให้เกิดแรงบรรดาลใจ จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้

อรพรรณ โตงาม

# สารบัญ

**หน้า**


บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญรูปภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 ..... 1

บทนำ ..... 1

ที่มาและความสำคัญ ..... 1

วัตถุประสงค์ ..... 2

สมมติฐาน ..... 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย ..... 2

ขอบเขตของการวิจัย ..... 3

บทที่ 2 ..... 4

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... 4

1. กล้วยไม้สกุลหวาย ..... 4

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวาย ..... 4

1.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ ..... 5

1.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ..... 6

1.3.1 แสง ..... 6

1.3.2 อุณหภูมิ ..... 6

1.3.3 ความชื้น ..... 6
1.3.4 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ..... 7
1.3.5 คุณภาพน้ำ ..... 7
2. ความเค็ม (Salinity) ..... 8
2.1 ความเค็มกับการเจริญเติบโตของพืช ..... 8
2.1.1 ความเครียดออสโมติก (osmotic stress) ..... 8
2.1.2 ความเป็นพิษของธาตุบางชนิด (Ion toxicity) ..... 9
2.1.3 ความไม่สมดุลของธาตุอาหาร (Nutrient imbalance) ..... 9
2.2 ผลของความเค็มต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของพืช ..... 10
2.2.1 ผลของความเค็มต่อการสะสมสารอินทรีย์ภายในพืช ..... 10
2.2.2 ผลของความเค็มต่อกิจกรรมของ SOD และ CAT ..... 11
3. ซิลิคอน (Silicon) ..... 12
3.1 การดูดซึมและลำเลียงซิลิคอนในพืช ..... 13
3.2 บทบาทของซิลิคอนต่อการทนเค็มของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง ..... 13
3.3 ผลของซิลิคอนในรูปแบบต่างๆ ต่อการทนเค็มของพืช ..... 15
บทที่ 3 ..... 16
วิธีการดำเนินงานวิจัย ..... 16
1. พืชที่ใช้ในการทดลอง ..... 16
2. วัสดุอุปกรณ์ ..... 16
3. สารเคมี ..... 18
การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสารประกอบซิลิคอนในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับเกลือ ..... 20
การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารประกอบซิลิคอนก่อนการได้รับความเครียดจากเกลือ (NaCl) ในหลอดทดลอง ..... 21
การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการให้สารประกอบซิลิคอนก่อนได้รับหรือเมื่อได้รับความเครียดเกลือ (NaCl) ต่อการเติบโตและการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยา ..... 22

บทที่ 4 ..... 26

ผลการทดลอง ..... 26

4.1 ผลของ $CaSiO_3$ ต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเมื่อได้รับเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ . 26

4.2 ผลของ $H_4SiO_4$ ต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเมื่อได้รับเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ . 32

4.3 ผลของ $CaSiO_3$ ต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเมื่อได้รับเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ . 38

4.4 ผลของ $H_4SiO_4$ ต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเมื่อได้รับเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ . 43

4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโพรลีนเมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ ..... 48

4.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ ..... 50

4.7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde เมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ ..... 52

4.8 ผลการวิเคราะห์ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์เมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ ..... 54

4.9 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase เมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ ..... 56

4.10 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase เมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ ..... 58

บทที่ 5 ..... 60

อภิปรายและสรุปผล ..... 60

5.1 ผลของ $CaSiO_3$ ต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความเค็ม ..... 60

5.2 ผลของ $H_4SiO_4$ ต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความเค็ม ..... 61

5.4 ผลของ $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะความเครียดเนื่องจากความเค็ม ..... 62

สรุปผลการทดลอง ..... 64

รายการอ้างอิง ..... 65

ภาคผนวก ..... 75

ประวัติผู้เขียน ..... 96

# สารบัญตาราง

**หน้า**

ตารางที่ 1 คุณภาพน้ำเพื่อการชลประทานตามระบบของสหรัฐอเมริกา ..... 8

ตารางที่ 2 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์..... 28

ตารางที่ 3 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ ..... 34

ตารางที่ 4 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ..... 39

ตารางที่ 5 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ..... 45

มหาวิทยาลัยศิลปากร

# สารบัญรูปภาพ

**หน้า**

รูปที่ 1 แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวาย ..... 5

รูปที่ 2 กลไกของซิลิคอนที่ช่วยส่งเสริมการทนต่อความแล้งและความเค็มของพืช ..... 14

รูปที่ 3 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์..... 26

รูปที่ 4 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์..... 27

รูปที่ 5 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ..... 29

รูปที่ 6 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c และ d หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05..... 30

รูปที่ 7 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ..... 31

รูปที่ 8 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ..... 31

รูปที่ 9 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์..... 32

รูปที่ 10 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์..... 33

รูปที่ 11 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ..... 35

รูปที่ 12 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c และ d หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05 ..... 36

รูปที่ 13 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ..... 37

รูปที่ 14 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือNaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ..... 37

รูปที่ 15 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ..... 38

รูปที่ 16 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ..... 39

รูปที่ 17 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ..... 41

รูปที่ 18 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c และ d หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05 ..... 41

รูปที่ 19 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ..... 42

รูปที่ 20 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ..... 42

รูปที่ 21 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ..... 44

รูปที่ 22 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 44

รูปที่ 23 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์..... 45

รูปที่ 24 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c และ d หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05..... 46

รูปที่ 25 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์..... 47

รูปที่ 26 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ..... 47

รูปที่ 27 ปริมาณโพรลีนเมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h และ i หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05..... 49

รูปที่ 28 ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h และ i หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05 ..... 51

รูปที่ 29 ปริมาณ MDA เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, และ h หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05 ..... 53

รูปที่ 30 ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, และ f หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05..... 55

รูปที่ 31 กิจกรรมของเอนไซม์ SOD เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f และ g หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05 ..... 57

รูปที่ 32 กิจกรรมของเอนไซม์ CAT ต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h, i และ j หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05..... 59

# บทที่ 1

# บทนำ

## ที่มาและความสำคัญ

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) หนึ่งในสกุลที่ใหญ่ที่สุดในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) เนื่องจากพบการแพร่กระจายพันธุ์มากกว่า 1200 - 1,500 ชนิด โดยส่วนใหญ่จะมีการเจริญเติบโตแบบ epiphytes ในเขตร้อนและกึ่งร้อนของทวีปเอเชีย และออสเตรเลียตะวันออก (Cribb et al., 2005; Wood, 2006; Zotz, 2013) สิ่งที่ทำให้กล้วยไม้สกุลหวายได้รับความนิยมมากที่สุดทั่วโลกนอกเหนือจากสีสันที่สวยงามและหลากหลายแล้ว ความนิยมของกล้วยไม้สกุลหวายที่เพิ่มขึ้นมาจากความสวยงามของช่อดอก ขนาดและรูปทรงของดอก และระยะเวลาการบานของช่อดอกที่สามารถบานได้ติดต่อกันหลายสัปดาห์ทำให้มีระยะเวลาการปักแจกันที่ยาวนาน (Martin & Madassery, 2006)

ประเทศไทยเป็นผู้นำด้านการผลิตและการส่งออกกล้วยไม้เมืองร้อนที่สำคัญเนื่องจากแหล่งเพาะปลูกตั้งอยู่ในพื้นที่ที่มีศักยภาพและเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายเมืองร้อน (กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม, 2560) แต่ปัจจุบันเกษตรกรผู้เลี้ยงกล้วยไม้หลายรายได้ประสบปัญหาเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมในการดูแลกล้วยไม้จากสถานการณ์วิกฤตภัยแล้งที่มีความรุนแรงเพิ่มขึ้นทุกปี อันเนื่องมาจากสภาวะโลกร้อน ส่งผลให้ระดับน้ำในเขื่อนซึ่งเป็นแหล่งน้ำจืดหลักด้านการเกษตรมีปริมาณลดลง ทำให้ระดับน้ำทะเลหนุนสูงมากขึ้นและไหลเข้าไปในแม่น้ำหลายแห่งในพื้นที่ทำการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งจังหวัดที่ตั้งอยู่บริเวณปากแม่น้ำใน 4 ลุ่มน้ำสำคัญ ได้แก่ ลุ่มน้ำท่าจีน ลุ่มน้ำเจ้าพระยา ลุ่มน้ำแม่กลอง และลุ่มน้ำบางปะกง พื้นที่ทำการเกษตรกว่า 173,888 ไร่ ประกอบด้วย ข้าว ไม้ผล ไม้ดอก และ ผัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชสวนที่เป็นพืชเศรษฐกิจ เช่น กล้วยไม้ ส้ม ฝรั่ง ชมพู่ (กลุ่มส่งเสริมไม้ผลและกลุ่มส่งเสริมไม้ดอกและไม้ประดับ สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร, 2559) พบว่าคุณภาพของน้ำที่ใช้ในการเกษตรมีผลกระทบอย่างมากต่อผลผลิตของพืช (Slinger & Tenison, 2005) โดยน้ำที่มีความเค็มสูงจะส่งผลกระทบต่อพืชคล้ายกับความเครียดที่เกิดจากการขาดน้ำ โดยก่อให้เกิดความเครียดออสโมติก (osmotic stress) ทำให้ค่าความต่างศักย์ของน้ำในดินต่ำกว่าปกติ ลดอัตราการดูดน้ำและเพิ่มอัตราการคายน้ำของพืช (Food and agriculture organization of the united nations, 2005; Taiz & Zeiger, 1998) นอกจากนี้ความเค็มยังทำให้พืชได้รับความเป็นพิษจากคลอไรด์ไอออน ($Cl^-$) และโซเดียมไอออน ($Na^+$) ที่มากเกินไป (ธนากร แสงสง่า, 2557) จากผลของความเค็มส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลงและทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลงในที่สุด จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อหาสารที่เหมาะสมมาใช้ในการช่วยลดความเสียหายของกล้วยไม้อันเนื่องมาจากในสภาวะความเครียดเกลือ แนวทางในการศึกษาการตอบสนองทางสรีรวิทยาของกล้วยไม้เมื่อได้รับสารในสภาวะความเครียดเกลือ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงการสะสมปริมาณโพรลีน เพื่อช่วยปรับค่าแรงดัน

ออสโมติกในเซลล์พืชให้ต่ำลง ส่งผลให้พืชเพิ่มความสามารถในดูดน้ำได้มากขึ้น (Ashraf & Fooland, 2007 ; Keller & Ludlow, 1993) นอกจากนี้ความเค็มยังส่งผลต่อกลไกการกำจัดหรือยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระ reactive oxygen species (ROS) ที่สูงขึ้นภายในพืชในขณะที่พืชได้รับความเครียดโดยเฉพาะเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) เอนไซม์ตัวสำคัญที่ช่วยรักษาสมดุล ROS ลดความเสียหายที่เกิดจากสภาวะความเครียดเกลือให้แก่พืช (Meyer et al., 2012; Noctor et al., 2014)

ผู้วิจัยจึงสนใจนำซิลิคอน ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่พบมากเป็นอันดับสองในดิน (Sommer et al., 2006) มาใช้ในการลดความเครียดที่เกิดจากสิ่งแวดล้อม โดยซิลิคอนจะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตในพืชหลายชนิดเมื่อได้รับความเครียดที่เกิดจากความแล้งและความเครียดที่เกิดจากเกลือ (Kim et al., 2014; Sahebi et al., 2015; Shi et al., 2014; Xie et al., 2015; Yin et al., 2014) นอกจากนี้การใช้ซิลิคอนรวมกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะชวยเพิ่มความแข็งแรงให้แกผนังเซลล และส่งผลให้พืชปรับตัวให้เขากับสภาพแวดลอมที่เปลี่ยนแปลงได้ดีขึ้น (Camargo et al., 2007) โดยในธรรมชาติจะพบสารประกอบซิลิคอนได้ 2 สถานะ 1. ของแข็ง โดยส่วนใหญ่จะพบในรูปของ crystalline poorly crystalline และ amorphous silica โดยมีแหล่งกำเนิดที่แตกต่างกัน เช่น แคลเซียมซิลิเกต ($CaSiO_3$) แมกนีเซียมซิลิเกต ($MgSiO_3$) silicate slag โดโลไมต์ฟอสเฟต และฟาง จากการเก็บเกี่ยวผลผลิตของพืช (Guntzer et al., 2012; Rizwan et al., 2015; Sauer et al., 2006; Savant et al., 1997) 2. ของเหลว ในรูปของ mono- และ polysilicic acids (Cornelis et al., 2011) ซึ่งซิลิคอนที่อยู่ในรูปของ orthosilicic acid ,$H_4SiO_4$ จัดเป็นซิลิคอนในรูปที่พืชสามารถดูดซึมมาใช้ได้ทันที (Ma & Yamaji, 2008; Meharg & Meharg, 2015)

**วัตถุประสงค์**

1. เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารประกอบซิลิคอน 2 ชนิด ($H_4SiO_4$ และ $CaSiO_3$) ในการลดความเครียดที่เกิดจากเกลือ NaCl ของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง
2. ศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการเมื่อกล้วยไม้สกุลหวายได้รับสารประกอบซิลิคอน 2 ชนิด ในสภาวะความเครียดที่เกิดจากเกลือ

**สมมติฐาน**

สารประกอบซิลิคอนที่เหมาะสมจะสามารถช่วยหรือชลอความเสียหายให้กับกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลองได้

**ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย**

1. ทราบระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่กล้วยไม้สกุลหวายสามารถเจริญเติบโตได้ในหลอดทดลอง
2. ทราบความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารประกอบซิลิคอน ($H_4SiO_4$ และ $CaSiO_3$) ที่สามารถลดความเป็นพิษของเกลือ NaCl ต่อกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองได้

3. ทราบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการของกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับสารประกอบซิลิคอน ($H_4SiO_4$ และ $CaSiO_3$) ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง
4. เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการทดลองในแปลงปลูกกล้วยไม้ที่ได้รับน้ำเค็มเพื่อลดความเสียหายของกล้วยไม้ที่เกิดจากความเครียดเกลือได้

**ขอบเขตของการวิจัย**

1. ศึกษาการเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองภายใต้สภาวะความเค็มจากเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 0, 100, 200 และ 300 มิลลิโมลาร์
2. ศึกษาการผลของสารประกอบซิลิคอน ได้แก่ $H_4SiO_4$ และ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ต่อการเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองภายใต้สภาวะความเค็ม
3. ศึกษาผลของสารประกอบซิลิคอนที่ส่งผลต่อปริมาณโพรลีน (Proline) ในต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองสามารถเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะความเค็ม
4. ศึกษาผลของสารประกอบซิลิคอนที่ส่งผลต่อปริมาณน้ำตาล (Total soluble sugar) ในต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองสามารถเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะความเค็ม
5. ศึกษาผลของสารประกอบซิลิคอนที่ส่งผลต่อการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte Leakage, EL) ในต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองสามารถเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะความเค็ม
6. ศึกษาผลของสารประกอบซิลิคอนที่มีผลต่อปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ในต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองสามารถเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะความเค็ม
7. ศึกษาผลของสารประกอบซิลิคอนที่ส่งผลต่อกิจกรรมของ Superoxide dismutase (SOD) และ Catalase (CAT) ในต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองสามารถเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะความเค็ม

# บทที่ 2

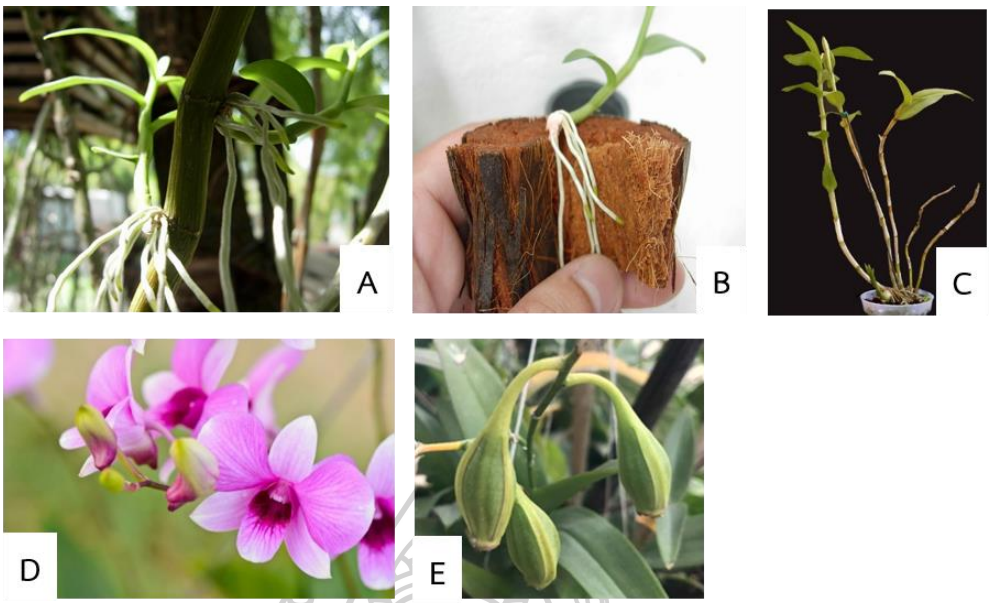
# เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 1. กล้วยไม้สกุลหวาย

กล้วยไม้สกุลหวาย *(Dendrobium)* อยู่ในวงศ์ Orchidaceae มีการผลิตในประเทศไทยมากกว่าสกุลอื่นๆ (สมศักดิ์ รักไพบูลย์สมบัติ, 2540) เนื่องจากมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและมีฤดูการออกดอกตลอดทั้งปี จึงนิยมปลูกเลี้ยงเพื่อเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศ (กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม, 2560; ครรชิต ธรรมศิริ, 2541)

### 1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวาย

กล้วยไม้สกุลหวาย เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledon plant) ไม่มีเนื้อไม้ (perennial herb) มีการเจริญแบบแตกกอ (sympodial growth) ลักษณะลำต้นโป่งพองคล้ายอวบน้ำเรียกว่า ลำลูกกล้วย (pseudobulb) มีระบบรากกึ่งอากาศ (semi-epiphyte) ทำหน้าที่ในการยึดเกาะแลกเปลี่ยนก๊าซ และสังเคราะห์ด้วยแสง บริเวณรากมี velamen ห่อหุ้มด้านนอกเพื่อดูดซับน้ำและแร่ธาตุ มีลักษณะของใบเป็นใบเดี่ยว แบน ยาว หน้าตัดเป็นรูปตัววี (v) อยู่ชิดกับกาบใบ (leaf sheath) โดยมีหน้าที่ห่อหุ้ม ป้องกันลำต้น และยึดใบไว้กับลำต้น เมื่อเจริญสมบูรณ์เต็มที่กล้วยไม้สกุลหวายจะสร้างดอกเพื่อสืบพันธุ์ เป็นช่อดอก (inflorescence) แบบ raceme ลักษณะก้านยาว ไม่แตกแขนง เป็นดอกแบบสมบูรณ์เพศ (bisexual flower) มีทั้งเกสรเพศผู้และเพศเมียอยู่บนส่วนที่มีลักษณะคล้ายเดือย ยื่นออกมาจากดอกเรียกว่า เส้าเกสร (column) ดอกของกล้วยไม้สกุลหวายประกอบด้วยกลีบดอกวงนอกหรือกลีบเลี้ยง (sepal) 3 กลีบที่มีลักษณะคล้ายกัน และกลีบดอกวงในหรือกลีบดอก (petal) 3 กลีบที่มีลักษณะเหมือนกัน 1 คู่ ส่วนกลีบที่ 3 เปลี่ยนลักษณะไปเป็นแผ่นปาก (lip หรือ labellum) ที่มีลักษณะพิเศษกว่ากลีบอื่นๆ หลังจากไข่ได้รับการปฏิสนธิ รังไข่จะเจริญเป็นผลที่เรียกว่าฝัก (pods) มีรูปร่างกลมรี มีสีเขียวแต่เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ผิวเรียบ ภายในมีเมล็ดลักษณะเป็นผงคล้ายฝุ่นจำนวนมาก ไม่มีอาหารสะสมอยู่ภายใน (ทวีพงศ์ สุวรรณโร, 2551)




**รูปที่ 1** แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวาย
(A,B) ลักษณะรากกล้วยไม้สกุลหวาย
(ที่มา: http://www.bloggang.com/mainblog.php?id=honeyorchid&month=10-09-2007&group=9&gblog=22)
(C) ลักษณะลำต้นและใบกล้วยไม้สกุลหวาย
(ที่มา: https://www.repotme.com/orchid-care/Orchid-Identification.html)
(D) ลักษณะดอกกล้วยไม้สกุลหวาย
(ที่มา: http://www.ebay.com/gds/How-to-Propagate-Dendrobium-Orchids-/10000000205202424/g.html)
(E) ลักษณะฝักกล้วยไม้สกุลหวาย

**1.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้**

การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จำเป็นต้องอาศัยสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเพื่อคุณภาพที่ดีของผลผลิต โดยอาศัยหลายๆ ปัจจัยในการส่งเสริมให้เกิดการเจริญเติบโต ซึ่งลักษณะของพื้นที่ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้โดยทั่วไปส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ราบ มีความสูงจากระดับน้ำทะเลไม่เกิน 200 เมตร ไม่มีปัญหาน้ำท่วม และมีการระบายอากาศที่ดี ซึ่งอาศัยลมพัดผ่านจากธรรมชาติ โดยกล้วยไม้จะเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะแวดล้อมที่มีลมพัดผ่านเบาๆ สภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมในเวลากลางวันอยู่ในช่วง 25-35 องศาเซลเซียส และไม่ต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียสในเวลากลางคืน ความชื้นสัมพัทธ์ในธรรมชาติ 50-70% ปริมาณน้ำฝนที่เหมาะสมกับการเจริญของกล้วยไม้จะมีปริมาณไม่เกิน 1,200 มิลลิเมตรต่อปี ความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้อยู่ระหว่าง 15,000-40,000 ลักซ์ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้อย่างเห็นได้ชัด โดยกล้วยไม้ส่วนใหญ่ไม่ต้องการแสงมากในการเจริญเติบโต หากสภาพแวดล้อมที่ปลูกเลี้ยงไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตอาจส่งผลให้กล้วยไม้

เจริญเติบโตได้ไม่ดีและเกิดโรคได้ง่าย ทำให้คุณภาพของผลผลิตตกต่ำ ต้นทุนการผลิตสูง และส่งผลเสียหายกับเกษตรกรในที่สุด (กรมวิชาการเกษตร, 2545; ทวีพงศ์ สุวรรณโร, 2551)

**1.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้**

การเจริญเติบโตของพืชเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมของพืช เนื่องจากเป็นปัจจัยพื้นฐานในการกำหนดการแสดงออกของสิ่งมีชีวิต นอกจากลักษณะทางพันธุกรรมแล้ว สภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงก็มีผลต่อการแสดงออกของลักษณะทางพันธุกรรมเช่นกัน เนื่องจากสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประสบความสำเร็จ โดยสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ประกอบด้วยสิ่งแวดล้อมภายในและสิ่งแวดล้อมภายนอกหลอดทดลอง (ห้องเพาะเลี้ยง) เช่น แสง อุณหภูมิ และความชื้น

1.3.1 แสง

แสงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญของพืชเพาะเลี้ยง เช่น ช่วยชักนำให้เกิดการเจริญของราก ชักนำให้เกิดการเจริญของยอดจากแคลลัส พืชใช้แสงในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และส่งผลต่อลักษณะทางสัญฐานวิทยาของใบ (Dimassi-Theriou & Bosabalidis, 1997) โดยแสงที่พืชใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงมีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 400–700 นาโนเมตร ความเข้มแสงโดยทั่วไป 1,000-4,000 ลักซ์ ระยะเวลาที่ได้รับแสง 8-16 ชั่วโมง หากพืชได้รับความเข้มแสง ช่วงของแสง และระยะเวลาที่ได้รับแสงมากหรือน้อยเกินไปอาจยับยั้งการเจริญของกล้วยไม้จนก่อให้เกิดความเสียหายกับกล้วยไม้ในหลอดทดลองได้

1.3.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่ใช้กับพืชเพาะเลี้ยงโดยทั่วไปประมาณ 20 ถึง 28 องศาเซลเซียส หรือขึ้นอยู่กับลักษณะการเจริญของพืชแต่ละชนิด เช่น อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายอยู่ในช่วง 22-29 องศาเซลเซียส แต่โดยทั่วไปจะทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส (Da Silva et al., 2015) ซึ่งห้องเพาะเลี้ยงอาจมีการควบคุมอุณหภูมิตั้งแต่ 17 องศาเซลเซียส จนสูงถึง 32 องศาเซลเซียส (George, 1993) อุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชมักต่ำกว่าในธรรมชาติ จึงควรเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิต่ำกว่าธรรมชาติ แต่อุณหภูมิที่ต่ำมากเกินไปก็อาจให้พืชหยุดการเจริญเติบโต

1.3.3 ความชื้น

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีอัตราการแลกเปลี่ยนแก๊สระหว่างภายนอกกับภายในต่ำและถูกจำกัด (Chen & Chen, 2002) แต่อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประกอบไปด้วยน้ำ สารอาหาร ส่งผลให้มีความชื้นภายในภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูงกว่าภายนอก (De Gryze et al., 1994; Fujiwara & Kozai, 1995) ส่งผลให้เกิดการสูญเสียน้ำภายในภาชนะเพาะเลี้ยงทำให้อาหารแห้งเร็ว และเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้พืชเกิดอาการฉ่ำน้ำ แต่ถ้าความชื้นในห้องเพาะเลี้ยงสูงเกินไปจะเอื้อต่อการเจริญของจุลินทรีย์

1.3.4 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulator) ถูกนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อส่งเสริมให้เกิดการการเจริญพัฒนาของเซลล์ และชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นอวัยวะหรือแคลลัส โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมใช้กันมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ได้แก่ สารในกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน (Arditti, 2009; แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ, 2547)

ออกซิน เป็นกลุ่มของสารที่มีหน้าที่เกี่ยวกับการขยายขนาดของเซลล์ การยืดของลำต้น ข้อปล้อง และการเกิดราก ออกซินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ indole-3 acetic acid (IAA) indole-3 butyric acid (IBA) naphthalene acetic acid (NAA), naphthoxy acetic acid (NOA) para-chlorophenoxy acetic acid (p-CPA) 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) และ 2,4,5-trichlorophenoxy acetic acid (2,4,5-T) สารในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้ในการส่งเสริมให้เกิดการเจริญของรากคือ IAA IBA และ NAA ในขณะที่ 2,4-D และ 2,4,5-T ส่งผลต่อการกระตุ้นให้เกิดการเจริญของแคลลัส (callus) แต่หากใช้ออกซินในปริมาณความเข้มข้นสูงจะก่อให้เกิดความเป็นพิษกับพืช เช่นใบร่วง และต้นชะงักการเจริญเติบโตจนอาจตายได้ (กาญจนรี พงษ์ฉวี และคณะ, 2542)

ไซโตไคนิน ถูกสร้างขึ้นจากบริเวณปลายรากและใบอ่อนในธรรมชาติ โดยมีผลกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโต ส่งเสริมให้เกิดการแบ่งเซลล์ กระตุ้นการเกิดยอด และกระตุ้นให้เกิดแคลลัสเมื่อใช้ร่วมกับออกซินในอัตราส่วนที่เหมาะสม ไซโตไคนินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ 6-benzyladenin (BA) และ 6-furfurylaminopurine (Kinetin) นอกจากนี้ยังมี N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-yl urea (thidiazuron); TDZ ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ใกล้เคียงกับไซโตไคนิน โดยมีผลกับพืชในหลอดทดลองและในสภาพธรรมชาติหลายชนิด รวมถึงป้องกันโรคใบเหลือง เพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช ทำลายระยะพักของตาข้าง ป้องกันการสุกของผลไม้ ช่วยชักนำให้เกิดแคลลัส และชักนำให้เกิดการเจริญแบบ somatic embryogenesis (Dinani et al., 2018)

ยังมีอีกหลายปัจจัยที่ส่งผลให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประสบความสำเร็จ ได้แก่ ขนาดของชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง (size of explant) มีความสำคัญอย่างมากต่อการเกิดลักษณะรูปร่าง การใช้ชิ้นส่วนขนาดใหญ่จะมีโอกาสประสบความสำเร็จมากกว่าการใช้ชิ้นส่วนขนาดเล็ก สภาพของการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture condition) หมายถึงสภาพภายในภาชนะที่เลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น สภาพของอาหารเป็นอาหารแข็งหรืออาหารเหลว ซึ่งกล้วยไม้จะเกิดการพัฒนารูปร่างลักษณะได้ดีในอาหารกึ่งแข็ง การแลกเปลี่ยนแก๊สที่ค่อนข้างจำกัด นอกจากนี้คุณภาพของน้ำ เป็นอีกปัจจัยที่สำคัญทั้งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการดูแลกล้วยไม้ในโรงเรือน คุณภาพน้ำที่ดีส่งผลให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ประสบความสำเร็จ และยังส่งผลถึงคุณภาพและปริมาณของผลผลิต (Zimmerman, 1994)

1.3.5 คุณภาพน้ำ

น้ำที่นำมาใช้ในโรงเรือนและห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องเป็นน้ำที่มีคุณภาพดี โดยน้ำที่นำมาใช้ในการดูแลต้นกล้วยไม้ในโรงเรือนควรมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 5.2 ถึง

6.2 ซึ่งทำให้กล้วยไม้สามารถดูดซึมแร่ธาตุมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ดีกว่าน้ำที่มีสภาพเป็นด่างหรือกรดมากเกินไป (กรมวิชาการเกษตร, 2545) เพราะจะทำให้กล้วยไม้ไม่สามารถเจริญเติบโตได้เต็มที่ สภาพความเป็นกรดหรือด่างมากเกินไปของน้ำยังส่งผลให้รากของกล้วยไม้เกิดการชะงักการเจริญเติบโต ปลายรากเปลี่ยนเป็นสีดำ น้ำที่ใช้สำหรับการเกษตรเพาะปลูกพืชทั่วไปควรมีค่าการนำไฟฟ้า (EC) ไม่ควรเกิน 2 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร (ตารางที่ 1) (กรมควบคุมมลพิษ, 2556)

**ตารางที่ 1** คุณภาพน้ำเพื่อการชลประทานตามระบบของสหรัฐอเมริกา (United States Salinity Laboratory Staff, 1954)

| ค่าการนำไฟฟ้า (dS/m) | ระดับความเค็ม | ผลตอการเพาะปลูก |
|---|---|---|
| นอยกวา 2 | ไมเค็ม | ไมมีผลกระทบตอพืช |
| 2 – 4 | เค็มนอย | มีผลกระทบตอการเจริญเติบโตของพืชไมทนเค็ม |
| 4 – 8 | เค็มปานกลาง | มีผลกระทบตอการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิด |
| 8 – 16 | เค็มมาก | เฉพาะพืชทนเค็มเทานั้นจึงเจริญเติบโตใหผลผลิตได |
| มากกว่า 16 | เค็มจัด | เฉพาะพืชทนเค็มจัดจึงเจริญเติบโตใหผลผลิตได |

**2. ความเค็ม (Salinity)**

ปัญหาความเค็ม เกิดจากการที่มีเกลือสะสมในดินระดับรากพืชในความเข้มข้นที่มากเกินไป ทำให้ผลผลิตลดลง ปัญหานี้อาจเกิดจากการให้น้ำที่มีการปนเปื้อนของเกลือแก่พืชอยู่อย่างต่อเนื่อง หรือเกิดจากการที่น้ำใต้ดินตื้นและเค็ม เป็นสาเหตุให้ผลผลิตพืชลดลง เนื่องจากพืชไม่สามารถดูดน้ำในดินได้เพียงพอ ทำให้พืชขาดน้ำ ซึ่งเป็นผลให้อัตราการเจริญเติบโตน้อยลง ผลผลิตลดลง และอาจตายในที่สุด

**2.1 ความเค็มกับการเจริญเติบโตของพืช**

ความเค็มทำให้การเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพของพืชลดลง เนื่องจาก (Bernstein, 1964)

2.1.1 ความเครียดออสโมติก (osmotic stress)

พืชที่ได้รับความเครียดจากเกลือจะต้องใช้พลังงานมากกว่าปกติเพื่อดูดน้ำและธาตุอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโต เกลือทำให้แรงดันออสโมติกของน้ำ (osmotic pressure) เพิ่มขึ้น และลดความต่างศักย์ของน้ำ (water potential) ในดิน โดยน้ำไหลจากบริเวณที่มีความต่างศักย์สูง (เกลือเจือจาง) ไปสู่บริเวณที่มีความต่างศักย์ที่ต่ำกว่า (เกลือเข้มข้น) หากบริเวณรากมีเกลือมาก สารละลายภายนอกจะเข้มข้นกว่าภายในพืช ทำให้พืชไม่สามารถดูดน้ำจากดินได้ (FAO, 1976) และส่งผลให้น้ำเคลื่อนที่

ออกจากเซล์พืช มีผลกระทบต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช พืชจะมีอาการคล้ายพืชขาดน้ำ แสดงอาการเฉา หรือขอบใบไหม้

2.1.2 ความเป็นพิษของธาตุบางชนิด (Ion toxicity)

ไอออนบางชนิดที่พืชดูดเข้าไปสะสมมากเกินความต้องการจะเกิดความเป็นพิษแก่พืช โดยพืชจะแสดงอาการขอบใบไหม้ และลุกลามเข้าเส้นกลางใบในที่สุด (FAO, 1976) ไอออนที่มีอิทธิผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ โซเดียม ($Na^+$) แมกนีเซียม ($Mg^{+2}$) คลอไรด์ ($Cl^-$) คาร์บอเนต ($CO_3^{-2}$) และ ฟอสเฟต ($SO_4^{-2}$) (United States Salinity Laboratory Staff, 1954) ซึ่ง $Na^+$ ที่สะสมในใบ มีผลทำให้ใบไหม้ เนื้อเยื่อตามขอบใบตาย อาการจะเกิดที่ใบแก่ก่อน โดยเริ่มที่ปลายใบ ขอบใบ แล้วลามมาที่เส้นกลางใบ ในสภาพอากาศร้อนและแห้งจะแสดงความเสียหายอย่างรวดเร็ว เมื่อพืชได้รับโซเดียมปริมาณมากทำให้เกิดอาการขาดแคลเซียม ($Ca^{2+}$) โพแทสเซียม ($K^+$) และแมกนีเซียม ($Mg^{2+}$) นอกจากนี้ยังทำให้โครงสร้างของดินเสียสภาพ (Hanson et al., 1994) ส่วน $Cl^-$ ที่พืชดูดเข้าไปจะถูกสะสมใน vacuole เนื่องจาก $Cl^-$ มีการแข่งขันกับตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น น้ำตาล จึงมีผลต่อการลดลงของการสะสมน้ำตาลในเซลล์สะสมอาหาร โดย NaCl ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นจะทำให้ความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ($CO_2$) และสังเคราะห์โปรตีนของพืชลดลง นอกจากนี้น้ำชลประทานที่มีคาร์บอเนต ($CO_2^{3-}$) และซัลเฟต ($SO_4^{-2}$) ไอออนปนอยู่ ส่งผลให้คุณภาพของผลผลิตลดลง เกิดคราบสีขาวของปูนบนลำต้น ใบ และดอก และยังเกิดการสะสมไอออนทั้งสองชนิดภายในราก ทำให้รากไม่สามารถดูดน้ำและแร่ธาตุไปเลี้ยงส่วนต่างๆของลำต้นได้ (Hanson et al., 1994)

2.1.3 ความไม่สมดุลของธาตุอาหาร (Nutrient imbalance)

การที่ดินมีระดับ pH สูงเนื่องจากมีการสะสมเกลือบางชนิด เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) โซเดียมคาร์บอเนต ($Na_2CO_3$) และแมกนีเซียมคาร์บอเนต ($MgCO_3$) และปริมาณของแร่ธาตุบางชนิดในดิน เช่น $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$, $K^+$ และ $Na^+$ ในปริมาณสูง ทำให้พืชดูดซึมธาตุอาหารได้น้อยลง เกิดผลเสียต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น ที่ระดับ pH 6-7 ฟอสเฟตอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์แก่พืช แต่ที่ระดับ pH มากกว่า 7 ธาตุอาหารบางชนิด เช่นเหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง และ โคบอลท์ อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์แก่พืชได้น้อย นอกจากนี้ยังพบว่าการเป็นพิษและการขาดธาตุอาหารของพืช (Specific ion effect) จะเกิดขึ้นเมื่อสารละลายในดินมีความเข้มข้นของประจุธาตุบางชนิดมากกว่าระดับปกติ ซึ่งจะไปขัดขวางหรือยับยั้งการดูดธาตุอาหารและขบวนการทางสรีรวิทยาบางอย่างของพืชได้ (Gupta & Huang, 2014)

James et al. (2002) ศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของข้าวสาลีสองสายพันธุ์ในสภาวะความเครียดเกลือ โดยพบว่าความเค็มส่งผลให้การเปิด-ปิดปากใบในข้าวสาลีทั้งสองสายพันธุ์ลดลง ในขณะที่ในสายพันธุ์ทนเค็มไม่ได้รับผลกระทบต่อความสามารถของการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช แต่ในใบแก่ของสายพันธุ์ปกติเกิดการสลายตัวของคลอโรฟิลล์มากขึ้น และมีการสะสมความเข้มข้นของ $Na^+$ และ $Cl^-$ เพิ่มขึ้นในใบ

ธาราทิพย์ สอดสุข และคณะ (2551) ศึกษาอิทธิพลความเค็มของน้ำต่อการเจริญเติบโตและอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิในรอบวันของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์เอียสกุลในโรงเรือนพรางแสง 60 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้น้ำที่มีความเข้มข้นของเกลือสมุทรที่ระดับ 0, 20.5, 37.6 และ 82.0 มิลลิโมลาร์ ซึ่งมีค่า EC 0, 2, 4 และ 8 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร รดต้นกล้วยไม้ที่มีอายุ 3, 9 และ 24 เดือน ทุกเช้าติดต่อกันเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าต้นที่มีอายุ 3 เดือน มีความเขียวใบ ความสูงลำลูกกล้วย และเส้นผ่านศูนย์กลางของลำลูกกล้วยลดลงตามระดับความเค็มที่สูงขึ้น โดยแสดงอาการใบเหลือง 0, 30, 60 และ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับความเค็ม 0, 2, 4 และ 8 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ต้นกล้วยไม้อายุ 9 เดือน และ 24 เดือน มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิลดลง เช่นเดียวกับการเปิด-ปิดปากใบในรอบวันที่ลดลงในระดับความเค็ม 4 และ 8 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าต้นกล้วยไม้ที่มีอายุ 9 เดือน มีการแตกหน่อใหม่ช้าลงด้วย

Da Silva et al. (2015) ศึกษาอัตราการรอดของ protocorm-like bodies (PLBs) ของกล้วยไม้ซิมบิเดียมลูกผสม Twilight Moon สายพันธุ์ ‘Day Light’ ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Teixeira *Cymbidium* (TC) ร่วมกับช่วงความเข้มข้นของเกลือจาก 0, 5, 10, 20, 50, 100 และ 200 มิลลิโมลาร์ โดยทำการย้าย PLBs ลงอาหารที่ระดับความเข้มข้นเดิมทุกๆ 30 วัน หลังการเปลี่ยนอาหารครบ 4 ครั้ง ในระยะที่สองจะทำการเปลี่ยนอาหาร โดยย้ายต้นกล้วยไม้จากอาหารที่มีเกลือ 5 หรือ 10 มิลลิโมลาร์ ลงในอาหารที่มีเกลือ 10 มิลลิโมลาร์ โดยทำการเปลี่ยนอาหารอีก 4 ครั้ง หลังจากนั้นเปลี่ยนอาหารโดยเพิ่มความเข้มข้นของเกลือเป็น 15-40 มิลลิโมลาร์ ผลการทดลองพบว่าจำนวน อัตราการรอดชีวิต น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้วยไม้ลดลงตามความเข้มข้นของเกลือที่กล้วยไม้ได้รับมากขึ้น

**2.2 ผลของความเค็มต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของพืช**

ความเค็มมีอิทธิพลตอการเจริญเติบโตของพืช โดยเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นการเจริญเติบโตของพืชลดลง เนื่องจากความเค็มมีผลตอกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืชในหลายๆดาน เชน มีผลทำให้อัตราการสังเคราะหดวยแสงของพืชลดลง นอกจากนี้ความเค็มยังมีผลตอการหายใจของพืชทำใหการเจริญเติบโตของพืชถูกจำกัดเพราะมีการหายใจมากขึ้นหรือมีการใชสารจากกระบวนการสังเคราะหดวยแสงมากขึ้น และยังพบวาความเค็มจะทำใหกระบวนการเมแทบอลิซึมเปลี่ยนแปลงไป คือ ยับยั้งการดูดธาตุอาหารอื่นๆ ซึ่งมีผลต่อสมดุลของประจุที่ทำใหเกิดความเค็ม โดยพบวาความสมดุลระหวาง $Na^+$ กับ $K^+$ ในสภาพที่มีความเค็มสูงจะเปนแบบหักล่างกัน คือ เมื่อปริมาณประจุชนิดหนึ่งเพิ่มขึ้นจะทำใหการดูดซึมประจุอีกชนิดหนึ่งลดลง เมื่อพืชมีการดูดซึม $Na^+$ เขาไปมากจึงทำใหพืชไมสามารถใช $K^+$ ไดเต็มที่ จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง

2.2.1 ผลของความเค็มต่อการสะสมสารอินทรีย์ภายในพืช

ความเค็มส่งผลกระทบต่อพืชทำให้พืชต้องมีการปรับตัวทางสรีรวิทยาเพื่อความอยู่รอด มีการสังเคราะห์และสะสมสารประเภท compatible solute คือ กลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว ไม่มีประจุ ละลายได้ในธรรมชาติ เช่น โพรลีน (Ahmad et al., 2010; Hoque et al., 2007; Tahir et al., 2012) ไกลซีน เบทาอีน (Khan et al., 2000; Wang & Nii, 2000) น้ำตาล (Bohnert et al.,

1995; Kerepesi & Galiba, 2000) และโพลีออล (Ashraf & Fooland, 2007; Saxena et al., 2013) เพื่อป้องกันตัวเองเมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลง โดยการสะสมโพรลีนในพืชจะช่วยปรับค่าแรงดันออสโมติกเมื่อพืชมีการดูดน้ำน้อยลงจากผลของค่าความต่างศักย์ของน้ำในเซลล์ที่สูงขึ้น (Hare et al., 1998) ส่งผลให้พืชมีการดูดน้ำและลำเลียงน้ำไปใช้ได้อย่างต่อเนื่อง (Hussain et al., 2008) โดยในพืชที่ได้รับความเครียดเกลือจะมีการสะสมปริมาณโพรลีนในพืชสูงขึ้น (Smirnof, 1993) และปัจจุบันสารที่พืชสังเคราะห์ขึ้นถูกนำมาใช้เป็นดัชนีชี้วัดความทนเค็มของพืช ไม่ว่าจะเป็นปริมาณโพรลีน หรือปริมาณน้ำตาล ในขณะที่ MDA เป็นผลจากปฏิกิริยา lipid peroxidation ก็ถูกใช้เป็นตัววัดความเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ถูกทำลาย (Auer et al., 1995) โดย MDA จะทำปฏิกิริยากับไขมันที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ ไขมันถูกทำลายทำให้เกิดการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์จากการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ (นิศาชล แจ้งพรมา และคณะ, 2555)

2.2.2 ผลของความเค็มต่อกิจกรรมของ SOD และ CAT

สภาวะความเครียดที่เกิดจากสิ่งแวดล้อม เช่น ความแห้งแล้ง ความร้อน หรือความเค็ม ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชและทำให้ผลผลิตทางการเกษตรของพืชทั่วโลกลดลง การลดลงเหล่านี้เป็นผลมาจากสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไป ผลกระทบจากภัยพิบัติ สภาพของพื้นที่การเกษตร และการขาดแคลนน้ำจืดเป็นต้น (Hu & Xiong, 2014; Mittler & Blumwald, 2010) โดยสภาวะความเครียดเหล่านี้จะทำให้พืชมีการปรับตัวด้านสรีรวิทยาและการเผาผลาญอาหารมากกว่าปกติเพื่อให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่ได้รับความเครียด ทำให้เกิดผลกระทบจาก oxidative stress โดยเกิดจากการสะสม reactive oxygen species (ROS) ภายในพืชมากเกินไป ซึ่งอาจอยู่ในรูปของ hydrogen peroxide ($H_2O_2$), superoxide radical ($O_2^{\bullet}$), hydroxyl radical (OH•) and singlet oxygen ($^1O_2$) เป็นต้น (Hirayama & Shinozaki, 2010; Miller et al., 2010)

กลไกการกำจัดหรือยับยั้งการทำงานของ ROS ภายในพืช คือสารต้านอนุมูลอิสระ แบ่งออกเป็นเอนไซม์ เช่น SOD, ascorbate peroxidase (APX), CAT, glutathione peroxidase (GPX), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbate reductase (DHAR), glutathione reductase (GR), glutathione S-transferase (GST), และ peroxiredoxin (PRX) ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้ทำงานร่วมกันเพื่อยับยั้งความเสียหายของเซลล์ที่เกิดจาก ROS โดย SOD เป็นเอนไซม์ตัวแรกที่เปลี่ยน $O_2^{\bullet-}$ ไปเป็น $H_2O_2$ และมี CAT ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเปลี่ยน $H_2O_2$ ให้เป็น $H_2O$ และ $O_2$ (Meyer et al., 2012; Noctor et al., 2014) ส่วนที่ไม่ใช่เอนไซม์ (Non-enzymatic antioxidants) เช่น glutathione (GSH), ascorbic acid (AsA), carotenoids, tocopherols, และ flavonoids เป็นสิ่งสำคัญในการรักษาสมดุล ROS ภายในพืช (Gill & Tuteja, 2010)

Mothershaw et al. (2013) ศึกษาผลของความเครียดเกลือที่ระดับ 0, 2, 3, 4 และ 5 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร ต่อการเจริญเติบโต การรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ และการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ของแตงกวา (*Cucumis sativus* L.) ที่ทำการทดลองในเรือน

กระจกเป็นเวลา 14 วัน ผลการศึกษาพบว่าการเจริญเติบโตทั้งความสูงต้นและจำนวนใบของแตงกวาลดลงเมื่อได้รับความเครียดเกลือที่ระดับ 5 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่ระดับความเครียดเกลือ 5 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร พบการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์และปริมาณ MDA มากสุด นอกจากนี้ยังพบค่าศักย์ของน้ำและปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงเมื่อแตงกวาได้รับความเครียดเกลือในระดับที่สูงขึ้น

Miranda et al. (2014) ศึกษาผลของความเครียดเกลือต่อการสะสมโพรลีนและสารต้านอนุมูลอิสระในใบของเคพกูสเบอร์รี่ โดยเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของ NaCl 0, 60 และ 120 มิลลิโมลาร์ ต่อการเจริญเติบโตของเคพกูสเบอร์รี่ในเรือนกระจก เมื่อวิเคราะห์ใบของเคพกูสเบอร์รี่อายุ 45, 55, 65 และ 75 วันหลังย้ายลงกระถาง พบว่าการเจริญเติบโตส่วนใหญ่ลดลงเมื่อได้รับ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 120 มิลลิโมลาร์ แต่การสะสมโพรลีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มสูงขึ้นตามระดับ NaCl ที่เพิ่มขึ้น ส่วนต้นที่ได้รับ NaCl เป็นเวลา 55 วัน มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าต้นที่ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 75 วัน เนื่องจากเคพกูสเบอร์รี่สามารถปรับตัวให้เจริญเติบโตได้ในสภาวะความเครียดเกลือ โดยเพิ่มการสะสมโพรลีนและการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระที่ใบ

จันทร์ธิดา ดวงจันทร์ และศิริพรรณ บรรหาร (2559) ศึกษาผลของเกลือ NaCl ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ ปริมาณโพรลีน และกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) โดยทำการเพาะเลี้ยงถั่วเหลือง 2 สายพันธุ์ คือ สจ.5 และ มข.35 ด้วยสารละลายอาหารพืชสูตร Hoagland และให้ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 120 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 0, 4, 8, 12, 16, และ 24 วัน พบว่าทั้ง 2 สายพันธุ์มีการเจริญเติบโตและปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงเมื่อความเข้มข้นของ NaCl เพิ่มขึ้น โดยสายพันธุ์ สจ.5 มีการเจริญเติบโตและปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมากกว่า มข.35 ส่วนปริมาณโพรลีนและกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในใบของถั่วเหลืองทั้ง 2 สายพันธุ์เพิ่มสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ NaCl โดยในสายพันธุ์ มข.35 มีปริมาณมากกว่า สายพันธุ์ สจ.5

ดังนั้นถ้าพื้นที่ปลูกกล้วยไม้ได้รับน้ำเค็มก็จะทำให้คุณภาพและปริมาณผลผลิตของกล้วยไม้สกุลหวายลดลง ดังนั้นการรักษาผลผลิตกล้วยไม้สกุลหวายให้มีปริมาณและคุณภาพที่เท่าเดิมหรือมากขึ้นกว่าเดิม จึงจำเป็นต้องส่งเสริมให้กล้วยไม้สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะความเครียดที่เกิดจากเกลือ โดยการใช้สารประกอบซิลิคอน ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติช่วยลดความเครียดต่างๆ รวมถึงความเครียดที่เกิดจากเกลือให้แก่พืช

**3. ซิลิคอน (Silicon)**

ซิลิคอนเป็นธาตุที่พบมากในดิน (Epstein, 1999) แต่ไม่ถูกจัดเป็นธาตุอาหารที่จำเป็น (essential element) สำหรับการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช (Epstein & Bloom, 2005; Liang et al., 2015) โดยทั่วไปซิลิคอนถูกดูดซึมเข้าสู่รากพืชในรูปของ $H_4SiO_4$ และถูกลำเลียงไปยังส่วนต่างๆ ของลำต้นผ่านท่อลำเลียงน้ำและแร่ธาตุ (xylem) (Ma & Yamaji, 2008) เมื่อพืชได้รับ

ซิลิคอน ซิลิคอนจะช่วยเสริมสร้างความแข็งแรง ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดี และเพิ่มปริมาณรวมถึงคุณภาพผลผลิตอย่างเด่นชัดในพืชหลายชนิด โดยเฉพาะในกรณีที่พืชได้รับความเครียด จากทั้งสิ่งที่มีชีวิต (biotic stress) เช่น โรค แมลง และความเครียดที่เกิดจากสิ่งแวดล้อม (abiotic stress) เช่น สภาพขาดน้ำ รวมถึงความเค็ม (Azeem et al., 2015; Coskun et al., 2016; Guerriero et al., 2016) โดยซิลิคอนจะช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุและกิจกรรมการสังเคราะห์ด้วยแสง ปรับปรุงโครงสร้างพุ่มต้น ควบคุมการคายน้ำ ตลอดจนช่วยเพิ่มความทนทานของพืชต่อพิษของธาตุต่างๆ เช่น เหล็กและแมงกานีส เป็นต้น ซิลิคอนจึงเป็นธาตุเสริมประโยชน์ หรือ beneficial element สำหรับพืช (Sivanesan & Park, 2014)

**3.1 การดูดซึมและลำเลียงซิลิคอนในพืช**

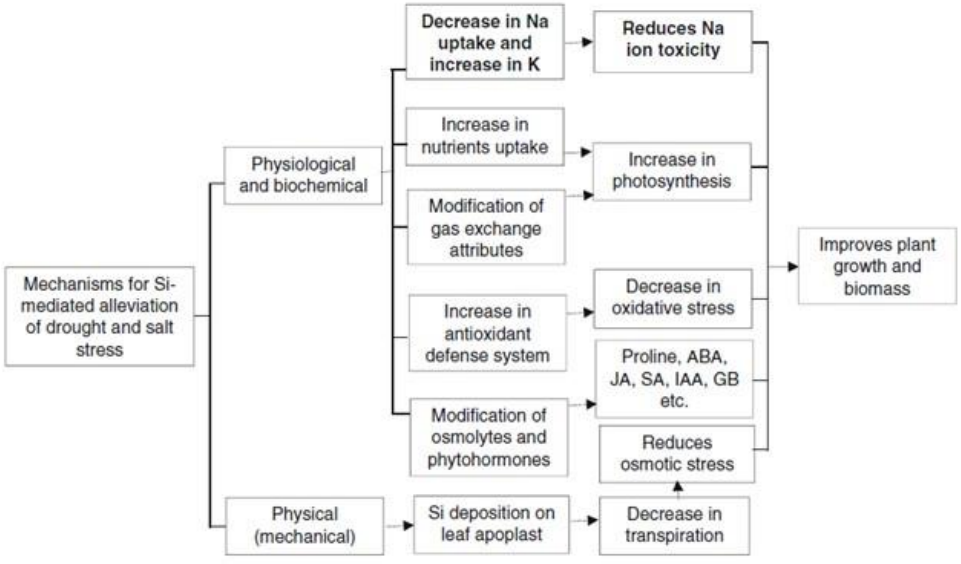
โดยทั่วไปพืชจะดูดซึมซิลิคอนจากใต้ดินในรูปของสารละลายไม่มีขั้ว orthosilicic acid, $H_4SiO_4$ ที่ pH ต่ำกว่า 9 ประมาณ 0.1-10 % ต่อน้ำหนักแห้งของพืช อย่างไรก็ตามการดูดซึมและการสะสมซิลิคอนภายในพืชขึ้นอยู่กับชนิดและ genotype ของพืช (Casey et al., 2004; Epstein, 1994; Ma & Yamaji, 2008; Sommer et al., 2006) ซึ่งขั้นตอนการดูดซึมและการลำเลียงซิลิคอนภายในพืชส่วนใหญ่แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรก คือ การแพร่ (diffusion) หรือ radial transport โดยเป็นขั้นตอนที่สารละลายจากภายนอกจะแพร่เข้าสู่ภายในเซลล์พืชบริเวณชั้น cortical cell หลังจากนั้นจะเกิดการลำเลียงจากบริเวณ cortical cell เข้าสู่ส่วนของลำต้นโดยผ่านท่อลำเลียงน้ำและแร่ธาตุ (xylem) เป็นขั้นตอนที่เรียกว่า xylem loading โดยอาศัยการแพร่และการลำเลียงแบบใช้พลังงาน (active transport) ซึ่งมีโปรตีนตัวพาจำเพาะ (transporter) ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้ซิลิคอนสามารถเข้าสู่ xylem ได้ (Mitani & Ma, 2005) จากการศึกษาระดับยีนในข้าว พบว่ายีน *Lsi1* เกี่ยวข้องกับการ encode โปรตีน Lsi1 ที่ทำหน้าที่เป็น Si-transporter และยังพบว่ายีน *Lsi2* ซึ่ง encode โปรตีน Lsi2 ที่มีหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายซิลิคอนออกนอกเซลล์ ซึ่งทั้ง 2 ยีนพบการแสดงออกบริเวณเยื้อหุ้มเซลล์ของ epidermis และ endodermis ในรากข้าวเช่นเดียวกัน (Ma et al., 2006; 2007) เมื่อซิลิคอนถูกลำเลียงผ่านท่อลำเลียงน้ำและแร่ธาตุ จะพบการแสดงออกของยีน *Lsi6* บริเวณ parenchyma cell ใน xylem ทั้งส่วนของกาบใบและแผ่นใบของข้าว ซึ่งยีนนี้เกี่ยวข้องกับการ encode โปรตีน Lsi6 ให้ทำหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายซิลิคอนไปยังส่วนต่างๆ ของลำต้น (Yamaji et al., 2008)

**3.2 บทบาทของซิลิคอนต่อการทนเค็มของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง**

ซิลิคอนไม่จัดเป็นธาตุอาหารที่มีความจำเป็นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่การเติมซิลิคอนลงในอาหารจะช่วยส่งเสริมศักยภาพการพัฒนาลักษณะทางสัญฐานวิทยาของเซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะพืช ช่วยเพิ่มเฮมิเซลลูโลส และลิกนินซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ ทำให้พืชสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ๆได้ อีกทั้งยังช่วยพัฒนาการเจริญเติบโตแบบ organogenesis และ embryogenesis ในหลอดทดลอง ช่วยส่งเสริมให้พืชทนทานต่ออุณหภูมิต่ำและความเค็ม ปกป้อง

เซลล์จากสารพิษที่เกิดจากโลหะหนัก รวมถึงป้องกันการเกิด oxidative phenolic browning และลดอาการฉ่ำน้ำในพืชหลายชนิด (Sivanesan & Park, 2014)

ความเค็มทำให้การเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพของพืชลดลง เนื่องจาก 1) ความเครียดออสโมติก (osmotic stress) 2) ความเปนพิษของธาตุบางชนิด (ion toxicity) และ 3) ความไมสมดุลของธาตุอาหาร (Bernstein, 1964) ซึ่งซิลิคอนมีคุณสมบัติช่วยบรรเทาภาวะความเครียดเนื่องจากความเค็ม ทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตในภาวะที่มีความเครียดจากเกลือได้ โดยสารประกอบซิลิคอนจะช่วยให้กิจกรรมการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชสูงขึ้น ลดการสูญเสียน้ำในกระบวนการการคายน้ำของพืช โดยชักนำให้เกิดการสะสมซิลิกาใน cuticle ใต้ผิวใบ (Gong et al., 2003) ปรับสภาพการดูด $K^+$ และ $Na^+$ เพื่อส่งเสริมให้อัตราส่วน K/Na (K/Na selectivity ratio) สูงขึ้น โดยยับยั้งการดูดซึม $Na^+$ (Zhu & Gong, 2014) และ $Cl^-$ (Shi et al., 2013) ป้องกันความเป็นพิษจากไอออนบางชนิด ซิลิคอนจะตกตะกอนบริเวณเซลล์ราก ทำให้การเคลื่อนย้ายธาตุอาหารที่เป็นพิษจากบริเวณรากสู่ลำต้นลดลง และยังไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ $H^+$ -ATPase และ $H^+$ -PPase บริเวณ plasma membrane และ tonoplast ของเซลล์บริเวณรากและใบ ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการลำเลียงไอออนของธาตุอาหารต่างๆ เข้าสู่เซลล์ รวมถึงลำเลียงไอออนของเกลือออกนอกเซลล์ และเพิ่มการดูดซึม $K^+$ เพื่อรักษาสมดุลไอออนภายในเซลล์ (รูปที่ 2) (Liang et al., 2007; Ma & Yamaji, 2006; Savvas & Ntatsi, 2015) ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ทำให้พืชมีการสะสม $H_2O_2$ จากการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ซิลิคอนยังยับยั้งการคายน้ำของพืชเพื่อลดความเครียดจากแรงดันออสโมติก และกระตุ้นกิจกรรมของรากให้เกิดการดูดซึมแร่ธาตุต่างๆ ทำให้เกิดสมดุลแร่ธาตุ ซึ่งบทบาทเหล่านี้จะช่วยส่งเสริมให้พืชสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ในสภาวะความเค็ม (รูปที่ 2) (Epstein, 1999; Rizwan et al., 2015)




**รูปที่ 2** กลไกของซิลิคอนที่ช่วยส่งเสริมการทนต่อความแล้งและความเค็มของพืช (Rizwan et al., 2015)

**3.3 ผลของซิลิคอนในรูปแบบต่างๆ ต่อการทนเค็มของพืช**

Murillo-Amador et al. (2007) ศึกษาการเจริญของถั่วฝักยาวและถั่วแดงที่เจริญเติบโตภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 40 มิลลิโมลาร์ ในระบบ hydroponic ร่วมกับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1 มิลลิโมลาร์ พบว่าการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิ ปริมาณคลอโรฟิลล์ การเปิด-ปิดปากใบ ปริมาณ $CO_2$ ภายในเซลล์ ระดับความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ ในยอดและรากของต้นถั่วทั้ง 2 ชนิด เพิ่มสูงขึ้น โดย $CaSiO_3$ สามารถลดผลกระทบที่เกิดจากระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้ โดยลดการดูดซึม $Na^+$ และ $Cl^-$ และเพิ่มการสะสม $Ca^+$ และ $K^+$ ในยอดและราก

Ali et al. (2009) ทดสอบประสิทธิภาพของซิลิคอนในการทนเค็มของข้าวสาลี 2 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ปกติ (Auqab-200) และสายพันธุ์ทนเค็ม (SARC-5) ในระบบ hydroponic ที่มีความเข้มข้นของเกลือ 2 และ 10 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร ร่วมกับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 32 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ 10 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร สายพันธุ์ทนเค็มสามารถเจริญได้ดีกว่าสายพันธุ์ปกติ โดยวัดจากความยาวต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง แต่ในสายพันธุ์ปกติจะสามารถเจริญเติบโตได้เมื่อได้รับสารประกอบซิลิคอน สารประกอบซิลิคอนช่วยให้ข้าวสาลีลดการดูดซึม $Na^+$ และเพิ่มการดูดซึม $K^+$ และ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วยลดผลกระทบที่เกิดจากความเค็มได้ดีกว่าความเข้มข้นอื่นๆ

Ali et al. (2012) ศึกษาการลดผลกระทบที่เกิดจากความเครียดเกลือโดยให้ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 75 และ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แก่ข้าวสาลีที่เจริญเติบโตภายใต้สภาวะความเครียดที่เกิดจากเกลือในแปลงปลูกที่มีค่าการนำไฟฟ้า 10-13.8 dS/m หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิต พบว่าเมื่อข้าวสาลีได้รับ $CaSiO_3$ จะมีจำนวนของ tillers จำนวนเมล็ดต่อรวง และผลผลิตของข้าวสาลีเพิ่มขึ้นทั้งในสายพันธุ์ปกติ Auqab-200 และสายพันธุ์ทนเค็ม SAR-5 โดยสารประกอบซิลิคอนช่วยปรับอัตราส่วนของ $K^+$/ $Na^+$ ให้สูงขึ้น เพื่อให้ต้นข้าวสาลีสามารถเจริญเติบโตได้ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ

Asmar et al. (2013) ศึกษาผลของสารประกอบซิลิคอนที่แตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของใบ และการสังเคราะห์ด้วยแสงของกล้วย Maçã กล้วยพันธุ์พื้นเมืองของอเมริกากลางและอเมริกาใต้ในหลอดทดลอง โดยทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 45 วัน บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Murashinge and Skoog (MS), (1962) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต (NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับสารประกอบซิลิคอนที่แตกต่างกัน คือ Sodium silicate ($Na_2SiO_3$), Potassium silicate ($K_2SiO_3$) และ $CaSiO_3$ โดยใช้ปริมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร พบว่า $CaSiO_3$ คือสารประกอบซิลิคอนที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมให้เกิดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงและปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุด นอกจากนี้ยังส่งเสริมให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อ epidermis, hypodermis, mesophyll และปากใบมากที่สุดซึ่งทำให้ต้นกล้วยทนต่อความเครียดจากสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าการไม่ใช้สารประกอบซิลิคอนหรือการใช้สารประกอบซิลิคอนในรูปอื่น

# บทที่ 3

## วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 1. พืชที่ใช้ในการทดลอง

กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ *Dendrobium* ‘Sonia Jo Daeng’ หรือเรียกว่ากล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม *Dendrobium* Sonia ‘Red Jo’

### 2. วัสดุอุปกรณ์

2.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

2.1.1 เครื่องชั่ง (Balance) สามารถชั่งน้ำหนักได้ละเอียดเป็นกรัมและมิลลิกรัม (บริษัท เมลเลอร์ โทเลโด (ประเทศไทย) จำกัด)

2.2.2 เตาไฟฟ้า หรือ แผ่นความร้อน (Hotplate) (Jenway) เตาไมโครเวฟ (Microwave) (Sumsung)

2.2.3 เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH Meter) (Suntex Instrument Co., Ltd.)

2.2.4 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) (Wiseclave)

2.2.5 ตู้อบความร้อนแห้ง (Hot air oven)

2.2.6 ตู้เย็น (Refrigerator) (Hitachi)

2.2.7 เครื่องแก้ว (Glassware)

- บีกเกอร์ (Beaker) ขนาดต่างๆ (50, 100, 500, 1,000 และ 2,000 มิลลิลิตร)
- กระบอกตวง (Cylinder) ขนาดต่างๆ (10, 100, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร)
- ปิเปต (Pipette) ขนาดต่างๆ (1, 2, 5 และ 10 มิลลิลิตร)
- ขวดแก้วสีชาเก็บสารละลายเข้มข้น (Stock solution)
- ขวดบรรจุอาหาร
- แท่งแก้วคนสาร

2.2.8 น้ำกลั่นและขวดน้ำกลั่น

2.2.9 อุปกรณ์อื่นๆ

- กระดาษชั่งสาร
- ช้อนตักสารเคมี
- ช้อนตักอาหาร
- มีด กรรไกร
- ถุงมือกันความร้อน
- แปรงล้างขวด
- จุกยาง
- กระดาษทิชชู

2.2 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายเนื้อเยื่อ

2.2.1 มีดผ่าตัด (ใบมีดและด้ามมีด) (Blade and Scalpel)

2.2.2 ปากคีบ (Forceps)
2.2.3 ตะเกียงแอลกอฮอล์และขวดใส่แอลกอฮอล์แช่เครื่องมือ
2.2.4 ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (Laminar flow hood)
2.2.5 จานแก้ว (Petti dish)

2.3 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน (Proline)
2.3.1 โกร่งบด
2.3.2 กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman)
2.3.3 หลอดทดลอง (Test tube)
2.3.4 ไมโครปิเปต (Micropopette)
2.3.5 ถังน้ำแข็ง
2.3.6 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
2.3.7 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) (Heraeus™)
2.3.8 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixture)
2.3.9 เครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Optizen 3220UV)

2.4 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total soluble sugar)
2.4.1 โกร่งบด
2.4.2 หลอดทดลอง (Test tube)
2.4.3 ไมโครปิเปต (Micropopette)
2.4.4 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) (Heraeus™)
2.4.5 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixture)
2.4.6 เครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Optizen 3220UV)

2.5 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde (MDA)
2.5.1 โกร่งบด
2.5.2 หลอดทดลอง (Test tube)
2.5.3 ไมโครปิเปต (Micropopette)
2.5.4 ถังน้ำแข็ง
2.5.5 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) (Heraeus™)
2.5.6 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
2.5.7 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixture)
2.5.8 เครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Optizen 3220UV)

2.6 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte leakage, EL)
2.6.1 บีกเกอร์ (Beaker)
2.6.2 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

2.6.3 เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (EC meter) (Starter3000c, Ohaus)

2.7 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD)

2.7.1 โกร่งบด

2.7.2 หลอดทดลอง (Test tube)

2.7.3 หลอดฟลูออเรสเซนต์ 36 วัตต์ (Philips)

2.7.5 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) (Heraeus™)

2.7.6 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixture)

2.7.7 เครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Optizen 3220UV)

2.8 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase (CAT)

2.8.1 หลอดทดลอง (Test tube)

2.8.2 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixture)

**3. สารเคมี**

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการถ่ายเนื้อเยื่อ

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหาร VW (Vacin & Went, 1949)

3.1.2 เกลือ (NaCl) (Ajax finechem, CAS No. 7647-14-5)

3.1.3 Silicic acid ($H_4SiO_4$, MW=96.113) (Alfa Aesar, CAS No. 1343-98-2)

3.1.4 Calcium silicate ($CaSiO_3$, MW=116.16) (Alfa Aesar, CAS No. 10101-39-0)

3.1.5 น้ำตาลทราย

3.1.6 ผงวุ้น (Criterion)

3.1.7 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) 70% และ 95% (L Pure)

3.1.8 เมทิลแอลกอฮอร์ (Methyl alcohol)

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน (Proline)

3.2.1 Sulfosalicylic acid ($C_7H_6O_6S$, MW=218.185 g/mol) (Sigma Aldrich, CAS No. 304851-84-1)

3.2.2 Phosphoric acid ($H_3PO_4$, MW=97.994 g/mol) (Merckmillipore, CAS No. 7664-38-2)

3.2.3 Ninhydrin ($C_9H_6O_4$, 178.14 g/mol) (Sigma Aldrich, CAS No. 485-47-2)

3.2.4 L-proline ($C_5H_9NO_2$, MW=115.13 g/mol) (Himedia, CAS No. 147-85-3)

3.2.5 Glacial acetic acid ($CH_3COOH$, MW = 60.052 g/mol) (Merckmillipore, CAS No. 64-19-7)

3.2.6 Tuloene ($C_7H_8$, MW = 92.14 g/mol) (CAS No. 108-88-3)

3.2.7 น้ำกลั่น (Distilled Water)

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total soluble sugar)

3.3.1 Phenol ($C_6H_5OH$, MW=94.11 g/mol) (Alfa Aesar, CAS No. 108-95-2)

3.3.2 Sulfuric acid ($H_2SO_4$, MW = 98.08 g/mol) (CAS No. 7664-93-9)

3.3.3 Glucose ($C_6H_{12}O_6$, MW=180.156 g/mol) (Ajax finechem, CAS No. 50-99-7)

3.3.4 น้ำกลั่น (Distilled Water)

3.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde (MDA)

3.4.1 Thiobarbituric acid (TBA, $C_4H_4N_2O_2S$, MW=144.15 g/mol) (Sigma Aldrich, CAS No. 504-17-6)

3.4.2 Trichloroacetic acid (TCA, $C_2HCl_3O_2$, MW=168.38 g/mol) (Doaejung, CAS No. 76-03-9)

3.4.3 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP, $C_{11}H_{24}O_4$, MW=220.31) (Sigma Aldrich, CAS No. 122-31-6)

3.4.4 น้ำกลั่น (Distilled Water)

3.5 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte leakage; EL)

3.5.1 น้ำกลั่น (Distilled Water)

3.6 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD)

3.6.1 di Sodium hydrogen phosphate ($Na_2HPO_4$, MW = 141.96 g/mol) (Ajax finechem, CAS No. 7558-79-4)

3.6.2 Sodium di hydrogen phosphate ($NaH_2PO_4$, MW = 119.98 g/mol) (Ajax finechem, CAS No. 7558-80-7)

3.6.3 Polyvinylpyrrolidone (PVP, MW = 10,000 g/mol) (Sigma Aldrich, CAS No. 9003-39-8)

3.6.4 Superoxide Dismutase from bovine erythrocytes (Sigma Aldrich, CAS No. 9054-89-1)

3.6.5 Methionine ($C_5H_{11}NO_2S$, MW = 149.21 g/mol) (Sigma Aldrich, CAS No. 63-68-3)

3.6.6 Nitro blue tetrazolium chloride (NBT, $C_{40}H_{30}Cl_2N_{10}O_6$, MW = 817.64 g/mol) (Sigma Aldrich, CAS No. 298-83-9)

3.6.7 Riboflavin ($C_{17}H_{20}N_4O_6$, MW = 376.36 g/mol) (Sigma Aldrich, CAS No. 83-88-5)

3.6.8 EDTA ($C_{10}H_{16}N_2O_8$, MW = 292.24 g/mol) (Ajax finechem, CAS No. 60-00-4)

3.6.9 น้ำกลั่น (Distilled Water)

3.7 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase (CAT)

3.7.1 di Sodium hydrogen phosphate ($Na_2HPO_4$, MW = 141.96 g/mol) (Ajax finechem, CAS No. 7558-79-4)

3.7.2 Sodium di hydrogen phosphate ($NaH_2PO_4$, MW = 119.98 g/mol) (Ajax finechem, CAS No. 7558-80-7)

3.7.2 Hydrogen peroxide ($H_2O_2$, MW = 34.015 g/mol) (Merckmillipore, CAS No. 7722-84-1)

3.7.3 น้ำกลั่น (Distilled Water)

จากการทดสอบความเข้มข้นของเกลือ NaCl ที่มีผลต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ พบว่าเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นระดับความเข้มข้นที่ส่งผลกระทบให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการตายใกล้เคียง 50 เปอร์เซ็นต์มากที่สุด จึงนำมาทดสอบผลของสารประกอบซิลิคอนต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความเค็มต่อ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ (อรพินท์ จูนีนารถ และคณะ, 2562) จึงเลือกใช้สารประกอบซิลิคอน 2 ชนิด คือ $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม และศึกษาวิธีการใช้สารประกอบซิลิกอน 2 วิธี วิธีที่ 1 คือการให้สารประกอบซิลิกอนพร้อมกับการได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ส่วนวิธีที่ 2 คือการให้สารประกอบซิลิกอนเป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 25±1˚C ความเข้มแสง 35-40 $\mu M.m^{-2}.s^{-1}$ โดยให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์ และบันทึกผลการลดลงและการรอดชีวิตทุกๆ สัปดาห์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองนำไปหาค่าการเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้น ความยาวราก จำนวนใบ และจำนวนราก ซึ่งมีวิธีการทดลองดังต่อไปนี้

**การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสารประกอบซิลิคอนในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับเกลือ**

1. ย้ายต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารสูตร VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร คัดเลือกต้นที่มีการเจริญเติบโตเท่าๆ กัน สูง 0.7-1.0 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.12-0.15 กรัม ลงอาหาร VW ที่มีความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ที่ทำให้กล้วยไม้ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ 50% และ 100% ตามลำดับ ร่วมกับสารประกอบซิลิคอนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ
   ความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) 200 mM
   โดยแบ่งเป็น 11 สูตร สูตรละ 10 ต้น ดังนี้

| | | |
|---|---|---|
| สูตรที่ 1 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $H_4SiO_4$ | 0 | mM |
| สูตรที่ 2 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $H_4SiO_4$ | 1.25 | mM |
| สูตรที่ 3 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $H_4SiO_4$ | 2.5 | mM |
| สูตรที่ 4 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $H_4SiO_4$ | 5.0 | mM |
| สูตรที่ 5 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $H_4SiO_4$ | 7.5 | mM |
| สูตรที่ 6 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $H_4SiO_4$ | 10.0 | mM |
| สูตรที่ 7 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $CaSiO_3$ | 1.25 | mM |
| สูตรที่ 8 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $CaSiO_3$ | 2.5 | mM |

สูตรที่ 9 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $CaSiO_3$ 5.0 mM
สูตรที่ 10 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $CaSiO_3$ 7.5 mM
สูตรที่ 11 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $CaSiO_3$ 10.0 mM

ความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) 300 mM
โดยแบ่งเป็น 11 สูตร สูตรละ 10 ต้น ดังนี้
สูตรที่ 1 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $H_4SiO_4$ 0 mM
สูตรที่ 2 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $H_4SiO_4$ 1.25 mM
สูตรที่ 3 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $H_4SiO_4$ 2.5 mM
สูตรที่ 4 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $H_4SiO_4$ 5.0 mM
สูตรที่ 5 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $H_4SiO_4$ 7.5 mM
สูตรที่ 6 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $H_4SiO_4$ 10.0 mM
สูตรที่ 7 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $CaSiO_3$ 1.25 mM
สูตรที่ 8 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $CaSiO_3$ 2.5 mM
สูตรที่ 9 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $CaSiO_3$ 5.0 mM
สูตรที่ 10 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $CaSiO_3$ 7.5 mM
สูตรที่ 11 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 300 mM + $CaSiO_3$ 10.0 mM

2. นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 25±1˚C ความเข้มแสง 35-40 $\mu M.m^{-2}.s^{-1}$ โดยให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์
3. สังเกตการณ์เจริญเติบโตของกล้วยไม้
   การบันทึกผลการทดลอง
   1. อัตราการรอดชีวิต
   2. ระยะเวลาการรอดชีวิต
   3. อัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์ (ต้น)
   4. การเจริญเติบโต (ความสูงต้น น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนใบ จำนวนราก)

**การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารประกอบซิลิคอนก่อนการได้รับความเครียดจากเกลือ (NaCl) ในหลอดทดลอง**

1. ย้ายต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารสูตร VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร คัดเลือกต้นที่มีการเจริญเติบโตเท่าๆ กัน สูง 0.7-1.0 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.12-0.15 กรัม
   โดยแบ่งเป็น 11 สูตร สูตรละ 10 ต้น ดังนี้
   สูตรที่ 1 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $H_4SiO_4$ 0 mM
   สูตรที่ 2 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $H_4SiO_4$ 1.25 mM
   สูตรที่ 3 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $H_4SiO_4$ 2.5 mM
   สูตรที่ 4 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $H_4SiO_4$ 5.0 mM
   สูตรที่ 5 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $H_4SiO_4$ 7.5 mM

สูตรที่ 6 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $H_4SiO_4$ 10.0 mM
สูตรที่ 7 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $CaSiO_3$ 1.25 mM
สูตรที่ 8 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $CaSiO_3$ 2.5 mM
สูตรที่ 9 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $CaSiO_3$ 5.0 mM
สูตรที่ 10 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $CaSiO_3$ 7.5 mM
สูตรที่ 11 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $CaSiO_3$ 10.0 mM

2. นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 25±1°C ความเข้มแสง 35-40 $\mu M.m^{-2}.s^{-1}$ โดยให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 7 วัน
3. ย้ายต้นกล้วยไม้ลงอาหาร VW ที่มีความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) 200 และ 300 มิลลิโมลาร์
4. นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 25±1°C ความเข้มแสง 35-40 $\mu M.m^{-2}.s^{-1}$ โดยให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์
5. สังเกตการณ์เจริญเติบโตของกล้วยไม้
   การบันทึกผลการทดลอง
   1. อัตราการรอดชีวิต
   2. ระยะเวลาการรอดชีวิต
   3. อัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์ (ต้น)
   4. การเจริญเติบโต (ความสูงต้น น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนใบ จำนวนราก)

**การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการให้สารประกอบซิลิคอนก่อนได้รับหรือเมื่อได้รับความเครียดเกลือ (NaCl) ต่อการเติบโตและการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยา**

1. ย้ายต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารสูตร VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร คัดเลือกต้นที่มีการเจริญเติบโตเท่าๆ กัน สูง 0.7-1.0 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.12-0.15 กรัม ลงอาหารที่ส่งเสริมให้ต้นกล้วยไม้มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในการทดลองที่ 2 และ 3
   สูตรที่ 1 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW
   สูตรที่ 2 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM
   สูตรที่ 3 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $H_4SiO_4$ 1.25 mM
   สูตรที่ 4 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + NaCl 200 mM + $CaSiO_3$ 1.25 mM
   สูตรที่ 5 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน
   ก่อนย้ายลงอาหาร VW + NaCl 200 mM
   สูตรที่ 6 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $H_4SiO_4$ 1.25 mM เป็นเวลา 7 วัน
   ก่อนย้ายลงอาหาร VW + NaCl 200 mM
   สูตรที่ 7 ประกอบด้วยอาหารสูตร VW + $CaSiO_3$ 1.25 mM เป็นเวลา 7 วัน
   ก่อนย้ายลงอาหาร VW + NaCl 200 mM
2. นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 25±1°C ความเข้มแสง 35-40 $\mu M.m^{-2}.s^{-1}$ โดยให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์

3. วิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการ ดังต่อไปนี้

**การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน (Proline)**

ทำการวิเคราะห์ปริมาณโพรลีนด้วยวิธีการซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Bates et al. (1973) ซึ่งมีวิธีโดยย่อดังนี้ เก็บตัวอย่างกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์ภายใต้สภาวะความเค็ม 0.125 กรัม บดด้วย 3% sulfosalicylic acid 2.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 g ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายส่วนใสมาทดสอบหาปริมาณสารสำคัญ โดยการนำตัวอย่างกล้วยไม้ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติม Acid-ninhydrin และ glacial acetic acid 2 มิลลิลิตร ลงในสารละลายที่กรองแล้ว เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นให้ความร้อนแก่สารละลายที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาในอ่างน้ำแข็งที่ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติม Toluene 3 มิลลิลิตร ลงใน reaction mixture เขย่า 15-20 วินาที จากนั้นนำสารละลายส่วนบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV นำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายโพรลีนมาตรฐาน (proline) โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ คำนวณปริมาณโพรลีนในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้ ซึ่งมีหน่วยเป็น mg/g FW

**การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total soluble sugar)**

ทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมดด้วยวิธีการซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Roberts & Martin, (1959) ซึ่งมีวิธีโดยย่อดังนี้ เก็บตัวอย่างกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์ภายใต้สภาวะความเค็ม 0.125 กรัม บดด้วยน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 g ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทดสอบหาปริมาณสารสำคัญ โดยการนำตัวอย่างกล้วยไม้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับ 5% phenol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ sulfuric acid 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV นำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (glucose) โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ คำนวณปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมดในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้ ซึ่งมีหน่วยเป็น mg/g FW

**การวิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde (MDA)**

ทำการวิเคราะห์ปริมาณ MDA ด้วยวิธี MDA-TBA ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Vyncke (1970) และ Heath & Packer (1968) ซึ่งมีวิธีโดยย่อดังนี้ เก็บตัวอย่างกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์ภายใต้สภาวะความเค็ม 0.3 กรัม บดด้วย 5% TCA 1.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,000 g ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทดสอบหาปริมาณสารสำคัญ โดยการนำตัวอย่างกล้วยไม้ 1 มิลลิลิตร ผสมกับ 0.5% TBA 3 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หยุดปฏิกิริยาในอ่างน้ำแข็งที่ 0 องศาเซลเซียส แล้ว

นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,000 g ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV นำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย MDA โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ คำนวณปริมาณ MDA ในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้ ซึ่งมีหน่วยเป็น mg/g FW

**การวัดค่าการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte leakage, EL)**

ทำการวิเคราะห์การรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ด้วยวิธีการซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Mao et al. (2007) ซึ่งมีวิธีโดยย่อดังนี้ เก็บตัวอย่างกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์ภายใต้สภาวะความเค็ม 1 กรัม ตัดชิ้นส่วนตัวอย่างให้มีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร เติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการนำไฟฟ้า (electrolyte conductivity: $EC_1$) ด้วยเครื่อง conductivity meter หลังจากนั้นนำตัวอย่างไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปวัดค่าการนำไฟฟ้า ($EC_2$) โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ คำนวณค่าการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ด้วยวิธีของ Dionisio-Sese and Tobita (1998) จากสมการ EL (%) = $(EC_1/EC_2)*100$

**การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD)**

ทำการสกัดปริมาณโปรตีนทั้งหมด (total protein) โดยการนำตัวอย่างกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์ภายใต้สภาวะความเค็ม 0.2 กรัม บดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ phosphate buffer (pH 7.0) 1 มิลลิลิตร ที่มี polyvinylpyrrolidone 1% (w/v) ที่ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,000 g ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทดสอบหาปริมาณสารสำคัญ

ทำการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ SOD โดยวัดประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยา photochemical reduction ของ nitro blue tetrazolium (NBT) ด้วยวิธีการซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Dhindsa et al. (1981) ซึ่งมีวิธีโดยย่อดังนี้ เตรียม reaction mixture ที่ประกอบไปด้วย phosphate buffer (pH 7.8) 50 มิลลิโมลาร์ methionine 13 มิลลิโมลาร์ NBT 75 ไมโครโมลาร์ riboflavin 2 ไมโครโมลาร์ EDTA 0.1 มิลลิโมลาร์ และสารละลายส่วนใสจากสารสกัด โดยเติม riboflavin เป็นตัวสุดท้าย เขย่าให้เข้ากัน เริ่มปฏิกิริยาโดยการนำไปส่องด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ 15 วัตต์ 2 หลอด ห่างกัน 30 เซนติเมตร เป็นเวลา 10 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยการปิดไฟแล้วคลุมหลอดด้วยผ้าสีดำ จากนั้นนำสารละลายสีน้ำเงินไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV นำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของเอนไซม์ SOD โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ คำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในรูปยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ซึ่งมีหน่วยเป็น unit/mg Protein

**การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase (CAT)**

ทำการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ CAT ด้วยวิธีการซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Aebi (1974) และ Jemec et al. (2007) ซึ่งมีวิธีโดยย่อดังนี้ นำสารละลายส่วนใสของสารสกัดโปรตีนจากกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์ภายใต้สภาวะความเค็ม ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย phosphate buffer (pH 7.0) 50 มิลลิโมลาร์ จากนั้นเติมสารละลาย $H_2O_2$ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร ในโหมด time scan เป็นเวลา 4 นาที โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV light path (b) 1 เซนติเมตร นำค่าความแตกต่างของการดูดกลืนแสงมาคำนวณโมลของ $H_2O_2$ ที่ถูกใช้ไปในการทำปฏิกิริยา (c) จากสมการ $c = \Delta A240\ (nm)/\varepsilon b$ โดยกำหนดค่า Extinction coefficient, $\varepsilon$ = 43.6 โมล$^{-1}$ เซนติเมตร$^{-1}$ หน่วยเป็นโมลต่อลิตร คำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์ CAT ในรูปไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อนาที ซึ่งมีหน่วยเป็น µmol/mg Protein/min จากสมการ CAT activity = c/time (min)*mg Protein

**การวิเคราะห์ทางสถิติ**

ใช้โปรแกรม SPSS โดยใช้สถิติแบบ one way anova เพื่อหาค่าความแตกต่างของกลุ่มทดลองเปรียบเทียบกับควบคุม และเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มโดยใช้ Duncan's multiple rang test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

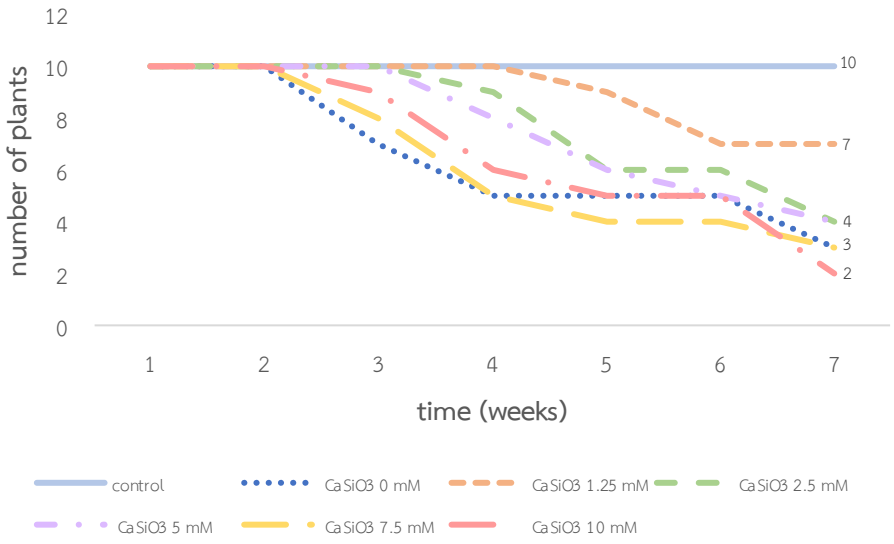
มหาวิทยาลัยศิลปากร

# บทที่ 4

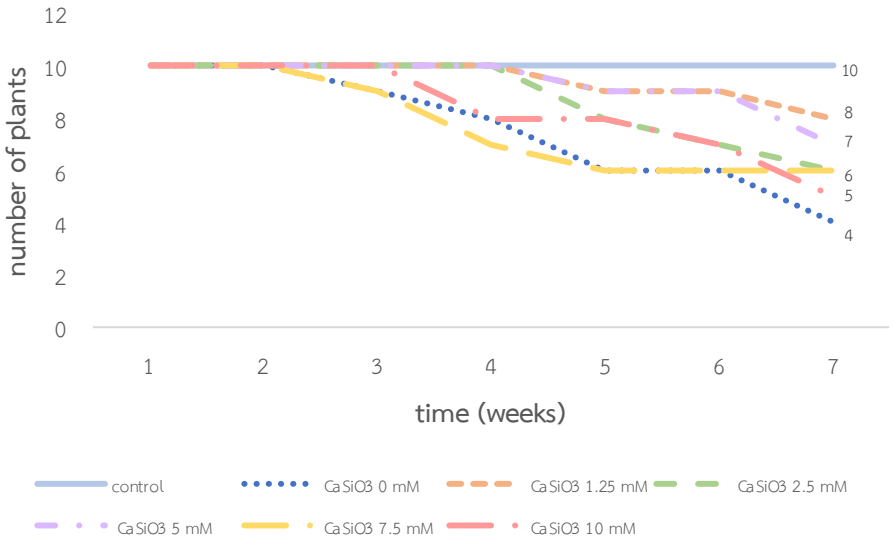
## ผลการทดลอง

### 4.1 ผลของ $CaSiO_3$ ต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเมื่อได้รับเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์

จากการทดสอบผลของ $CaSiO_3$ ต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงร่วมกับสภาวะเครียดเมื่อได้รับเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับ $CaSiO_3$ มีจำนวนลดลงเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ และมีจำนวนลดลงอย่างต่อเนื่อง ทำให้เหลือต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตเพียง 3 ต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ มีระยะเวลาการรอดชีวิตและจำนวนต้นที่รอดชีวิตสูงกว่าต้นที่ไม่ได้รับสารดังกล่าว หรือได้รับในระดับความเข้มข้นอื่น โดยเริ่มมีจำนวนลดลงในสัปดาห์ที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง และมีจำนวนต้นรอดชีวิตสูงถึง 7 ต้น ในสัปดาห์ที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ เริ่มมีจำนวนลดลงในสัปดาห์ที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง และมีจำนวนการรอดชีวิต 4 ต้น เท่ากันทั้ง 2 ความเข้มข้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ แต่เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับ $CaSiO_3$ ในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือ 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ พบว่าต้นกล้วยไม้มีจำนวนลดลงในสัปดาห์ที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง และมีจำนวนต้นที่รอดชีวิตต่ำเพียง 3 และ 2 ต้น ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ (รูปที่ 3)




**รูปที่ 3** จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์




**รูปที่ 4** จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์

ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบการลดลงในกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสารดังกล่าวมีจำนวนลดลงในสัปดาห์ที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25, 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ มีจำนวนลดลงเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง และมีจำนวนต้นที่รอดชีวิต 8, 6 และ 7 ต้น จาก 10 ต้น ตามลำดับในสัปดาห์ที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีจำนวนลดลงเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 4 ของการเพาะเลี้ยงและมีจำนวนรอดชีวิต 6 ต้น และ 5 ต้น จาก 10 ต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ (รูปที่ 4)

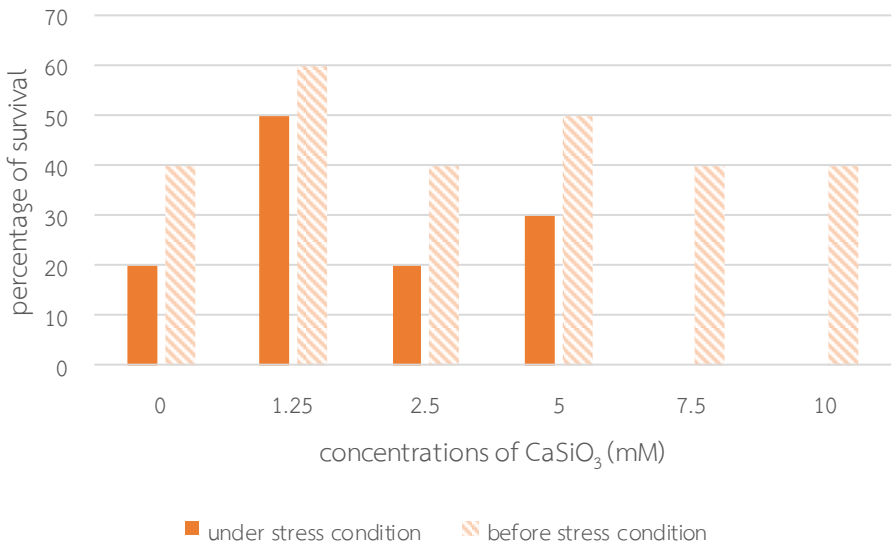
จากการเปรียบเทียบอัตราการลดลงของต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับ $CaSiO_3$ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยสูงถึง 1.18 และ 1.04 ต้นต่อสัปดาห์ หรือมีอัตราการตายสูงถึง 70 และ 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยต่ำกว่าคือ 0.57 ต้นต่อสัปดาห์ มีร้อยละอัตราการตาย 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ $CaSiO_3$ แก่ต้นกล้วยไม้พร้อมกับได้รับความเครียดเกลือ และมีอัตราการลดลงเฉลี่ย 0.32 ต้นต่อสัปดาห์ มีร้อยละอัตราการตายเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ $CaSiO_3$ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับความเครียดเกลือ ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ เมื่อได้รับ $CaSiO_3$ พร้อมกับได้รับความเครียดเกลือ ได้แก่ 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 1.07 และ 1.14 ต้นต่อสัปดาห์ตามลำดับ โดยมีอัตราการตายเป็น 60 เปอร์เซ็นต์เท่ากันในทั้งสองความเข้มข้น ส่วนต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น

7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยสูงถึง 1.32 และ 1.36 ต้นต่อสัปดาห์ หรือมีอัตราการตาย 70 และ 80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนการให้ $CaSiO_3$ แก่ต้นกล้วยไม้ก่อนเป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับความเครียดเกลือ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ $CaSiO_3$ 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยเป็น 0.71, 0.43, 0.82 และ 0.88 ต้นต่อสัปดาห์ หรือมีอัตราการตายเป็น 40, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

**ตารางที่ 2** อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์

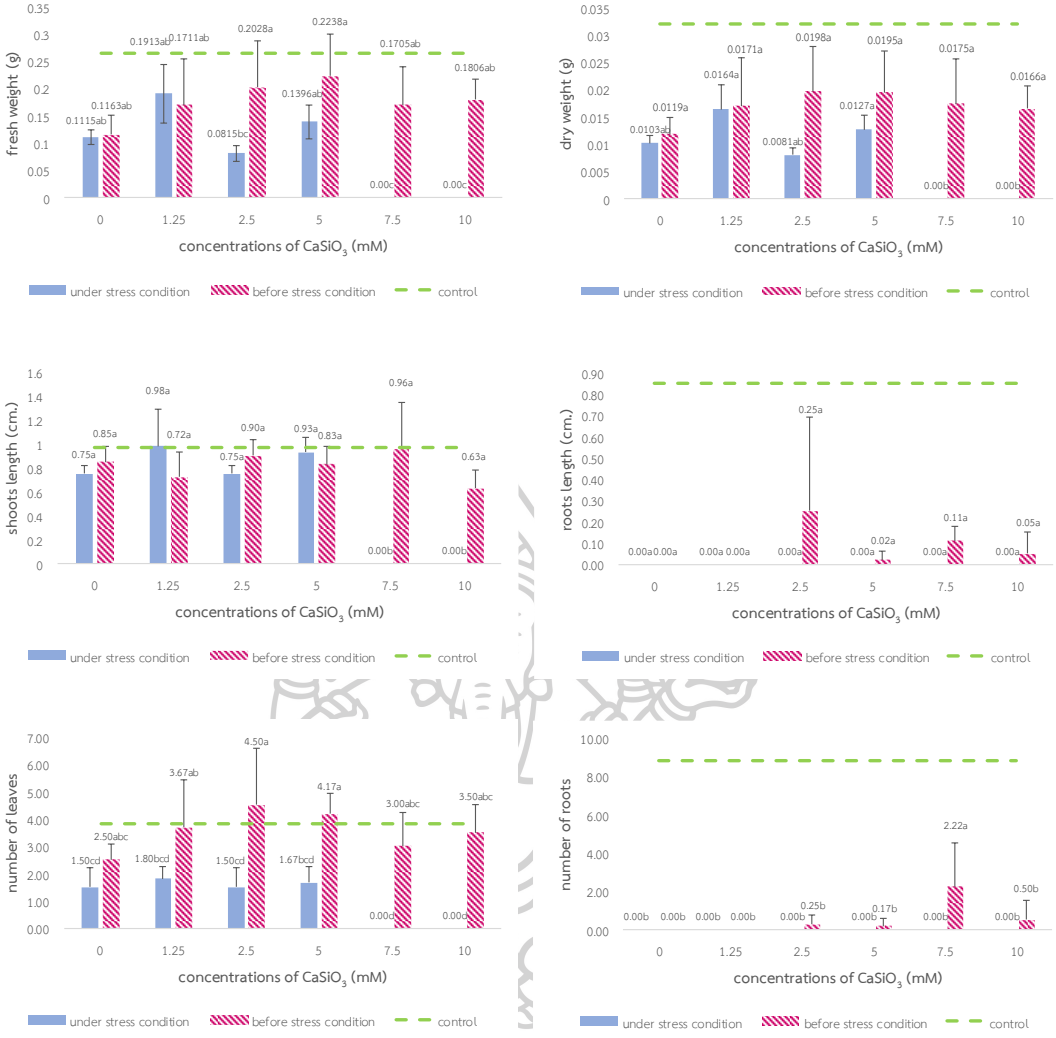
| **ความเข้มข้นของ $CaSiO_3$ (มิลลิโมลาร์)** | **อัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์** | | **อัตราการตายของต้นกล้วยไม้ (เปอร์เซ็นต์)** | |
|---|---|---|---|---|
| | **ใส่สารพร้อมเกลือ** | **ใส่สารก่อนเกลือ** | **ใส่สารพร้อมเกลือ** | **ใส่สารก่อนเกลือ** |
| ชุดควบคุม | 0 | | 0 | |
| 0 | 1.18 | 1.04 | 70 | 60 |
| 1.25 | 0.57 | 0.32 | 30 | 20 |
| 2.5 | 1.07 | 0.71 | 60 | 40 |
| 5 | 1.14 | 0.43 | 60 | 30 |
| 7.5 | 1.32 | 0.82 | 70 | 40 |
| 10 | 1.36 | 0.88 | 80 | 50 |

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิตเพียง 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ และมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดถึง 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ และมีอัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ แก่ต้นกล้วยไม้พร้อมเกลือ NaCl ส่วนการให้ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ แก่ต้นกล้วยไม้พร้อมกับการได้รับสภาวะเครียดเกลือ มีอัตราการรอดชีวิต 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นขอ $CaSiO_3$ เป็น 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ให้แก่ต้นกล้วยไม้พร้อมกับได้รับสภาวะเครียดเกลือ ไม่พบการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้ เมื่อให้ $CaSiO_3$ แก่ต้นกล้วยไม้เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเกลือ NaCl พบว่าต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ 5 มิลลิโมลาร์ มีการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราการรอดชีวิต 40 เปอร์เซ็นต์ ในต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5, 7.5, และ 10 มิลลิโมลาร์ (รูปที่ 5)

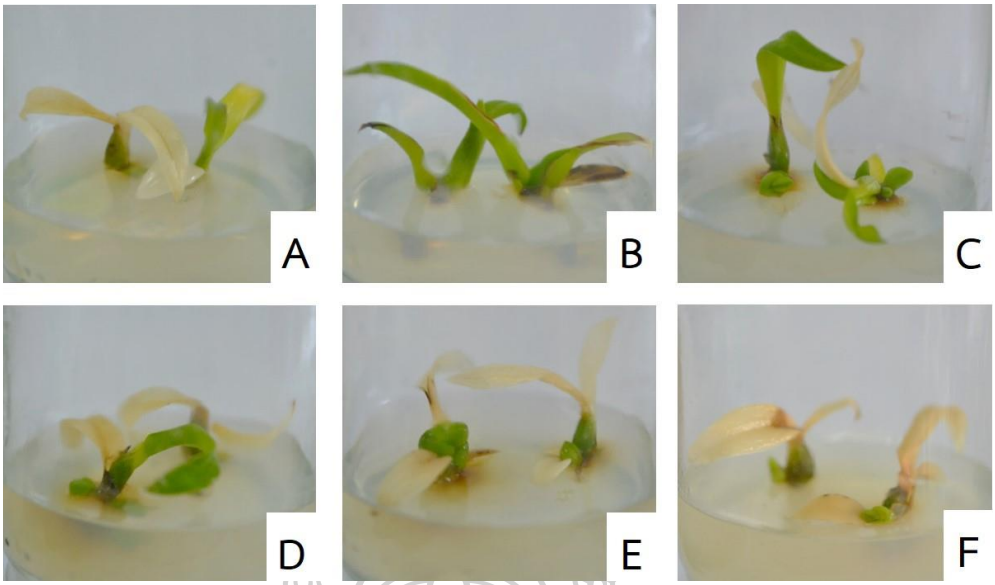



**รูปที่ 5** อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

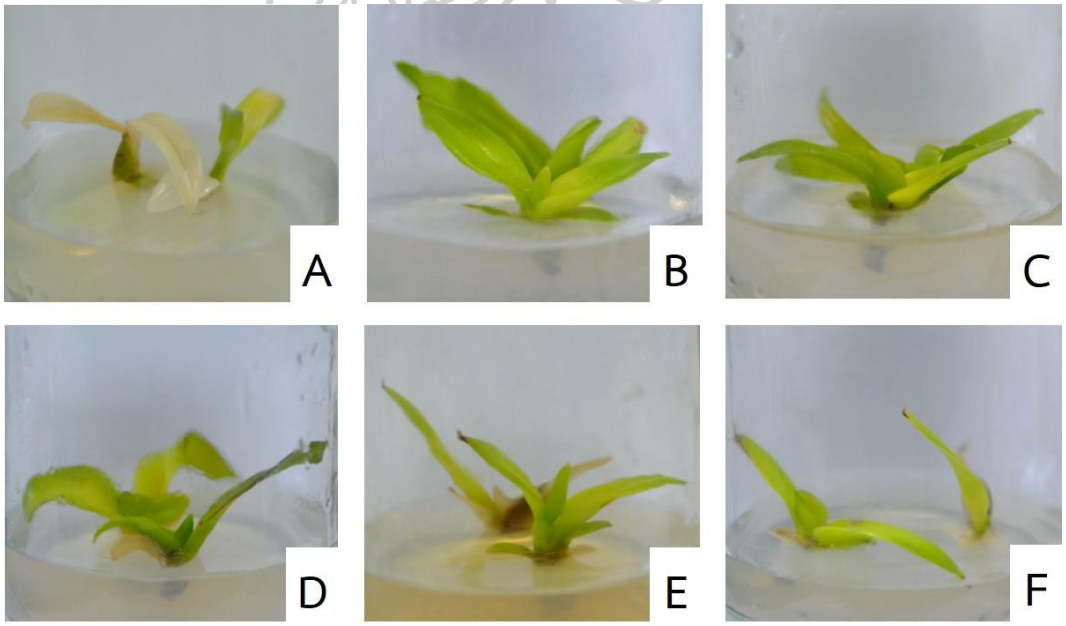
การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1.25, 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ คือ 0.1115, 0.1913, 0.0815 และ 0.1396 กรัมตามลำดับ และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0103, 0.0164, 0.0081 และ 0.0127 กรัมตามลำดับ ส่วนการเจริญเติบโตอื่นๆ ทั้งความสูงต้นเฉลี่ย คือ 0.75, 0.98, 0.75 และ 0.93 เซนติเมตรตามลำดับ และจำนวนใบเฉลี่ย 1.50, 1.80, 1.50 และ 1.67 ใบตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบการเจริญของรากทั้งความยาวและจำนวนราก ส่วนต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ พบว่ามีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.1163, 0.1711, 0.2028, 0.2238, 0.1705 และ 0.1806 กรัมตามลำดับ น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0119, 0.0171, 0.0198, 0.0195, 0.0175 และ 0.0166 กรัมตามลำดับ ความสูงต้นเฉลี่ย 0.85, 0.72, 0.90, 0.83, 0.96 และ 0.63 เซนติเมตรตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ย 2.50, 3.67, 4.50, 4.17, 3.00 และ 3.50 ใบตามลำดับ ในขณะที่พบการเจริญของรากเพียงในต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจาก NaCl 200 มิลลิโมลาร์ โดยพบความยาวรากเฉลี่ย 0.25, 0.02, 0.11 และ 0.05 เซนติเมตรตามลำดับ และจำนวนรากเฉลี่ย 0.25, 0.17, 2.22 และ 0.50 รากตามลำดับ (รูปที่ 6)




**รูปที่ 6** การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c และ d หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05



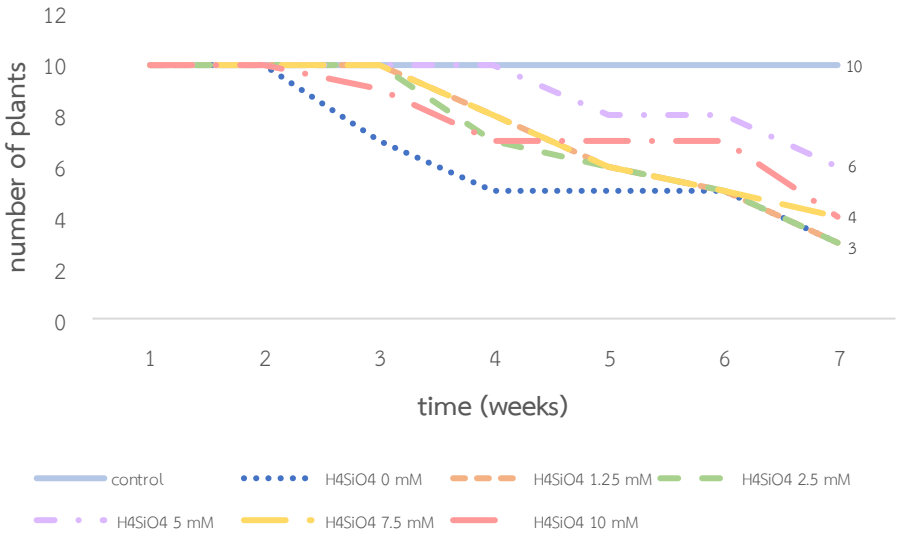

**รูปที่ 7** กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์




**รูปที่ 8** กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

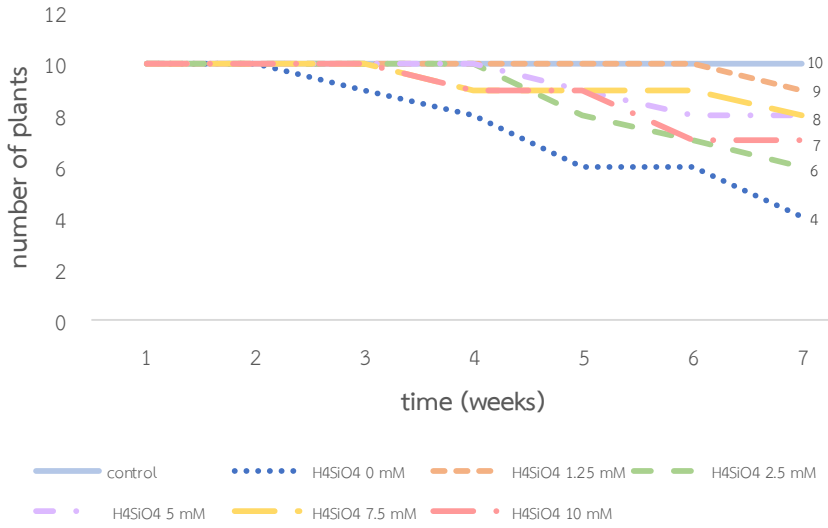
**4.2 ผลของ $H_4SiO_4$ ต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเมื่อได้รับเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์**

การทดสอบ $H_4SiO_4$ ต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือ NaCl เริ่มมีจำนวนลดลงเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง แต่เมื่อให้ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ พบว่าต้นกล้วยไม้มีจำนวนลดลงเมื่อเข้าสู่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25, 2.5 และ 7.5 มิลลิโมลาร์ เริ่มมีจำนวนลดลงเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง ในขณะที่ต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ มีจำนวนลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง (รูปที่ 9)




**รูปที่ 9** จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์

ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสารดังกล่าวมีจำนวนลดลงในสัปดาห์ที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ มีจำนวนลดลงเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงและมีจำนวนรอดชีวิต 9 ต้น จาก 10 ต้น ในสัปดาห์ที่ 7 ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ มีจำนวนลดลงเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง และมีจำนวนต้นที่รอดชีวิต 6 และ 8 ต้น จาก 10 ต้นตามลำดับในสัปดาห์ที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีจำนวนลดลงเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 4 ของการเพาะเลี้ยงและมีจำนวนรอดชีวิต 8 ต้น และ 7 ต้น จาก 10 ต้นตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ (รูปที่ 10)




**รูปที่ 10** จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์

ซึ่งในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลง 0.64 ต้นต่อสัปดาห์ และอัตราการตาย 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับ $H_4SiO_4$ หรือได้รับสารดังกล่าวที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ย 1.14 และ 0.93 ต้นต่อสัปดาห์ตามลำดับ และมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากันคือ 60 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 และ 2.5 มีอัตราการลดลงเฉลี่ยสูงสุดคือ 1.25 ต้นต่อสัปดาห์ ซึ่งมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่มีอัตราการลดลงเฉลี่ยเป็น 1.18 ต้นต่อสัปดาห์ และมีอัตราการตายเท่ากันคือ 70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดที่เกิดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีอัตราการลดลง และอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับ $H_4SiO_4$ ซึ่งมีอัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้สูงถึง 1.04 ต้นต่อสัปดาห์ และมีอัตราการตาย 60 เปอร์เซ็นต์ โดยต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยและอัตราการตายต่ำสุดคือ 0.11 ต้นต่อสัปดาห์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยชะลอการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ได้สูงสุดถึง 6 สัปดาห์ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 7.5 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยเป็น 0.39 และ 0.32 ต้นต่อสัปดาห์ตามลำดับ โดยมีอัตราการตายเท่ากันคือ 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ย 0.57 ต้นต่อสัปดาห์ อัตราการตายเป็น 30 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ย 0.71 ต้นต่อสัปดาห์ อัตราการตาย 40 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ $H_4SiO_4$ ที่ระดับ

ความเข้มข้นต่างๆ ยังช่วยชะลอการลดลงของต้นกล้วยไม้ได้นานกว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับ $H_4SiO_4$ เมื่อได้รับสภาวะเครียดที่เกิดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ (ตารางที่ 9; รูปที่ 10)

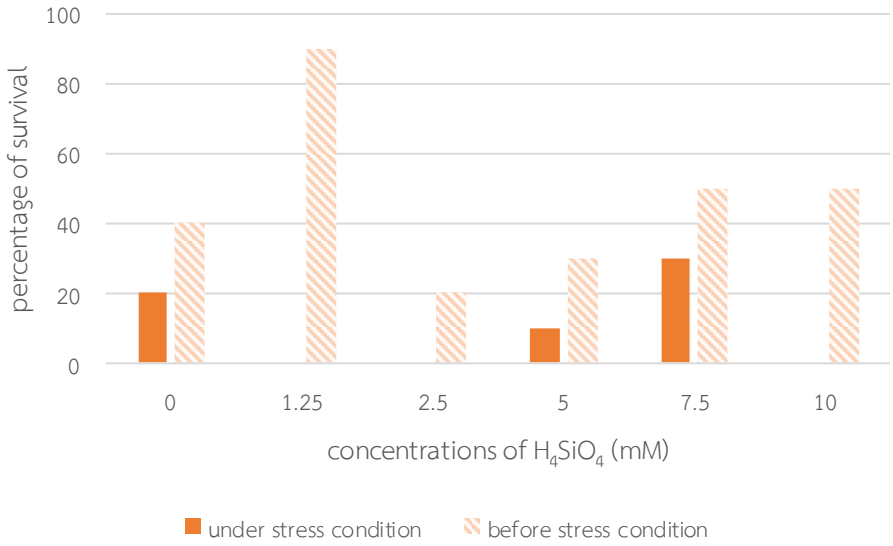
**ตารางที่ 3** อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์

| **ความเข้มข้นของ $H_4SiO_4$ (มิลลิโมลาร์)** | **อัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์** | | **อัตราการตายของต้นกล้วยไม้ (เปอร์เซ็นต์)** | |
|---|---|---|---|---|
| | **ใส่สารพร้อมเกลือ** | **ใส่สารก่อนเกลือ** | **ใส่สารพร้อมเกลือ** | **ใส่สารก่อนเกลือ** |
| ชุดควบคุม | 0 | | 0 | |
| 0 | 1.18 | 1.04 | 70 | 60 |
| 1.25 | 1.25 | 0.11 | 70 | 10 |
| 2.5 | 1.25 | 0.71 | 70 | 40 |
| 5 | 0.64 | 0.39 | 40 | 20 |
| 7.5 | 1.14 | 0.32 | 60 | 20 |
| 10 | 0.93 | 0.57 | 60 | 30 |

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนที่จะได้รับความเครียดจากเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดคือ 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าต้นที่ไม่ได้รับ $H_4SiO_4$ หรือต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการรอดชีวิต 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีอัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ ในต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ส่วนในต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ พร้อมกับการได้รับความเครียดจาก NaCl มีเพียงต้นที่ได้รับกรดซิลิซิคที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 7.5 มิลลิโมลาร์ เท่านั้นที่สามารถรอดชีวิตจนถึง 10 สัปดาห์ ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิต 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 11)

การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 0 5 และ 7.5 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ คือ 0.1115, 0.1602 และ 0.0982 กรัมตามลำดับ และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0103 ,0.0106 และ 0.0093 กรัมตามลำดับ ส่วนการเจริญเติบโตอื่นๆ ทั้งความสูงต้นเฉลี่ยคือ 0.75, 1.00 และ 1.00 เซนติเมตรตามลำดับ และจำนวนใบเฉลี่ย 1.50, 1.00 และ 2.00 ใบตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบการเจริญของรากทั้งความยาวและจำนวนราก ส่วนต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 0 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ พบว่ามีน้ำหนัก

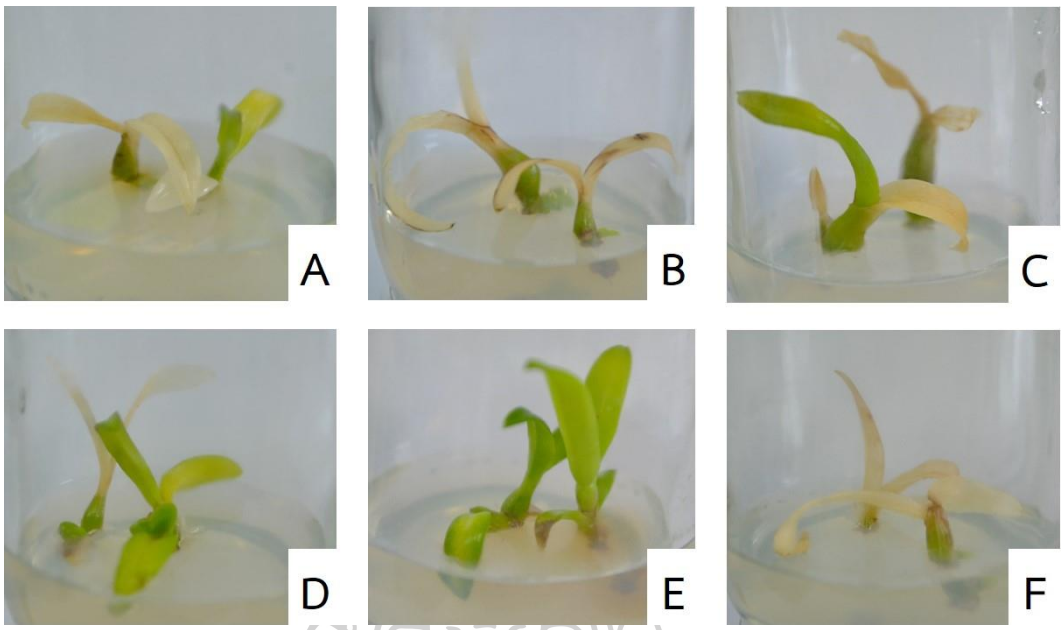
สดเฉลี่ย 0.1163, 0.1746, 0.1464, 0.1489 และ 0.1840 กรัมตามลำดับ น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0119, 0.0155, 0.0145, 0.0146, 0.0123 และ 0.0101 กรัมตามลำดับ ความสูงต้นเฉลี่ย 0.85, 0.87, 0.70, 0.77, 0.84 และ 0.86 เซนติเมตรตามลำดับ ความยาวรากเฉลี่ย 0.10, 0.12, 0.12, 0.16 และ 0.12 เซนติเมตรตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ย 2.50, 3.22, 3.00, 3.00, 2.40 และ 4.60 ใบตามลำดับ จำนวนรากเฉลี่ย 1.89, 4.00, 2.33, 2.00 และ 0.80 รากตามลำดับ (รูปที่ 12)



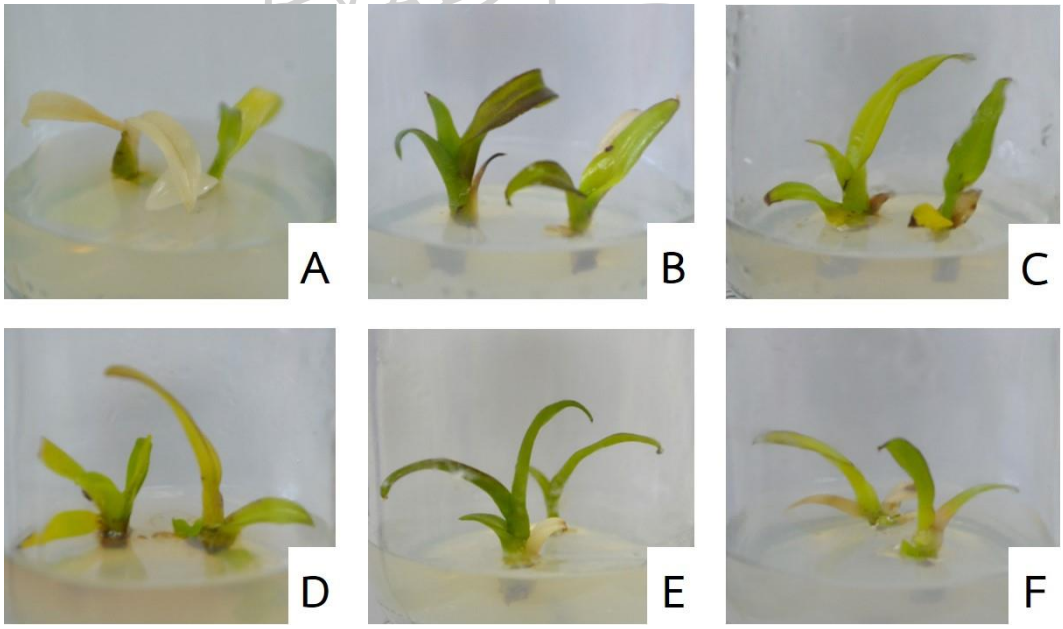

**รูปที่ 11** อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 90 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 11) และยังพบการเจริญของรากทั้งความยาวและจำนวนรากได้ในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ทุกระดับความเข้มข้น เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ (รูปที่ 12)

**รูปที่ 12** การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c และ d หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05



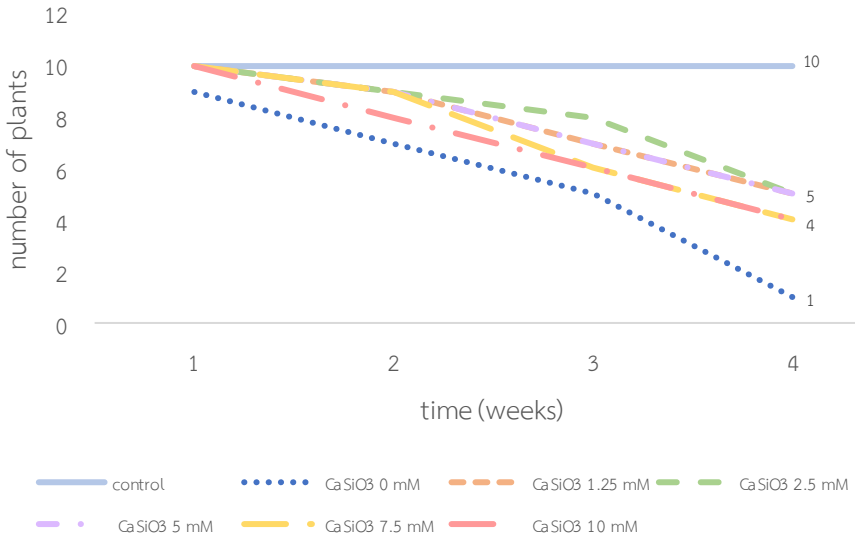

**รูปที่ 13** กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์




**รูปที่ 14** กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือNaCl ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

**4.3 ผลของ $CaSiO_3$ ต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเมื่อได้รับเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์**

จากการทดสอบการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเมื่อได้รับเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ พบว่าทำให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการตายมากกว่า 50% เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้มีอัตราการลดลงเฉลี่ยสูงสุดถึง 2.60 ต้นต่อสัปดาห์ หรือมีอัตราการตายสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนรอดชีวิตต่ำสุดเพียง 1 ต้น จาก 10 ต้น เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับความเครียดที่เกิดจากเกลือ NaCl หรือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะเครียดที่เกิดจากเกลือ NaClความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ซึ่งมีอัตราการลดลงเฉลี่ยต่ำกว่า คือ 1.70, 1.60, 1.70, 2.10 และ 2.00 ต้นต่อสัปดาห์ตามลำดับ หรือมีร้อยละอัตราการตายลดลงจากการได้รับความเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่างเดียว 30 ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ และยังพบจำนวนการรอดชีวิตเพิ่มสูงขึ้นเป็น 4 ถึง 5 ต้น เมื่อได้รับ $CaSiO_3$ (ตารางที่ 4; รูปที่ 15)

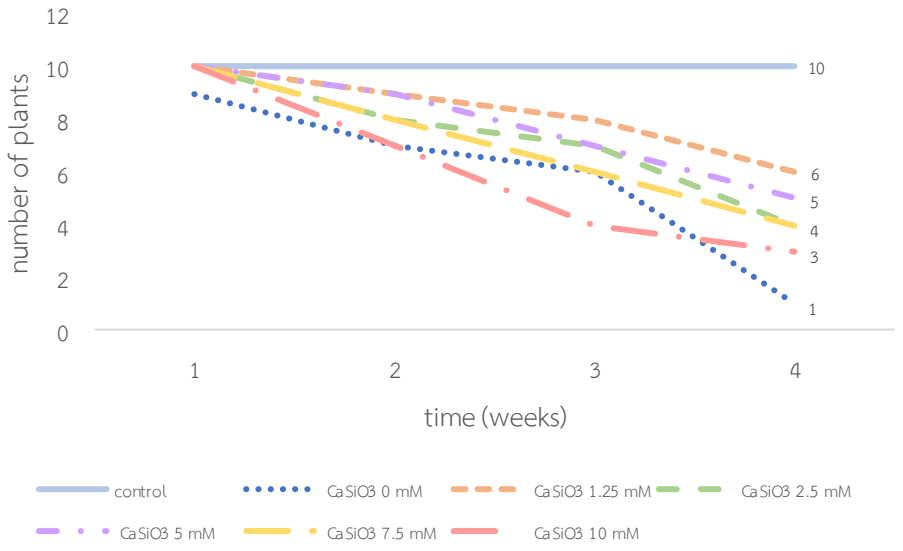



**รูปที่ 15** จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เมื่อเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 10 สัปดาห์ พบอัตราการรอดชีวิตในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสภาวะความเครียดที่เกิดจากเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 และ 2.5 เพียง 20 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับ $CaSiO_3$ 5 มิลลิโมลาร์ (รูปที่ 17) โดยไม่พบการเจริญของรากในต้นที่รอดชีวิต (รูปที่ 18) ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสารดังกล่าว หรือได้รับในระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไป คือ 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ไม่พบการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้เลย (รูปที่ 17)

**ตารางที่ 4** อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

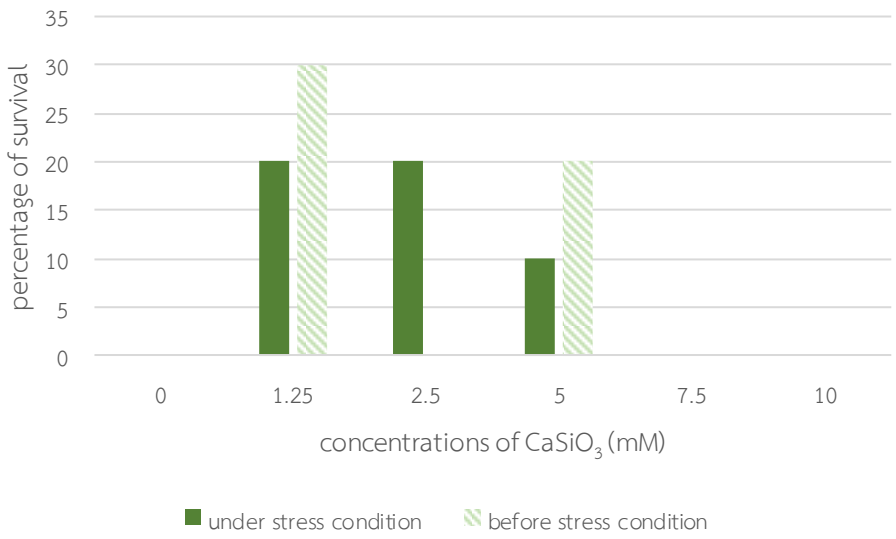
| ความเข้มข้นของ $CaSiO_3$ (มิลลิโมลาร์) | อัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์ | | อัตราการตายของต้นกล้วยไม้ (เปอร์เซ็นต์) | |
|---|---|---|---|---|
| | ใส่สารพร้อมเกลือ | ใส่สารก่อนเกลือ | ใส่สารพร้อมเกลือ | ใส่สารก่อนเกลือ |
| ชุดควบคุม | 0 | | 0 | |
| 0 | 2.60 | 2.50 | 90 | 90 |
| 1.25 | 1.70 | 1.30 | 50 | 40 |
| 2.5 | 1.60 | 1.90 | 50 | 60 |
| 5 | 1.70 | 1.70 | 50 | 50 |
| 7.5 | 2.10 | 2.00 | 60 | 60 |
| 10 | 2.00 | 2.40 | 60 | 70 |



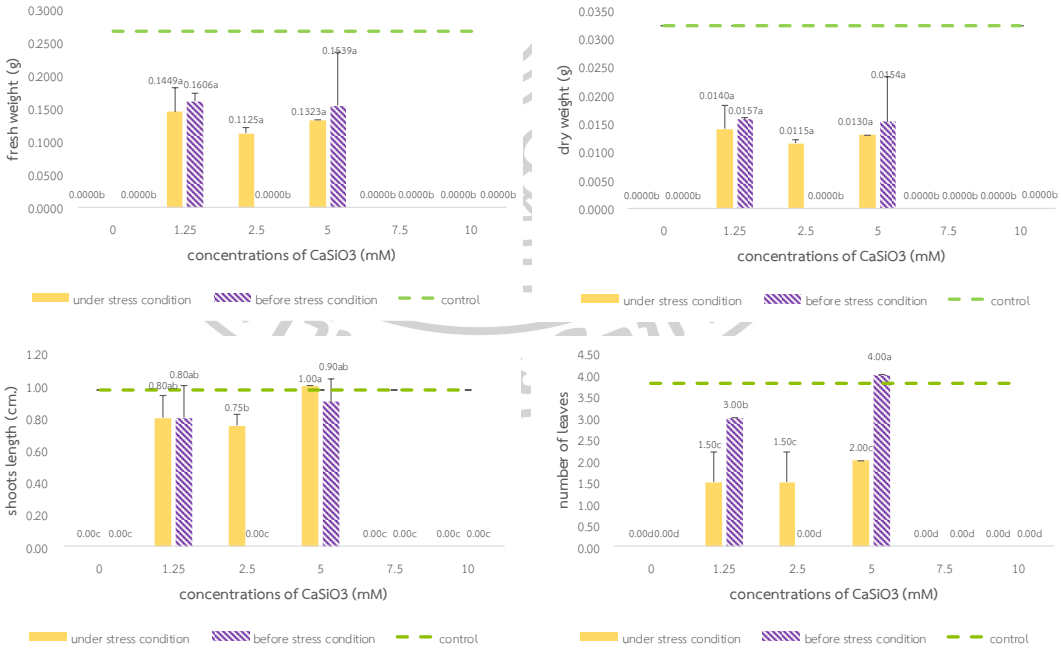

**รูปที่ 16** จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เช่นเดียวกับการเลี้ยงต้นกล้วยไม้ในอาหาร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนจะได้รับสภาวะเครียดที่เกิดจากเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการลดลงเฉลี่ยสูงถึง 2.50 ต้นต่อสัปดาห์ มีอัตราการตายสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ก่อนได้รับสภาวะเครียดที่เกิดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ พบอัตราการลดลง และอัตราการตายต่ำกว่าการไม่ได้รับสารดังกล่าว โดยเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ พบอัตราการลดลงเฉลี่ยต่ำสุด 1.30 ต้นต่อสัปดาห์ หรือมีอัตราการตายของต้นกล้วยไม้เพียง 40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4; รูปที่ 16) จากนั้นเมื่อได้รับสภาวะเครียดที่เกิดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่ามีการเจริญของต้นกล้วยไม้ในต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ในบางความเข้มข้น โดยมีการรอดชีวิต 30 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 และ 5 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ แต่ไม่พบการเจริญของรากในต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิต (รูปที่ 17; รูปที่ 18)

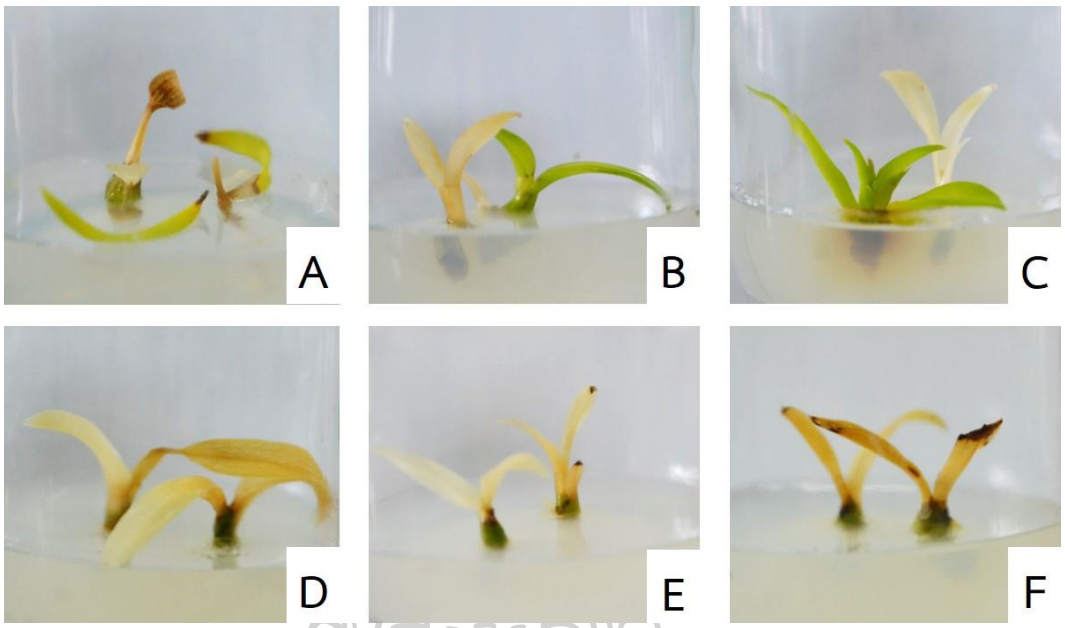
การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25, 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ คือ 0.1449, 0.1125 และ 0.1323 กรัมตามลำดับ และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0140, 0.0115 และ 0.0130 กรัมตามลำดับ ส่วนการเจริญเติบโตอื่นๆ ทั้งความสูงต้นเฉลี่ยคือ 0.80, 0.75 และ 1.00 เซนติเมตรตามลำดับ และจำนวนใบเฉลี่ย 1.50, 1.50 และ 2.00 ใบตามลำดับ ส่วนต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 และ 5 มิลลิโมลาร์ ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ พบว่ามีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.1606 และ 0.1539 กรัมตามลำดับ น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0157 และ 0.0154 กรัมตามลำดับ ความสูงต้นเฉลี่ย 0.80 และ 0.90 เซนติเมตรตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ย 3.00 และ 4.00 ใบตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบการเจริญของรากทั้งความยาวและจำนวนรากจากการให้สารทั้งสองวิธี (รูปที่ 18)



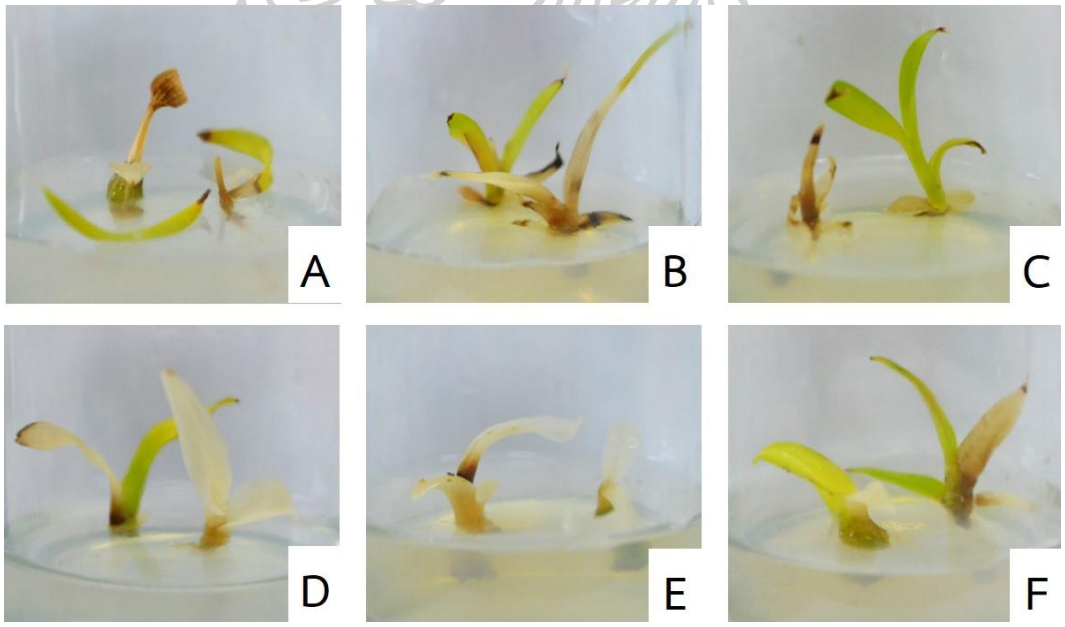

**รูปที่ 17** อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์




**รูปที่ 18** การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c และ d หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05




**รูปที่ 19** กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์



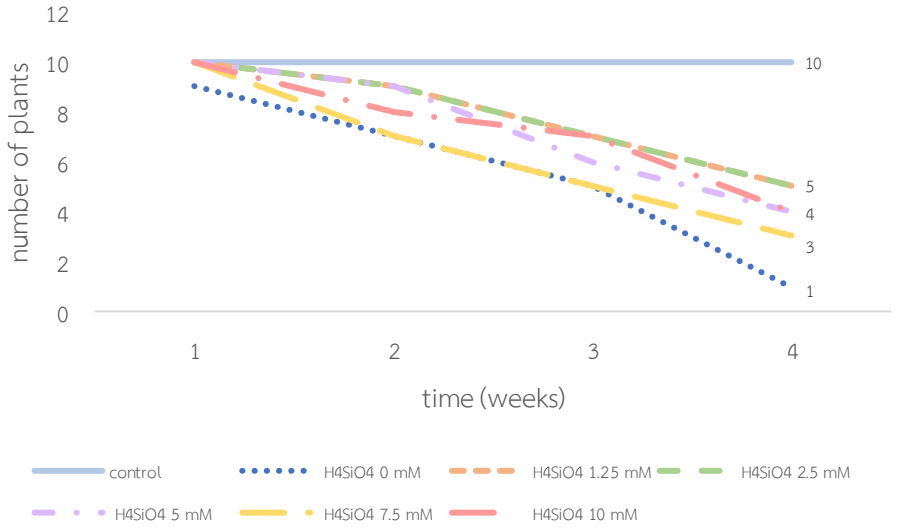

**รูปที่ 20** กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $CaSiO_3$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

**4.4 ผลของ $H_4SiO_4$ ต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเมื่อได้รับเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์**

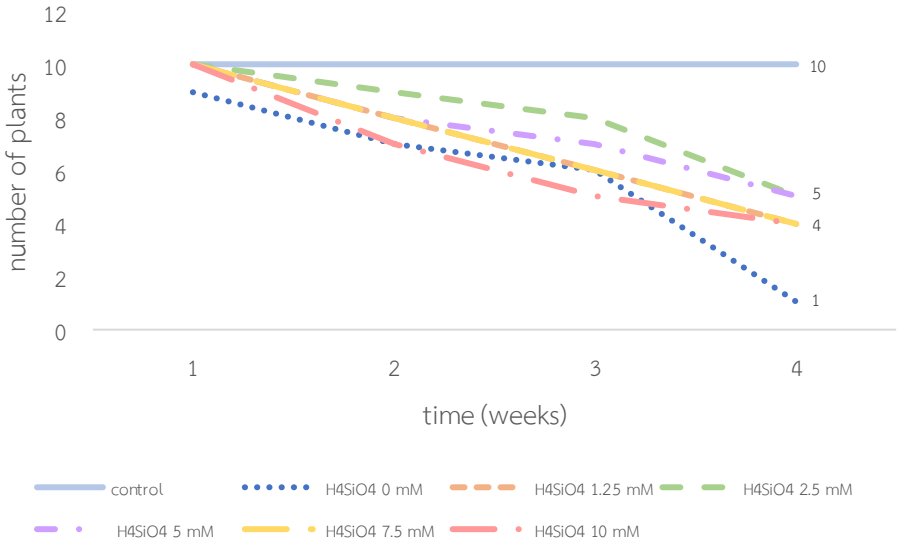
การให้ $H_4SiO_4$ แก่ต้นกล้วยไม้ร่วมกับการได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ต่ำกว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสารดังกล่าว ซึ่งมีอัตราการลดลงเฉลี่ยเป็น 1.70, 1.70, 2.10, 2.30 และ 1.90 ต้นต่อสัปดาห์ ตามลำดับ ซึ่งการให้ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 และ 2.5 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการลดลงต่ำสุดคือ 1.70 ต้นต่อสัปดาห์ ซึ่งมีอัตราการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิต 5 ต้น จาก 10 ต้น (ตารางที่ 5; รูปที่ 21) แต่เมื่อเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 10 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25, 5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิต 20 เปอร์เซ็นต์ โดยพบการเจริญในส่วนของลำต้นและใบ แต่ไม่พบการเจริญในส่วนของราก ในขณะที่ของต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับ $H_4SiO_4$ หรือได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ ไม่พบการรอดชีวิต (รูปที่ 23; รูปที่ 24)

เช่นเดียวกับต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารดังกล่าวทุกความเข้มข้นมีอัตราการลดลง และอัตราการตายต่ำกว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสภาวะความเครียดที่เกิดจากเกลือเพียงอย่างเดียว โดยที่ระดับความเข้มข้น 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงต่ำสุด 1.60 ต้นต่อสัปดาห์ และมีอัตราการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าต้นที่ได้รับสภาวะความเครียดที่เกิดจากเกลือ NaCl เพียงอย่างเดียวถึง 40 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้ 5 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น (ตารางที่ 5; รูปที่ 22) และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 10 สัปดาห์ พบการเจริญของต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิต 20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยไม่พบการเจริญของราก (รูปที่ 23; รูปที่ 24)

การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ คือ 0.0896, 0.1270 และ 0.2022 กรัมตามลำดับ และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0090, 0.0125 และ 0.0197 กรัมตามลำดับ ส่วนการเจริญเติบโตอื่นๆ ทั้งความสูงต้นเฉลี่ยคือ 0.75, 1.05 และ 1.10 เซนติเมตรตามลำดับ และจำนวนใบเฉลี่ย 1.50, 2.00 และ 2.00 ใบตามลำดับ ส่วนต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ พบว่ามีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.2186 และ 0.2922 กรัมตามลำดับ น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0226 และ 0.0266 กรัมตามลำดับ ความสูงต้นเฉลี่ย 0.90 และ 0.70 เซนติเมตรตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ย 3.00 และ 3.00 ใบตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบการเจริญของรากทั้งความยาวและจำนวนรากจากการให้สารทั้งสองวิธี (รูปที่ 24)



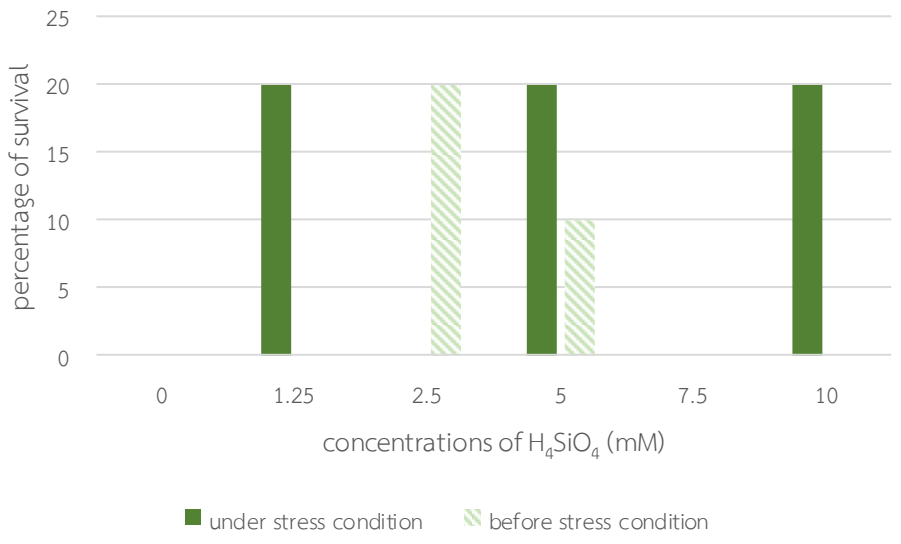

**รูปที่ 21** จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



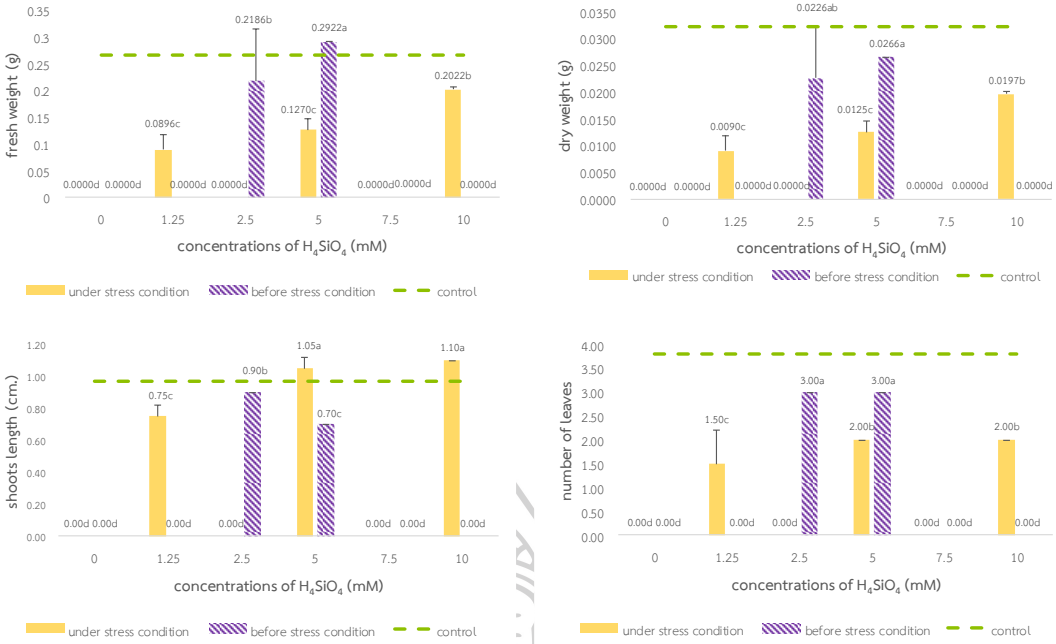

**รูปที่ 22** จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

**ตารางที่ 5** อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

| **ความเข้มข้นของ $H_4SiO_4$ (มิลลิโมลาร์)** | **อัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ ต่อสัปดาห์** | | **อัตราการตายของต้นกล้วยไม้ (เปอร์เซ็นต์)** | |
|---|---|---|---|---|
| | **ใส่สารพร้อมเกลือ** | **ใส่สารก่อนเกลือ** | **ใส่สารพร้อมเกลือ** | **ใส่สารก่อนเกลือ** |
| ชุดควบคุม | 0 | | 0 | |
| 0 | 2.60 | 2.50 | 90 | 90 |
| 1.25 | 1.70 | 2.00 | 50 | 60 |
| 2.5 | 1.70 | 1.60 | 50 | 50 |
| 5 | 2.10 | 1.60 | 60 | 50 |
| 7.5 | 2.30 | 2.00 | 70 | 60 |
| 10 | 1.90 | 2.00 | 60 | 60 |

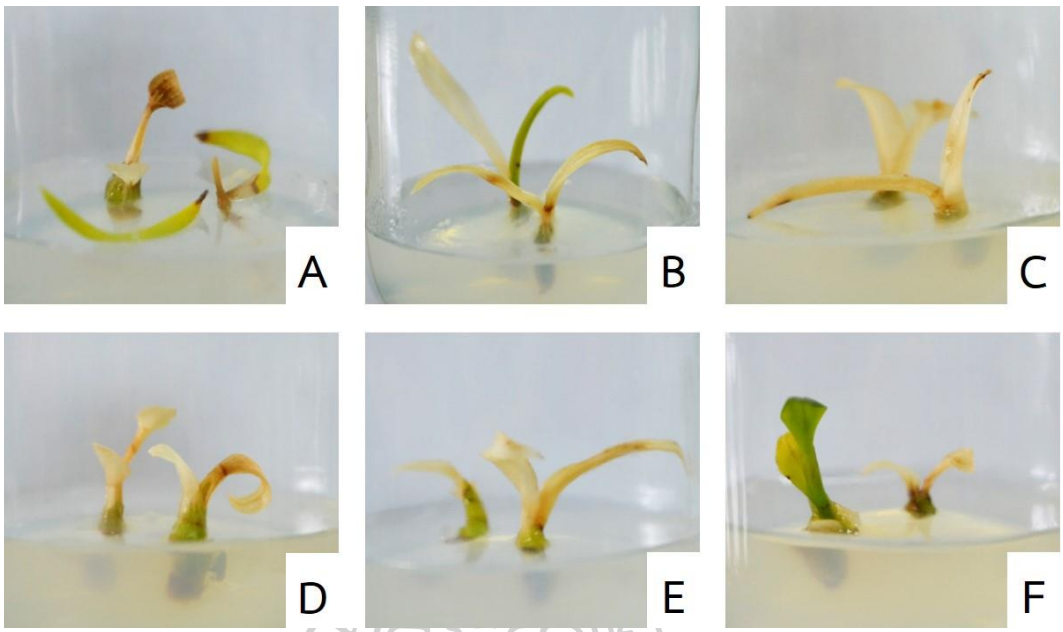



**รูปที่ 23** อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

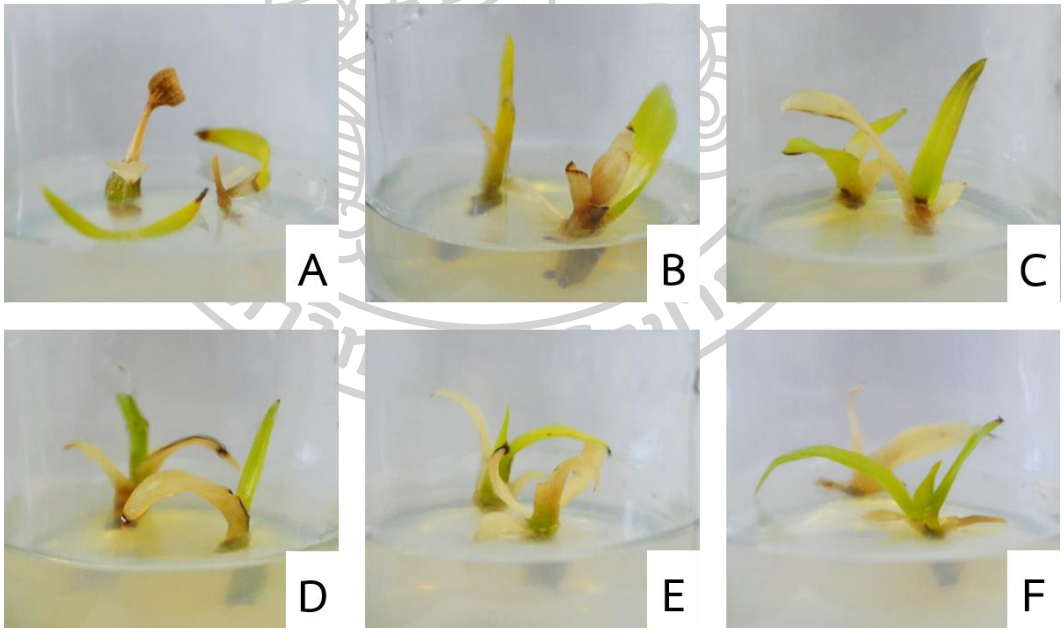



**รูปที่ 24** การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c และ d หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05

มหาวิทยาลัยศิลปากร




**รูปที่ 25** กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์



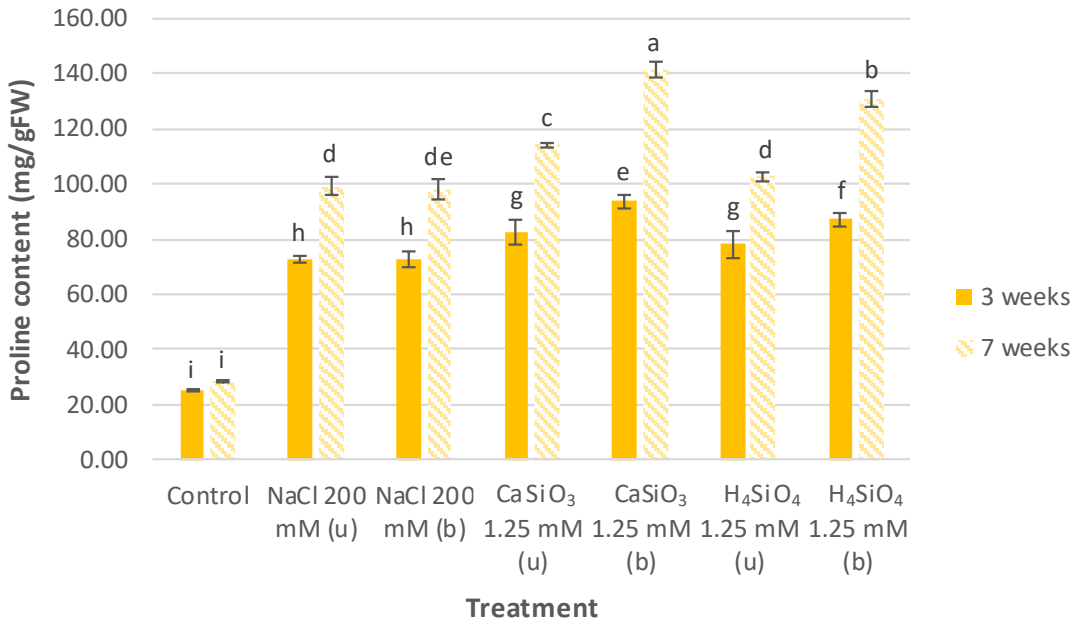

**รูปที่ 26** กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงเมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

**4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโพรลีนเมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ**

เมื่อทดสอบปริมาณโพรลีนในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีปริมาณโพรลีนสะสม 25.32 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีการสะสมปริมาณโพรลีน 72.95 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงต่อบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีปริมาณโพรลีนสะสม 72.47 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด แต่เมื่อต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารประกอบซิลิคอนพบปริมาณโพรลีนสะสมในต้นกล้วยไม้มากที่สุดคือ 93.77 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ในต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วันก่อนย้ายไปเลี้ยงต่อบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ รองลงคือต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีปริมาณโพรลีนสะสม 87.14 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ส่วนต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณโพรลีนสะสม 82.28 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณโพรลีนสะสม 78.06 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (รูปที่ 27)

ต้นกล้วยไม้เมื่อได้รับความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณโพรลีนเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยพบว่าต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณโพรลีนสะสม 99.32 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณโพรลีนสะสม 98.03 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ส่วนในต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณโพรลีนสะสม 114.17 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ พบปริมาณโพรลีนสะสม141.68 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณโพรลีนสะสม 102.70 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบน

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณโพรลีนสะสม 130.79 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW (ชุดควบคุม) มีปริมาณโพรลีนสะสม 28.43 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (รูปที่ 27)




**รูปที่ 27** ปริมาณโพรลีนเมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h และ i หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05

u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

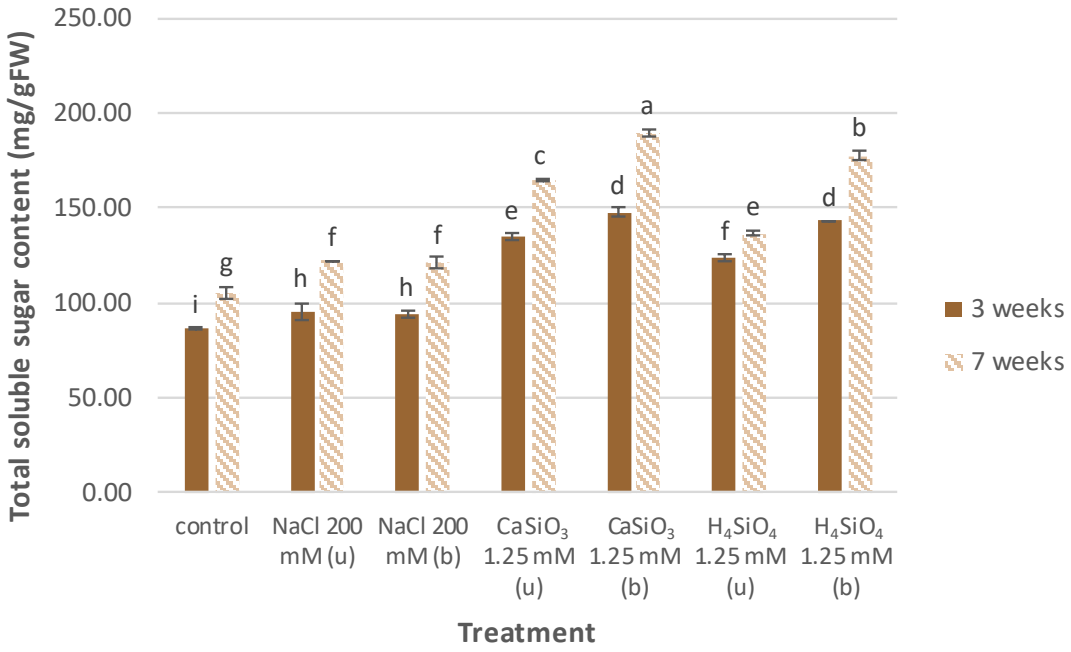
b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

**4.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ**

เมื่อทดสอบปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าในต้นกล้วยไม้มีการสะสมปริมาณน้ำตาลที่แตกต่างกัน ในต้นที่ได้รับสารประกอบซิลิกอนทั้ง 2 ชนิดในทุก ๆ วิธีมีปริมาณน้ำตาลสะสมสูงกว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเครียดเกลือโดยไม่ได้รับสารดังกล่าว ซึ่งพบน้ำตาลสะสมสูงสุด 147.52 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ในต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ รองลงมาคือต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 143.09 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 123.30 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 134.51 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหาร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีปริมาณน้ำตาลสะสม 86.47 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ส่วนต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 95.10 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงต่อในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 93.81 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (รูปที่ 28)

เมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ต่อจนถึงสัปดาห์ที่ 7 พบการสะสมน้ำตาลเพิ่มขึ้นในทุกๆ ทรีตเมนต์ ในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีปริมาณน้ำตาลสะสม 105.26 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ส่วนต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหาร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 122.10 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 121.19 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ในขณะต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 189.81 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 177.84 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นที่เลี้ยงบนเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW

ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 164.78 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลสะสม 136.49 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (รูปที่ 28)




**รูปที่ 28** ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h และ i หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05

u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

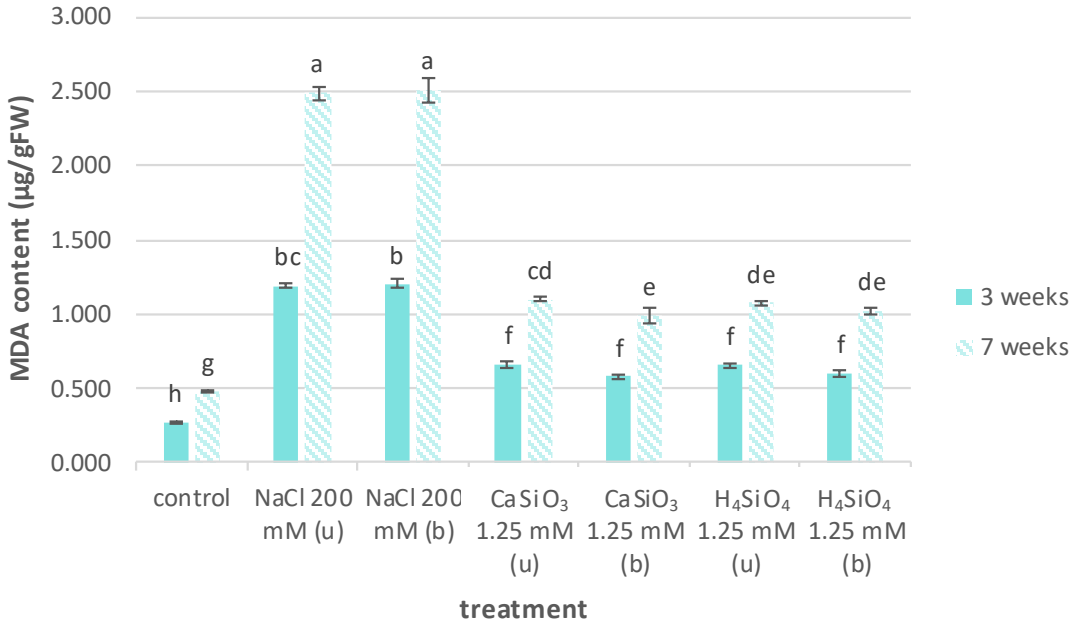
b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

**4.7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde เมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ**

จากการทดสอบปริมาณ MDA ในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่ามีการสะสมปริมาณ MDA แตกต่างกัน ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีปริมาณ MDA 0.276 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ส่วนต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีปริมาณ MDA 1.203 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณ MDA 1.191 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ในขณะต้นที่ได้รับสารประกอบซิลิกอนมีปริมาณ MDA ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับความเครียดเกลือแต่ไม่ได้รับสารดังกล่าว ในต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณ MDA 0.665 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีปริมาณ MDA 0.578 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณ MDA 0.653 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีปริมาณ MDA 0.602 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด (รูปที่ 29)

ต้นกล้วยไม้มีปริมาณ MDA เพิ่มมากขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ โดยพบว่าต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีปริมาณ MDA 0.482 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ส่วนต้นที่ได้รับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ พบปริมาณ MDA 2.486 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณ MDA 2.512 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ส่วนในต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณ MDA 1.102 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นที่ได้รับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณ MDA 0.991 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณ MDA 1.074 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหาร

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณ MDA 1.023 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด (รูปที่ 29)




**รูปที่ 29** ปริมาณ MDA เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, และ h หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05

u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

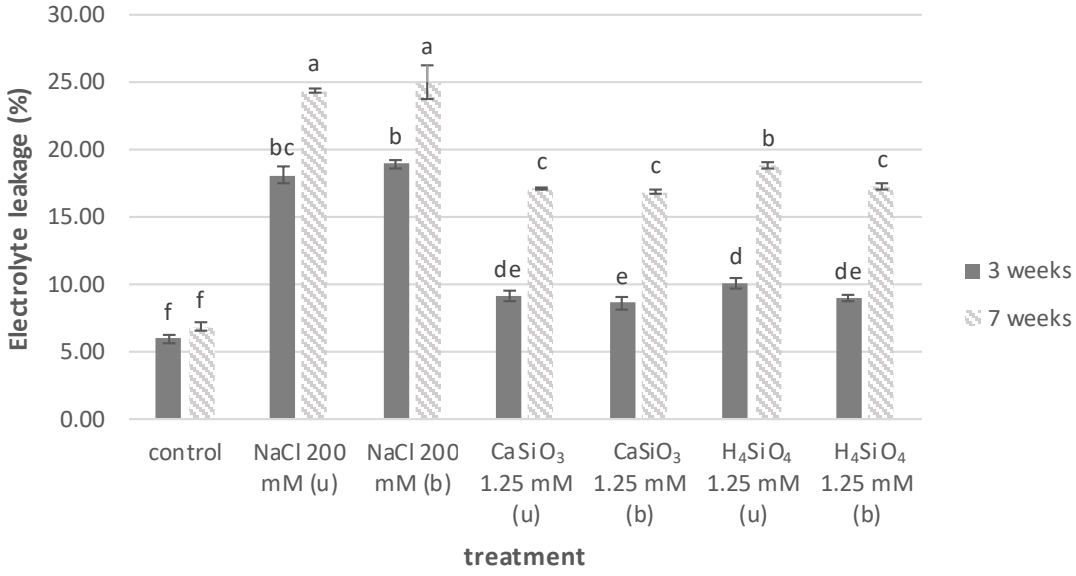
b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

**4.8 ผลการวิเคราะห์ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์เมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ**

การทดสอบปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์พบว่าในทรีตเมนต์ที่ได้รับความเครียดเกลือมีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์สูงกว่าต้นที่ไม่ได้รับความเครียดเกลืออย่างมีนัยสำคัญเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 และ 7 สัปดาห์ โดยเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์มากที่สุดคือ 18.97% รองลงมาคือต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 18.14 ส่วนต้นที่ได้รับสารประกอบซิลิกอนพบปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์น้อยกว่าต้นที่ได้รับความเครียดเกลือเพียงอย่างเดียว ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 9.12% และต้นที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 8.61% ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 10.08% และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปลงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 8.98% ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์เพียง 5.93% (รูปที่ 30)

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์หลังการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบการรั่วไหลของปริมาณอิเล็กโทรไลต์ 24.37% ในต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 24.98% ส่วนในต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 17.09% และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 16.83% ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 18.81% และต้นกล้วยไม้ที่ได้รับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร

VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 17.29% ในขณะที่ต้นที่ได้รับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 6.83% (รูปที่ 30)




**รูปที่ 30** ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, และ f หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05

u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

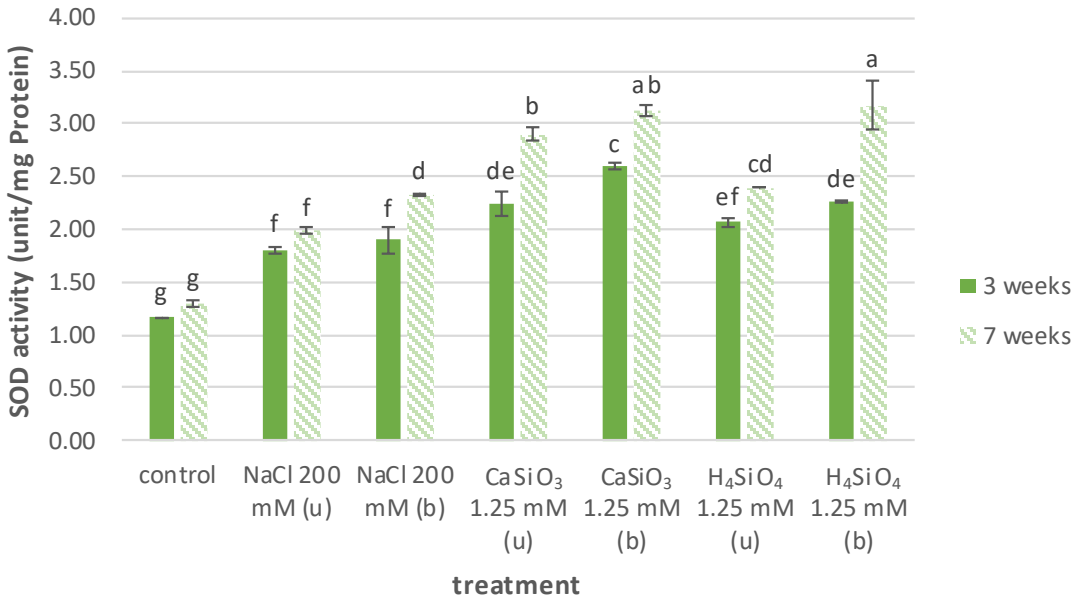
b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

**4.9 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase เมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ**

เมื่อทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 1.16 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ในขณะต้นที่ได้รับความเครียดเกลือพบกิจกรรมของเอนไซม์ SOD เพิ่มสูงขึ้นเป็น 1.81 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ในต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงอหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 1.90 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 2.25 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 2.59 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้ความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 2.07 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 2.26 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน (รูปที่ 31)

หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 1.30 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ส่วนต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ พบกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 1.99 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 2.33 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ในขณะต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลารี มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 2.90 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 3.12 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 2.40 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงอาหาร

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD 3.17 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน (รูปที่ 31)




**รูปที่ 31** กิจกรรมของเอนไซม์ SOD เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f และ g หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05

u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

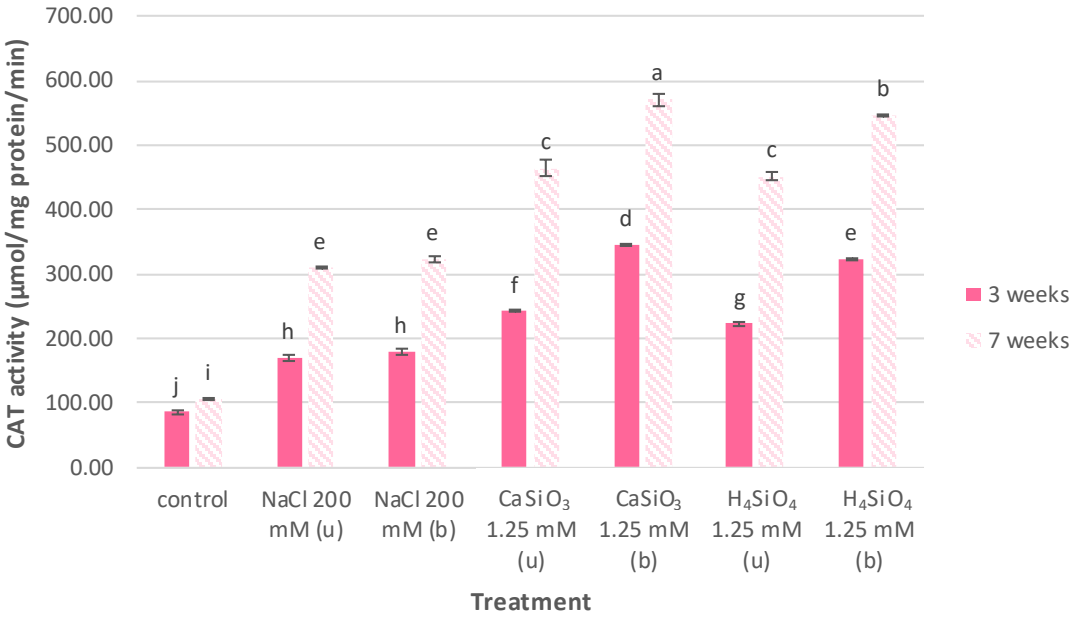
มหาวิทยาลัยศิลปากร

**4.10 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase เมื่อต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงได้รับความเครียดเกลือ**

เมื่อทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT ในต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 86 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ในขณะต้นที่ได้รับความเครียดเกลือพบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT เพิ่มสูงขึ้นเป็น 170.72 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ในต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยวเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 179.26 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ส่วนในต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 241.78 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 344.91 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ในต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 222.71 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 324.08 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที (รูปที่ 32)

หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 107.03 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยวเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ พบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 308.95 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 324.16 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ในขณะต้นต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 463.49 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 570.29 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ในต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มี

กิจกรรมของเอนไซม์ CAT 451.81 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที และต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ $H_4SiO_4$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร VW ร่วมกับ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 546.11 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที (รูปที่ 32)




**รูปที่ 32** กิจกรรมของเอนไซม์ CAT ต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h, i และ j หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha$= 0.05
u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม
b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

# บทที่ 5

# อภิปรายและสรุปผล

## 5.1 ผลของ $CaSiO_3$ ต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความเค็ม

ความเค็มทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในพืชอย่างเด่นชัด ความเข้มข้นของเกลือที่มากเกินไปส่งผลให้มีแรงดันออสโมติก (osmotic potential) ในสิ่งแวดล้อมเพิ่มมากขึ้น ทำให้พืชสะสม $Na^+$ และ $Cl^-$ เพิ่มขึ้นเป็นผลของการขาดน้ำในพืช การให้สารประกอบซิลิคอนแก่พืชส่งผลให้ประสิทธิภาพการทนต่อสภาวะความเครียดจากขาดน้ำและความเค็มเพิ่มสูงขึ้น (Kim et al., 2014; Sahebi et al., 2015; Shi et al., 2014; Xie et al., 2015; Yin et al., 2016) สารประกอบซิลิคอนในรูป $CaSiO_3$ จัดอยู่ในรูปของซิลิคอนที่นิยมนำมาใช้ในการเกษตร ซึ่งมีการใช้ประโยชน์ในหลายๆ ขั้นตอนของการผลิตพืช เช่น การให้ $CaSiO_3$ ในวัสดุปลูกของต้นกล้าเมล่อน เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและการปรับตัวของต้นกล้าเมล่อน (สุรชัย พิริยวิรุฒม์ และคณะ, 2558) การให้ $CaSiO_3$ 1 กรัม/ลิตร ร่วมกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแก่ต้นกล้วย ส่งเสริมให้ต้นกล้วยมีประสิทธิภาพในการปรับตัวในสภาวะที่เปลี่ยนแปลงสูงสุดเมื่อนำออกมาปลูกในสภาวะปกติ (Asmar et al., 2013) และการเคลือบเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วย $CaSiO_3$ 2 กรัม/ลิตร ร่วมกับการให้ซิลิคอนทางดินที่อัตรา 5-10 กิโลกรัม/ไร่ ส่งผลให้ต้นกล้าของต้นข้าวโพดมีน้ำหนักแห้งและความสูงต้นสูงที่สุด (พงศกร นิตย์มี และคณะ, 2558)

จากผลการทดลองเมื่อให้ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ แก่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเครียดเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $CaSiO_3$ 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นระยะเวลา 7 วันก่อนได้รับความเครียดเกลือที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ ส่งเสริมให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนการรอดชีวิตมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ (รูปที่ 4) และส่งผลให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์และอัตราการตายต่ำสุด (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังทำให้มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 10 สัปดาห์ (รูปที่ 5) เป็นผลมาจากการได้รับซิลิคอนในระดับความเข้มข้นและวิธีการให้สารที่เหมาะสมช่วยส่งเสริมกลไกที่สำคัญของพืชในการทนต่อสภาวะความเครียดเนื่องจากความเค็ม คือการลดการดูดซึมและการสะสม $Na^+$ ทำให้อัตราส่วนระหว่าง $K^+/Na^+$ เพิ่มขึ้น (Abbas et al., 2015; M. Ashraf et al., 2009; D. Chen et al., 2014; Garg & Bhandari, 2016; Tuna et al., 2008) ความเค็มไม่เพียงแต่จำกัดปริมาณ $K^+$ ในพืชเท่านั้น แต่ยังทำให้เกิดการเสียสมดุลแร่ธาตุในพืช (Gupta & Huang, 2014) ซึ่งการให้ซิลิคอนจะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการทนเค็มของพืชด้วยการเพิ่มการดูดซึมและเคลื่อนย้ายแร่ธาตุเข้าสู่พืชมากขึ้น ทำให้เกิดสมดุลแร่ธาตุภายในเซลล์ เป็นผลให้พืชสามารถเจริญเติบโตภายใต้สภาวะความเค็มได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Li et al. (2015) ศึกษาต้นมะเขือเทศที่ได้รับสารประกอบซิลิคอนในรูปของ sand culture ภายใต้

สภาวะความเค็มที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 150 มิลลิโมลาร์ พบว่ามีปริมาณ $Ca^{2+}$ และ $Mg^{2+}$ สะสมในใบและรากเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้การรอดชีวิตของต้นมะเขือเทศสูงขึ้น

แต่ในสภาวะที่มีค่าความเค็มหรือความเข้มข้นของเกลือ NaCl มากเกินไป (300 มิลลิโมลาร์) การให้ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ไม่ช่วยให้ต้นกล้วยไม้เจริญเติบโตได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

**5.2 ผลของ $H_4SiO_4$ ต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความเค็ม**

$H_4SiO_4$ จัดเป็นซิลิคอนในรูปที่พืชสามารถดูดซึมไปใช้ได้ที่สภาวะมีค่า pH ต่ำกว่า 9 (Casey et al., 2004; Epstein, 1994; Sommer et al., 2006) ซึ่งพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิดที่ได้รับซิลิคอนสามารถทนต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากความเค็มได้มากขึ้น (Rizwan et al., 2015) ความเค็มเป็นสาเหตุหนึ่งของการชักนำให้เกิดการขาดน้ำในพืชและยังส่งผลกระทบต่อกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ทำให้พืชชะงักหรือมีการเจริญเติบโตลดลง

จากผลการทดลองเมื่อให้ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ แก่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเครียดเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ มีจำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ (รูปที่ 10) ในขณะที่อัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์และอัตราการตายของกล้วยไม้ที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ส่วนใหญ่มีแนวโน้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับ $H_4SiO_4$ ซึ่งต้นกล้วยไม้ที่มีอัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์และอัตราการตายต่ำสุดคือต้นที่ได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วันก่อนได้รับเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ยังมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 10 สัปดาห์ (รูปที่ 11) เนื่องจากซิลิคอนมีคุณสมบัติในการส่งเสริมให้เกิดการเจริญเติบโตของพืช การเพิ่มปริมาณผลผลิต จากการส่งเสริมประสิทธิภาพในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในพืชหลายชนิดภายใต้สภาวะความเค็ม (Abdalla, 2011; Garg & Bhandari, 2016) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นกระเจี๊ยบเขียว (okra) ในสภาวะความเค็ม Abbas et al. (2015) พบว่าการให้ $H_4SiO_4$ 150 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยการฉีดพ่นทางใบช่วยลดการสะสม $Na^+$ และ $Cl^-$ ในส่วนของรากและลำต้น อีกทั้งยังช่วยเพิ่มปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (relative water content) ในพืช ทำให้กระเจี๊ยบเขียวมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มมากขึ้น และเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของต้นกระเจี๊ยบเขียวในสภาวะความเค็ม

แต่ในขณะที่สภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือ NaCl มากเกินไป (300 มิลลิโมลาร์) การให้ $H_4SiO_4$ ในความเข้มข้นต่างๆ ไม่สามารถช่วยให้ต้นกล้วยไม้เจริญเติบโตได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

**5.4 ผลของ $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์โซเนียโจแดงภายใต้สภาวะความเครียดเนื่องจากความเค็ม**

ภายใต้สภาวะความเครียดเนื่องจากความเค็ม สาร compatible solutes หรือ osmoprotectants ถูกสังเคราะห์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ขนาดเล็ก มีมวลโมเลกุลต่ำ เช่น โพรลีน (proline) ไกลซีน เบทาอีน (glycine betaine) และน้ำตาล (soluble sugar) ซึ่งจะถูกสะสมในไซโทพลาสซึม (cytoplasm) เพื่อต่อต้านแรงดันออสโมติกจากสิ่งแวดล้อมภายนอก และทำให้ความเข้มข้นของสารละลายภายในเซลล์สูง ลดการสูญเสียน้ำออกนอกเซลล์และเพิ่มการดูดซึมน้ำและแร่ธาตุที่จำเป็น ส่งผลให้เกิดการขยายขนาดของเซลล์และสามารถควบคุมกระบวนการทางสรีรวิทยาและชีวเคมีเพื่อส่งเสริมให้พืชทนต่อสภาวะความเค็ม (Fahad et al., 2015; นวรัตน์ อุดมประเสริฐ, 2558)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณโพรลีนและน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมดที่สะสมในต้นกล้วยไม้ในสภาวะความเค็มเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์ พบว่าต้นที่ได้รับความเครียดเกลือที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณการสะสมโพรลีนและน้ำตาลเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับความเครียดเกลือ (รูปที่ 27; รูปที่ 28) เนื่องจากการสะสมปริมาณ compatible solutes ที่เพิ่มขึ้นเป็นการปรับตัวให้รอดพ้นจากสภาวะเครียดเนื่องจากความเค็มของพืช (Rizwan et al., 2015) เช่นเดียวกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโพรลีนในลำต้นของผักโขมเมื่ออยู่ในสภาวะความเค็ม พบว่าผักโขมที่ได้รับความเค็มเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มการสะสมโพรลีนเพิ่มขึ้นด้วย (Eraslan et al., 2008) ส่วนในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารประกอบซิลิคอนทั้ง $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ ทั้งสองวิธีมีการสะสมของโพรลีนและน้ำตาลเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสารดังกล่าว โดยเฉพาะต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วันก่อนได้รับความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณโพรลีนและน้ำตาลสูงสุดที่ 3 และ 7 สัปดาห์ (รูปที่ 27; รูปที่ 28) โดยโพรลีนมีบทบาทสำคัญในการปรับสมดุลออสโมติก (osmotic adjustment) ในพืชเมื่อได้รับความเค็ม (Iqbal et al., 2014) เช่นเดียวกับการศึกษาคุณสมบัติของซิลิคอนที่ฉีดพ่นทางใบกระเจี๊ยบเขียว (okra) ภายใต้สภาวะความเค็ม ส่งเสริมให้ปริมาณโพรลีน ไกลซีนเบทาอีน และกรดอะมิโนอิสระเพิ่มมากขึ้นในส่วนใบและราก (Abbas et al., 2015) ซิลิคอนยังเพิ่มการสะสมน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ในลำต้นและรากของใบยาสูบ (Hajiboland & Cheraghvareh, 2014) และเพิ่มการสะสมปริมาณน้ำตาลซูโครส (sucrose) และฟรุกโทส (fructose) ในข้าวฟ่าง (sorghum) ภายใต้สภาวะความเค็ม (Yin et al., 2013)

ความเค็มชักนำให้พืชเกิดภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันจากการสร้างอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น พืชจึงมีการปรับตัวโดยเพิ่มการสร้างเอนไซม์ SOD ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักในกระบวนการยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมีประสิทธิภาพในการออกซิไดซ์สารชีวโมเลกุลต่างๆ ซึ่งจะนำไปสู่การเกิด lipid peroxidation และการทำลายองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ หากถูกทำลายมากๆ ก็จะส่งผลให้ไอออนต่างๆ ภายในเซลล์เกิดการรั่วไหลมากยิ่งขึ้น (Ganivea et al., 1998)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณ MDA และปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ ในต้นกล้วยไม้ในสภาวะความเค็มเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์ พบว่าต้นที่ได้รับความเครียดเกลือที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ ทั้ง 2 วิธี เป็นเวลา 3 สัปดาห์มีปริมาณ MDA และการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์สูงกว่าต้นที่ไม่ได้รับความเค็มหรือต้นที่ได้รับสารประกอบซิลิคอนร่วมด้วย และพบปริมาณ MDA และการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับความเค็มเป็นระยะเวลานานขึ้นถึง 7 สัปดาห์ (รูปที่ 29; รูปที่ 30) ซึ่ง MDA เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation จาก ROS ทำลาย phospholipid บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย สอดคล้องกับปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ คือ หากมีปริมาณ MDA สูง หมายความว่าเยื่อหุ้มเซลล์มีการเสื่อมสภาพสูง และส่งผลให้มีการรั่วไหลของสารออกจากเซลล์สูงเช่นกัน (Mittler, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าต้นที่ได้รับเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD และ CAT เพิ่มขึ้นจากต้นที่ไม่ได้รับความเค็มแต่น้อยกว่าต้นที่ได้รับสารประกอบซิลิคอน (รูปที่ 31; รูปที่ 32) ส่วนต้นที่ได้รับสารประกอบซิลิคอนทั้ง $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ ทั้ง 2 วิธี ในสภาวะความเค็ม พบปริมาณ MDA และการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ลดลง (รูปที่ 29; รูปที่ 30) เช่นเดียวกับการให้ซิลิคอนกับถั่วที่เจริญเติบโตในสภาวะความเค็ม โดยพบว่าซิลิคอนลดการชักนำให้พืชเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation และการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ (Shahid et al., 2015) ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ SOD และ CAT เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับเกลือ NaCl เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 31; รูปที่ 32) ซึ่งเป็นผลของซิลิคอนที่ยับยั้งการสร้าง ROS ภายในเซลล์ และส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzyme) เช่น SOD และ CAT ในพืชภายใต้สภาวะความเค็ม (Abbas et al., 2015; Eraslan et al., 2008; Kim et al., 2014; Siddiqui et al., 2014) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Abbas et al. (2015) พบว่าการเกิด lipid peroxidation ที่ลดลง และกิจกรรมของเอนไซม์ SOD, Peroxidase (POD) และ CAT ที่เพิ่มขึ้นภายใต้สภาวะความเค็มเป็นผลมาจากการฉีดพ่นซิลิคอนทางใบของต้นกระเจี๊ยบเขียว นอกจากนี้ยังพบว่าการให้ซิลิคอนกับต้นมะเขือเทศภายใต้สภาวะความเค็มยังส่งเสริมให้เกิดกิจกรรมของ SOD และ CAT เพิ่มขึ้น แต่พบปริมาณ $H_2O_2$ และ MDA ลดลง (Al-aghabary et al., 2005) ดังนั้นการให้สารประกอบซิลิคอนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทนเค็มให้แก่ต้นกล้วยไม้ได้

**สรุปผลการทดลอง**

1. ต้นกล้วยไม้มีการรอดชีวิตลดลงเมื่อได้รับเกลือ NaCl ในระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น
2. ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ NaCl 173.78 มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้มีชีวิตรอด 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์
3. การให้สาร $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้เจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อได้รับสภาวะที่มีความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์
4. ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีการรอดชีวิตมากกว่าต้นที่ได้รับ $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ ร่วมกับสภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์
5. ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ มีการสะสมสาร compatible solutes และกิจกรรมของเอนไซม์ที่ยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระมากกว่าต้นที่ได้รับความเครียดเกลือเพียงอย่างเดียว
6. ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ $CaSiO_3$ และ $H_4SiO_4$ ได้รับความเสียหายที่เกิดกับเยื่อหุ้มเซลล์น้อยกว่ากว่าต้นที่ได้รับความเครียดเกลือเพียงอย่างเดียว

มหาวิทยาลัยศิลปากร

# รายการอ้างอิง


Abbas, T., Balal, R. M., Shahid, M. A., Pervez, M. A., Ayyub, C. M., Aqueel, M. A., & Javaid, M. M. (2015). Silicon-induced alleviation of NaCl toxicity in okra (*Abelmoschus esculentus*) is associated with enhanced photosynthesis, osmoprotectants and antioxidant metabolism. *Acta physiologiae plantarum,* 37(2), 6.

Abdalla, M. M. (2011). Impact of diatomite nutrition on two *Trifolium alexandrinum* cultivars differing in salinity tolerance. *Int. J. Plant Physiol. Bioch,* 3(13), 233-246.

Aebi, H. (1974). Catalase *Methods of enzymatic analysis* (pp. 673-684): Elsevier.

Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., & Sharma, S. (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical reviews in biotechnology,* 30(3), 161-175.

Al-aghabary, K., Zhu, Z., & Shi, Q. (2005). Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Journal of Plant Nutrition,* 27(12), 2101-2115.

Arditti, J. (2009). *Micropropagation of orchids*: John Wiley & Sons.

Ashraf, M., Ahmad, R., Afzal, M., Tahir, M., Kanwal, S., & Maqsood, M. (2009). Potassium and silicon improve yield and juice quality in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) under salt stress. *Journal of Agronomy and Crop Science,* 195(4), 284-291.

Ashraf, M. F. M. R., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany,* 59(2), 206-216.

Asmar, S., Castro, E., Pasqual, M., Pereira, F., & Soares, J. (2013). Changes in leaf anatomy and photosynthesis of micropropagated banana plantlets under different silicon sources. *Scientia Horticulturae,* 161, 328-332.

Auer, T., Khoschsorur, G., Rabl, H., Iberer, F., & Petutschnigg, B. (1995). *Detection of lipid peroxidation products by malondialdehyde (MDA-TBA reaction) in organ transplantation.* Paper presented at the Transplantation proceedings.

Azeem, M., Iqbal, N., Kausar, S., Javed, M. T., Akram, M. S., & Sajid, M. A. (2015). Efficacy of silicon priming and fertigation to modulate seedling's vigor and ion homeostasis of wheat (*Triticum aestivum* L.) under saline environment. *Environmental Science and Pollution Research,* 22(18), 14367-14371.

Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil,* 39(1), 205-207.

Bernstein, L. (1964). Effects of salinity on mineral composition and growth of plants. *Plant analysis and fertilizer problem,* 4, 25-45.

Bohnert, H. J., Nelson, D. E., & Jensen, R. G. (1995). Adaptations to environmental stresses. *The plant cell,* 7(7), 1099-1111.

Camargo, M. S. d., Korndörfer, G. H., & Pereira, H. S. (2007). Solubilidade do silício em solos: influência do calcário e ácido silícico aplicados. *Bragantia,* 66(4), 637-647.

Casey, W., Kinrade, S., Knight, C., Rains, D., & Epstein, E. (2004). Aqueous silicate complexes in wheat, *Triticum aestivum* L. *Plant, cell & environment,* 27(1), 51-54.

Chen, C., & Chen, J.-J. (2002). Measurement of gas exchange rates in plant tissue culture vessels. *Plant cell, tissue and organ culture,* 71(2), 103-109.

Chen, D., Yin, L., Deng, X., & Wang, S. (2014). Silicon increases salt tolerance by influencing the two-phase growth response to salinity in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta physiologiae plantarum,* 36(9), 2531-2535.

Cornelis, J.-T., Titeux, H., Ranger, J., & Delvaux, B. (2011). Identification and distribution of the readily soluble silicon pool in a temperate forest soil below three distinct tree species. *Plant and soil,* 342(1-2), 369-378.

Coskun, D., Britto, D. T., Huynh, W. Q., & Kronzucker, H. J. (2016). The role of silicon in higher plants under salinity and drought stress. *Frontiers in Plant Science,* 7, 1072.

Cribb, P., Goverts, R., & Prat, D. (2005). *Just how many orchids are there?* Paper presented at the Proceedings of the 18th World Orchid Conference, 2005.

Da Silva, J. A. T., Cardoso, J. C., Dobránszki, J., & Zeng, S. (2015). Dendrobium micropropagation: a review. *Plant cell reports,* 34(5), 671-704.

De Gryze, C., De Riek, J., & Debergh, P. (1994). Water relations in the culture vessel. *Environmental Effects and their Control in Plant Tissue Culture* 393, 39-44.

Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P., & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental botany,* 32(1), 93-101.

Dimassi-Theriou, K., & Bosabalidis, A. M. (1997). Effects of light, magnesium and sucrose on leaf anatomy, photosynthesis, starch and total sugar accumulation, in kiwifruit culturedin vitro. *Plant cell, tissue and organ culture,* 47(2), 127-134.

Dinani, E. T., Shukla, M. R., Turi, C. E., Sullivan, J., & Saxena, P. K. (2018). Thidiazuron: Modulator of Morphogenesis In Vitro *Thidiazuron: From Urea Derivative to Plant Growth Regulator* (pp. 1-36): Springer.

Dionisio-Sese, M. L., & Tobita, S. (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. Plant Science, 135(1), 1-9.

Epstein, E. (1994). The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 91(1), 11-17.

Epstein, E. (1999). Silicon. *Annual review of plant biology,* 50(1), 641-664.

Epstein, E., & Bloom, A. J. (2005). Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. Sinauer Associates. *Inc. Sunderland, Mass*.

Eraslan, F., Inal, A., Pilbeam, D. J., & Gunes, A. (2008). Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Matador) grown under boron toxicity and salinity. *Plant Growth Regulation,* 55(3), 207.

Fahad, S., Hussain, S., Matloob, A., Khan, F. A., Khaliq, A., Saud, S., Hassan, S., Shan, D., Khan, F., & Ullah, N. (2015). Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. *Plant Growth Regulation,* 75(2), 391-404.

FAO. (1976). Prognosis of salinity and alkalinity. *FAO Soils Bulletin* 31.

Finney, D. J. (1952). Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve: Cambridge university press, cambridge.

Food and agriculture organization of the united nations. (2005). Management of irrigation-induced salt-affected soils. Retrieved 17 November 2018 http://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=XF2006425047

Fujiwara, K., & Kozai, T. (1995). Physical microenvironment and its effects *Automation and environmental control in plant tissue culture* (pp. 319-369): Springer.

Ganivea, R. A., Allahverdiyev, S. R., Guseinova, N. B., Kavakli, H. I., & Nafisi, S. (1998). Effect of salt stress and synthetic hormone polystimuline K on the photosynthetic activity of cotton (*Gossypium hirsutum*). *Turkish Journal of Botany,* 22(4), 217-222.

Garg, N., & Bhandari, P. (2016). Silicon nutrition and mycorrhizal inoculations improve growth, nutrient status, K+/Na+ ratio and yield of *Cicer arietinum* L. genotypes under salinity stress. *Plant Growth Regulation,* 78(3), 371-387.

George, E. F. (1993). *Plant propagation by tissue culture. Part* 1: *The technology*: Exegetics limited.

Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry,* 48(12), 909-930.

Gong, H. j., Chen, K. m., Chen, G. c., Wang, S. m., & Zhang, C. l. (2003). Effects of silicon on growth of wheat under drought. *Journal of Plant Nutrition,* 26(5), 1055-1063.

Guerriero, G., Hausman, J.-F., & Legay, S. (2016). Silicon and the plant extracellular matrix. *Frontiers in Plant Science,* 7, 463.

Guntzer, F., Keller, C., Poulton, P. R., McGrath, S. P., & Meunier, J.-D. (2012). Long-term removal of wheat straw decreases soil amorphous silica at Broadbalk, Rothamsted. *Plant and soil,* 352(1-2), 173-184.

Gupta, B., & Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International journal of genomics,* 2014.

Hajiboland, R., & Cheraghvareh, L. (2014). Influence of Si supplementation on growth and some physiological and biochemical parameters in salt-stressed tobacco (*Nicotiana rustica* L.) plants. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran,* 25(3), 205-217.

Hanson, A. D., Rathinasabapathi, B., Rivoal, J., Burnet, M., Dillon, M. O., & Gage, D. A. (1994). Osmoprotective compounds in the Plumbaginaceae: a natural experiment in metabolic engineering of stress tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 91(1), 306-310.

Hare, P. D., Cress, W. A., & Van Staden, J. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, cell & environment,* 21(6), 535-553.

Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics,* 125(1), 189-198.

Hernández, J. A., Ferrer, M. A., Jiménez, A., Barceló, A. R., & Sevilla, F. (2001). Antioxidant systems and O2.−/H2O2 production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. *Plant physiology,* 127(3), 817-831.

Hirayama, T., & Shinozaki, K. (2010). Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: Past, present and future. *The Plant Journal,* 61(6), 1041-1052.

Hoque, M. A., Banu, M. N. A., Okuma, E., Amako, K., Nakamura, Y., Shimoishi, Y., & Murata, Y. (2007). Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate–glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells. *Journal of plant physiology,* 164(11), 1457-1468.

Hu, H., & Xiong, L. (2014). Genetic engineering and breeding of drought-resistant crops. *Annual review of plant biology,* 65, 715-741.

Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food chemistry,* 108(3), 986-995.

Iqbal, N., Umar, S., Khan, N. A., & Khan, M. I. R. (2014). A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: regulation of proline metabolism. *Environmental and experimental botany,* 100, 34-42.

Isayenkov, S. (2012). Physiological and molecular aspects of salt stress in plants. *Cytology and Genetics,* 46(5), 302-318.

Jemec, A., Tišler, T., Drobne, D., Sepčić, K., Fournier, D., & Trebše, P. (2007). Comparative toxicity of imidacloprid, of its commercial liquid formulation and of diazinon to a non-target arthropod, the microcrustacean Daphnia magna. *Chemosphere,* 68(8), 1408-1418.

Keller, F., & Ludlow, M. (1993). Carbohydrate metabolism in drought-stressed leaves of pigeonpea (*Cajanus cajan*). *Journal of Experimental botany,* 44(8), 1351-1359.

Kerepesi, I., & Galiba, G. (2000). Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science,* 40(2), 482-487.

Khan, M. A., Ungar, I. A., & Showalter, A. M. (2000). Effects of sodium chloride treatments on growth and ion accumulation of the halophyte Haloxylon recurvum. *Communications in Soil Science and Plant Analysis,* 31(17-18), 2763-2774.

Kim, Y. H., Khan, A. L., Waqas, M., Shim, J. K., Kim, D. H., Lee, K. Y., & Lee, I. J. (2014). Silicon application to rice root zone influenced the phytohormonal and antioxidant responses under salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation,* 33(2), 137-149.

Li, H., Zhu, Y., Hu, Y., Han, W., & Gong, H. (2015). Beneficial effects of silicon in alleviating salinity stress of tomato seedlings grown under sand culture. *Acta physiologiae plantarum,* 37(4), 71.

Liang, Y., Nikolic, M., Bélanger, R., Gong, H., & Song, A. (2015). *Silicon in agriculture*. Dordrecht: Springer Netherlands.

Liang, Y., Sun, W., Zhu, Y.-G., & Christie, P. (2007). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. *Environmental pollution,* 147(2), 422-428.

Ma, J. F., Tamai, K., Yamaji, N., Mitani, N., Konishi, S., Katsuhara, M., Ishiguro, M., Murata, Y., & Yano, M. (2006). A silicon transporter in rice. Nature, 440(7084), 688-691.

Ma, J. F., & Yamaji, N. (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in plant science,* 11(8), 392-397.

Ma, J. F., & Yamaji, N. (2008). Functions and transport of silicon in plants. *Cellular and molecular life sciences,* 65(19), 3049-3057.

Ma, J. F., Yamaji, N., Mitani, N., Tamai, K., Konishi, S., Fujiwara, T., Katsuhara, M., & Yano, M. (2007). An efflux transporter of silicon in rice. Nature, 448(7150), 209-212.

Makhadmeh, I., A. , Abu-Khadejeh, R. S., & M.J. Mohammad. (2002). Physiological responses of tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) microshoots to salinity. *Journal of Plant Nutrition,* 25, 124-132.

Mitani, N., & Ma, J. F. (2005). Uptake system of silicon in different plant species. Journal of Experimental botany, 56(414), 1255-1261.

Mao, L., Pang, H., Wang, G., & Zhu, C. (2007). Phospholipase D and lipoxygenase activity of cucumber fruit in response to chilling stress. *Postharvest Biology and Technology,* 44(1), 42-47.

Martin, K., & Madassery, J. (2006). Rapid in vitro propagation of Dendrobium hybrids through direct shoot formation from foliar explants, and protocorm-like bodies. *Scientia Horticulturae,* 108(1), 95-99.

Meharg, C., & Meharg, A. A. (2015). Silicon, the silver bullet for mitigating biotic and abiotic stress, and improving grain quality, in rice? *Environmental and experimental botany,* 120, 8-17.

Meyer, Y., Belin, C., Delorme-Hinoux, V., Reichheld, J.-P., & Riondet, C. (2012). Thioredoxin and glutaredoxin systems in plants: molecular mechanisms, crosstalks, and functional significance. *Antioxidants & redox signaling,* 17(8), 1124-1160.

Miller, G., Suzuki, N., Ciftci□Yilmaz, S., & Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, cell & environment,* 33(4), 453-467.

Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science,* 7(9), 405-410.

Mittler, R., & Blumwald, E. (2010). Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. *Annual review of plant biology,* 61, 443-462.

Munns, R., & Sharp, R. (1993). Involvement of abscisic acid in controlling plant growth in soil of low water potential. *Functional plant biology,* 20(5), 425-437.

Noctor, G., Mhamdi, A., & Foyer, C. H. (2014). The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant physiology,* 164(4), 1636-1648.

Rizwan, M., Ali, S., Ibrahim, M., Farid, M., Adrees, M., Bharwana, S. A., Zia-ur-Rehman, M., Qayyum, M. F., & Abbas, F. (2015). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of

drought and salt stress in plants: a review. *Environmental Science and Pollution Research,* 22(20), 15416-15431.

Roberts, E., & Martin, L. (1959). Progress in determining organic non-sugars of sugarcane juice that affect sugar refining. *Proceedings of the 6th technical session on bonechar (ed. Dietz, VR)*, 67-99.

Sahebi, M., Hanafi, M. M., Siti Nor Akmar, A., Rafii, M. Y., Azizi, P., Tengoua, F., Nurul Mayzaitul Azwa, J., & Shabanimofrad, M. (2015). Importance of silicon and mechanisms of biosilica formation in plants. *BioMed research international,* 2015.

Sauer, D., Saccone, L., Conley, D. J., Herrmann, L., & Sommer, M. (2006). Review of methodologies for extracting plant-available and amorphous Si from soils and aquatic sediments. *Biogeochemistry,* 80(1), 89-108.

Savant, N. K., Datnoff, L. E., & Snyder, G. H. (1997). Depletion of plant□available silicon in soils: A possible cause of declining rice yields. *Communications in Soil Science and Plant Analysis,* 28(13-14), 1245-1252.

Savvas, D., & Ntatsi, G. (2015). Biostimulant activity of silicon in horticulture. *Scientia Horticulturae,* 196, 66-81.

Saxena, S. C., Kaur, H., Verma, P., Petla, B. P., Andugula, V. R., & Majee, M. (2013). Osmoprotectants: potential for crop improvement under adverse conditions *Plant acclimation to environmental stress* (pp. 197-232): Springer.

Shahid, M. A., Balal, R. M., Pervez, M. A., Abbas, T., Aqueel, M. A., Javaid, M. M., & Garcia-Sanchez, F. (2015). Foliar spray of phyto-extracts supplemented with silicon: an efficacious strategy to alleviate the salinity-induced deleterious effects in pea (*Pisum sativum* L.). *Turkish Journal of Botany,* 39(3), 408-419.

Shi, Y., Wang, Y., Flowers, T. J., & Gong, H. (2013). Silicon decreases chloride transport in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions. *Journal of plant physiology,* 170(9), 847-853.

Shi, Y., Zhang, Y., Yao, H., Wu, J., Sun, H., & Gong, H. (2014). Silicon improves seed germination and alleviates oxidative stress of bud seedlings in tomato under water deficit stress. *Plant physiology and biochemistry,* 78, 27-36.

Siddiqui, M. H., Al□Whaibi, M. H., Faisal, M., & Al Sahli, A. A. (2014). Nano-silicon dioxide mitigates the adverse effects of salt stress on *Cucurbita pepo* L. *Environmental toxicology and chemistry,* 33(11), 2429-2437.

Sivanesan, I., & Park, S. W. (2014). The role of silicon in plant tissue culture. *Frontiers in Plant Science,* 5, 571.

Slinger, D., & Tenison, K. (2005). Salinity Glove Box Guide: NSW Murray & Murrumbidgee Catchments. *An initiative of the Southern Salt Action Team, NSW Department of Primary Industries*.

Smirnof, N. (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *NewPhytologist,* 125, 27-58.

Sommer, M., Kaczorek, D., Kuzyakov, Y., & Breuer, J. (2006). Silicon pools and fluxes in soils and landscapes: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science,* 169(3), 310-329.

Tahir, M. A., Aziz, T., Farooq, M., & Sarwar, G. (2012). Silicon-induced changes in growth, ionic composition, water relations, chlorophyll contents and membrane permeability in two salt-stressed wheat genotypes. *Archives of Agronomy and Soil Science,* 58(3), 247-256.

Taiz, L., & Zeiger, E. (1998). Plant Physioloy, (Sunderland: Sinauer Assocoates).

Tsugane, K., Kobayashi, K., Niwa, Y., Ohba, Y., Wada, K., & Kobayashi, H. (1999). A recessive Arabidopsis mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. *The plant cell,* 11(7), 1195-1206.

Tuna, A. L., Kaya, C., Higgs, D., Murillo-Amador, B., Aydemir, S., & Girgin, A. R. (2008). Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. *Environmental and experimental botany,* 62(1), 10-16.

United States Salinity Laboratory Staff. (1954). Diagnosis and Improvement of of Saline and Alkaline Soils. Retrieved 17 November 2018 https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/20360500/hb60_pdf/hb60complete.pdf

Vacin, E. F., & Went, F. (1949). Some pH changes in nutrient solutions. *Botanical Gazette,* 110(4), 605-613.

Vyncke, W. (1970). Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloracetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette, Seifen, Anstrichmittel,* 72(12), 1084-1087.

Wang, Y., & Nii, N. (2000). Changes in chlorophyll, ribulose bisphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in Amaranthus tricolor leaves during salt stress. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology,* 75(6), 623-627.

Wood, H. P. (2006). *The dendrobiums*: ARG Gantner Verlag.

Xie, Z., Song, R., Shao, H., Song, F., Xu, H., & Lu, Y. (2015). Silicon improves maize photosynthesis in saline-alkaline soils. *The Scientific World Journal,* 2015.

Yamaji, N., Mitatni, N., & Ma, J. F. (2008). A transporter regulating silicon distribution in rice shoots. The plant cell, 20(5), 1381-1389.

Yin, L., Wang, S., Li, J., Tanaka, K., & Oka, M. (2013). Application of silicon improves salt tolerance through ameliorating osmotic and ionic stresses in the seedling of *Sorghum bicolor*. *Acta physiologiae plantarum,* 35(11), 3099-3107.

Yin, L., Wang, S., Liu, P., Wang, W., Cao, D., Deng, X., & Zhang, S. (2014). Silicon-mediated changes in polyamine and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid are involved in silicon-induced drought resistance in *Sorghum bicolor* L. *Plant physiology and biochemistry,* 80, 268-277.

Yin, L., Wang, S., Tanaka, K., Fujihara, S., Itai, A., Den, X., & Zhang, S. (2016). Silicon-mediated changes in polyamines participate in silicon-induced salt tolerance in *Sorghum bicolor* L. *Plant, cell & environment,* 39(2), 245-258.

Zhu, Y., & Gong, H. (2014). Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. *Agronomy for Sustainable Development,* 34(2), 455-472.

Zimmerman, R. (1994). Environmental effects and their control in plant tissue culture-overview. *Environmental Effects and their Control in Plant Tissue Culture* 393, 11-14.

Zotz, G. (2013). The systematic distribution of vascular epiphytes–a critical update. *Botanical Journal of the Linnean Society,* 171(3), 453-481.

กรมควบคุมมลพิษ. (2556). รายงานสถานการณ์คุณภาพน้ำประจำสัปดาห์. Retrieved 1 พฤษภาคม 2560 http://infofile.pcd.go.th/water/waterquality030356.pdf?CFID=4020977&CFTOKEN=12088322

กรมวิชาการเกษตร. (2545). เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับกล้วยไม้ตัดดอก. กรุงเทพฯ: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม. (2560). สินค้ากล้วยไม้. Retrieved 17 พฤศจิกายน 2560 http://www.ditp.go.th/contents_attach/165775/165775.pdf

กลุ่มส่งเสริมไม้ผลและกลุ่มส่งเสริมไม้ดอกและไม้ประดับ สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร. (2559). กรมส่งเสริมการเกษตรพร้อมแล้ว รับมือสถานการณ์เค็ม ปี 2559. Retrieved 17 พฤศจิกายน 2560 http://reportnews.doae.go.th/fileupload/pr_form/67_20160302115044.doc

ครรชิต ธรรมศิริ. (2541). เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. กรุงเทพฯ: อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง.

ทวีพงศ์ สุวรรณโร. (2551). กล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวาย: คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ: สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร.

ธนากร แสงสง่า. (2557). พี จี พี อาร์: บทบาทในการส่งเสริมและป้องกันพืชภายใต้สภาวะเครียด วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 22(4), 553-570.

นวรัตน์ อุดมประเสริฐ. (2558). สรีรวิทยาของพืชในสภาวะเครียด. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พงศกร นิตย์มี, พ. ร., ศุภชัย อำคา และธงชัย มาลา,. (2558). ผลของการเคลือบเมล็ดด้วยแคลเซียมซิลิเกตและการให้ทางดินต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. แก่นเกษตร, 44(1), 76-82.

ลักษณะดอกกล้วยไม้สกุลหวาย. Retrieved 1 พฤษภาคม 2560 http://www.ebay.com/gds/How-to-Propagate-Dendrobium-Orchids-/10000000205202424/g.html

ลักษณะรากกล้วยไม้สกุลหวาย. Retrieved 1 พฤษภาคม 2560 http://www.bloggang.com/mainblog.php?id=honeyorchid&month=10-09-2007&group=9&gblog=22

ลักษณะลำต้นและใบกล้วยไม้สกุลหวาย. Retrieved 1 พฤษภาคม 2560 https://www.repotme.com/orchid-care/Orchid-Identification.html

สมศักดิ์ รักไพบูลย์สมบัติ. (2540). ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จากประสบการณ์. กรุงเทพฯ: สุริวงศ์บุ๊คเซ็นเตอร์.

สุรชัย พิริยวิรุฒม์ ศุภชัย อำคา ธงชัย มาลา และ พรไพรินทร์ รุ่งเจริญทอง. (2558). ผลของปุ๋ยแคลเซียมซิลิเกตต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์และการผลิตกล้าเมล่อน. แก่นเกษตร, 43(1), 349-353.

แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ. (2547). คู่มือปฏิบัติการการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. เชียงใหม่: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

อรพินท์ จูนีนารถ ศรัณยพร มากทรัพย์ และ กุลนาถ อบสุวรรณ (2562) ผลของโพรลีนต่อการเติบโตภายใต้ สภาวะความเครียดเกลือของกล้วยไม้สกุลหวายโจแดงในหลอดทดลอง. การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 11 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม “วิจัยสร้างนวัตกรรม เพื่อพัฒนาท้องถิ่นและสังคมไทย สู่ Disruptive Society”สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม The 11th NPRU National Academic Conference, Nakhon Pathom Rajabhat University, Nakhon Pathom, Thailand, 11 – 12 July 2019 หน้าที่ 1991-1997.

# ภาคผนวก

## ภาคผนวก 1 การเตรียมสารอาหารเข้มข้น (Stock solution)

อาหารสูตร Vacin and Went (VW), 1949

| **สารอาหารเข้มข้นที่ 1 (Stock solution 1)** ความเข้มข้น 10 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร | | |
|---|---|---|
| 1.1 โปตัสเซียมไนเตรต ($KNO_3$) | 5.25 | กรัม |
| 1.2 โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($KH_2PO_4$) | 2.50 | กรัม |
| 1.3 แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) | 5.00 | กรัม |
| 1.4 แมงกานีสซัลเฟต 4 น้ำ ($MnSO_4.4H_2O$) | 0.075 | กรัม |

**ปริมาตรที่นำไปใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = 100 มิลลิลิตร**

| **สารอาหารเข้มข้นที่ 2 (Stock solution 2)** ความเข้มข้น 100 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร | | |
|---|---|---|
| 2.1 แมกนีเซียมซัลเฟต 7 น้ำ ($MgSO_4.7H_2O$) | 5.25 | กรัม |

**ปริมาตรที่นำไปใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = 10 มิลลิลิตร**

| **สารอาหารเข้มข้นที่ 3 (Stock solution 3)** ความเข้มข้น 200 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร | | |
|---|---|---|
| 3.1 ไดโซเดียม อีดีทีเอ ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8.2H_20$) | 7.46 | กรัม |
| 3.2 เฟอรัสซัลเฟต 7 น้ำ ($FeSO_4.7H_20$) | 5.56 | กรัม |

**ปริมาตรที่นำไปใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = 5 มิลลิลิตร**

มหาวิทยาลัยศิลปากร

**ภาคผนวก 2 วิธีการเตรียมอาหารสูตร VW ปริมาตร 1 ลิตร**

1. เติมน้ำกลั่นลงในบีกเกอร์ (ขนาด 2,000 มิลลิลิตร) ปริมาตรประมาณ 500 มิลลิลิตร
2. เติมสารอาหารเข้มข้นที่ 1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
3. เติมสารอาหารเข้มข้นที่ 2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
4. เติมสารอาหารเข้มข้นที่ 3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
5. เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟต 0.2 กรัมโดยละลายใน 1 นอร์มอล HCl (เตรียมโดยค่อยๆหยดสารละลาย 1 นอร์มอล HCl ลงไปในภาชนะที่บรรจุไตรแคลเซียมฟอสเฟตเรื่อยๆ พร้อมกับเขย่าภาชนะเป็นวงกลมเบาๆ จนละลายหมด)
6. เติมน้ำตาลซูโครสหรือน้ำตาลทราย 20 กรัม
7. เติมสารละลายอื่นๆที่ต้องการเพิ่ม เช่น น้ำมะพร้าว น้ำต้มมันฝรั่ง และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นต้น
8. ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร
9. วัดค่าความเป็นกรด-เบส และปรับให้เป็น 5.4 (หรือ 4.9)
10. เติมวุ้น Phytagel 2.2 – 2.5 กรัม (หรือตามความเข้มข้นของวุ้นแต่ละชนิด) ต้มจนวุ้นละลายเป็นเนื้อเดียวกับสารละลายอาหาร
11. บรรจุอาหารลงในขวดแก้วปิดฝาให้เรียบร้อย
12. นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เก็บขวดอาหารไว้ที่อุณหภูมิที่ค่อนข้างเย็น สะอาดและปราศจากฝุ่นละออง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

**ภาคผนวก 3 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์**

ภาคผนวก 3-1 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับความเครียดเกลือ NaCl 200 mM

| ทรีตเมนต์ | สัปดาห์ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| control | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $CaSiO_3$ 0 mM | 10 | 10 | 7 | 5 | 5 | 5 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| $CaSiO_3$ 1.25 mM | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 7 | 7 | 6 | 6 | 5 |
| $CaSiO_3$ 2.5 mM | 10 | 10 | 10 | 9 | 6 | 6 | 4 | 3 | 3 | 2 |
| $CaSiO_3$ 5 mM | 10 | 10 | 10 | 8 | 6 | 5 | 4 | 4 | 4 | 3 |
| $CaSiO_3$ 7.5 mM | 10 | 10 | 8 | 5 | 4 | 4 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| $CaSiO_3$ 10 mM | 10 | 10 | 9 | 6 | 5 | 5 | 2 | 2 | 1 | 0 |

ภาคผนวก 3-2 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับความเครียดเกลือ NaCl 200 mM

| ทรีตเมนต์ | สัปดาห์ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| control | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $H_4SiO_4$ 0 mM | 10 | 10 | 7 | 5 | 5 | 5 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| $H_4SiO_4$ 1.25 mM | 10 | 10 | 10 | 8 | 6 | 5 | 3 | 2 | 1 | 0 |
| $H_4SiO_4$ 2.5 mM | 10 | 10 | 10 | 7 | 6 | 5 | 3 | 2 | 2 | 0 |
| $H_4SiO_4$ 5 mM | 10 | 10 | 10 | 10 | 8 | 8 | 6 | 6 | 5 | 1 |
| $H_4SiO_4$ 7.5 mM | 10 | 10 | 10 | 8 | 6 | 5 | 4 | 3 | 3 | 3 |
| $H_4SiO_4$ 10 mM | 10 | 10 | 9 | 7 | 7 | 7 | 4 | 2 | 1 | 0 |

ภาคผนวก 3-3 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับความเครียดเกลือ NaCl 200 mM

| ทรีตเมนต์ | สัปดาห์ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| control | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $CaSiO_3$ 0 mM | 10 | 10 | 9 | 8 | 6 | 6 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| $CaSiO_3$ 1.25 mM | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 8 | 7 | 6 | 6 |
| $CaSiO_3$ 2.5 mM | 10 | 10 | 10 | 10 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 4 |
| $CaSiO_3$ 5 mM | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 7 | 7 | 6 | 5 |
| $CaSiO_3$ 7.5 mM | 10 | 10 | 9 | 7 | 6 | 6 | 6 | 4 | 4 | 4 |
| $CaSiO_3$ 10 mM | 10 | 10 | 10 | 8 | 8 | 7 | 5 | 5 | 4 | 4 |

ภาคผนวก 3-4 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับความเครียดเกลือ NaCl 200 mM

| ทรีตเมนต์ | สัปดาห์ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| control | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $H_4SiO_4$ 0 mM | 10 | 10 | 9 | 8 | 6 | 6 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| $H_4SiO_4$ 1.25 mM | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 9 | 9 |
| $H_4SiO_4$ 2.5 mM | 10 | 10 | 10 | 10 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 2 |
| $H_4SiO_4$ 5 mM | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 8 | 8 | 6 | 4 | 3 |
| $H_4SiO_4$ 7.5 mM | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 9 | 8 | 7 | 7 | 5 |
| $H_4SiO_4$ 10 mM | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 7 | 7 | 6 | 6 | 5 |

ภาคผนวก 3-5 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับความเครียดเกลือ NaCl 300 mM

| ทรีตเมนต์ | สัปดาห์ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| control | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $CaSiO_3$ 0 mM | 9 | 7 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $CaSiO_3$ 1.25 mM | 10 | 9 | 7 | 5 | 5 | 4 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| $CaSiO_3$ 2.5 mM | 10 | 9 | 8 | 5 | 5 | 4 | 4 | 3 | 2 | 2 |
| $CaSiO_3$ 5 mM | 10 | 9 | 7 | 5 | 5 | 5 | 4 | 3 | 1 | 1 |
| $CaSiO_3$ 7.5 mM | 10 | 9 | 6 | 4 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| $CaSiO_3$ 10 mM | 10 | 8 | 6 | 4 | 4 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 |

ภาคผนวก 3-6 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับ $H_4SiO_4$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับความเครียดเกลือ NaCl 300 mM

| ทรีตเมนต์ | สัปดาห์ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| control | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $H_4SiO_4$ 0 mM | 9 | 7 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $H_4SiO_4$ 1.25 mM | 10 | 9 | 7 | 5 | 5 | 4 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| $H_4SiO_4$ 2.5 mM | 10 | 9 | 7 | 5 | 4 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| $H_4SiO_4$ 5 mM | 10 | 9 | 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| $H_4SiO_4$ 7.5 mM | 10 | 7 | 5 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| $H_4SiO_4$ 10 mM | 10 | 8 | 7 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |

ภาคผนวก 3-7 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับ $CaSiO_3$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับความเครียดเกลือ NaCl 300 mM

| ทรีตเมนต์ | สัปดาห์ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| control | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $CaSiO_3$ 0 mM | 9 | 7 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $CaSiO_3$ 1.25 mM | 10 | 9 | 8 | 6 | 5 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| $CaSiO_3$ 2.5 mM | 10 | 8 | 7 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| $CaSiO_3$ 5 mM | 10 | 9 | 7 | 5 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| $CaSiO_3$ 7.5 mM | 10 | 8 | 6 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| $CaSiO_3$ 10 mM | 10 | 7 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |

ภาคผนวก 3-8 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับความเครียดเกลือ NaCl 300 mM

| ทรีตเมนต์ | สัปดาห์ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| control | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $H_4SiO_4$ 0 mM | 9 | 7 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $H_4SiO_4$ 1.25 mM | 10 | 8 | 6 | 4 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $H_4SiO_4$ 2.5 mM | 10 | 9 | 8 | 5 | 4 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| $H_4SiO_4$ 5 mM | 10 | 8 | 7 | 5 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| $H_4SiO_4$ 7.5 mM | 10 | 8 | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| $H_4SiO_4$ 10 mM | 10 | 7 | 5 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |

**ภาคผนวก 4 วิธีการเตรียมสารละลายโพรลีนมาตรฐานและคำนวณปริมาณโพรลีนในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้**

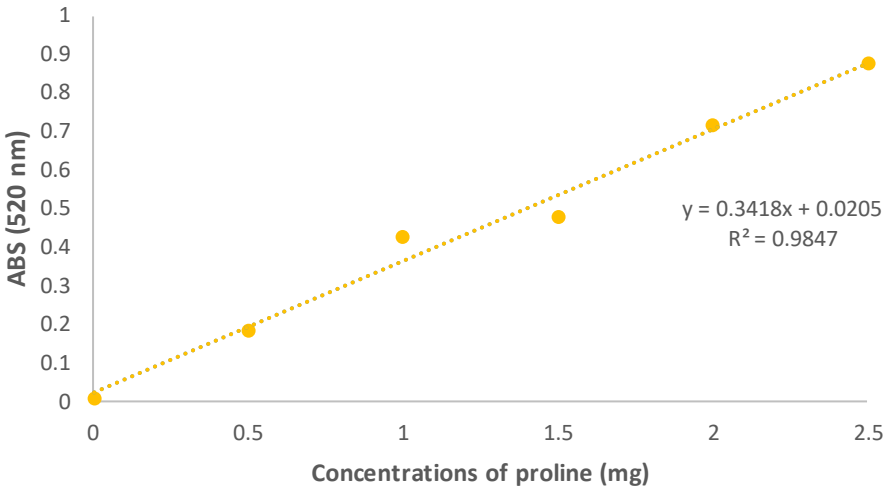
1) การเตรียมสารละลายโพรลีนมาตรฐาน (L-proline, $C_5H_9NO_2$, MW=115.13 g/mol)

ชั่งโพรลีน 100 mg ละลายด้วยน้ำกลั่น 10 ml ผสมให้เข้ากัน จากนั้นการเตรียมสารละลายมาตรฐานโพรลีน โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 mg/ml ในน้ำกลั่น 10 ml โดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ภาคผนวก 4-1 ตารางการเตรียมสารละลายโพรลีนมาตรฐาน

| ความเข้มข้นโพรลีน (mg) | สารละลายโพรลีน 10 mg/ml (ml) | น้ำกลั่น (ml) |
|---|---|---|
| 0 | 0 | 10 |
| 0.5 | 0.5 | 9.5 |
| 1.0 | 1.0 | 9.0 |
| 1.5 | 1.5 | 8.5 |
| 2.0 | 2.0 | 8.0 |
| 2.5 | 2.5 | 7.5 |

2) กราฟมาตรฐานโพรลีน




ภาคผนวก 4-2 กราฟมาตรฐานโพรลีน

3) คำนวณปริมาณโพรลีนในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้

สารสกัดกล้วยไม้ 5 มิลลิลิตร มีตัวอย่างกล้วยไม้ 0.125 กรัม

ถ้าสารสกัดกล้วยไม้ 1 มิลลิลิตร มีตัวอย่างกล้วยไม้ (1*0.125)/5=0.025 g

แทนค่า OD 520 นาโนเมตร เป็นค่า y ในสมการกราฟมาตรฐานกลูโคส y=0.341x + 0.0205 ได้ค่า x หน่วย mg/ml

โดยปริมาณโพรลีนในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้ = (x*ปริมาตรของสารสกัด หน่วย ml)/น้ำหนักสดของตัวอย่าง (g) = (x*1)/0.025 หน่วย mg/gFW

**ภาคผนวก 5 วิธีการเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานและคำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้**

1) สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (glucose, $C_6H_{12}O_6$, MW=180.156 g/mol)

ชั่งกลูโคส 100 mg ละลายด้วยน้ำกลั่น 10 ml ผสมให้เข้ากัน จากนั้นการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 mg ในน้ำกลั่น 10 ml โดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ภาคผนวก 5-1 ตารางการเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

| ความเข้มข้นกลูโคส (mg) | สารละลายกลูโคส 10 mg/ml (ml) | น้ำกลั่น (ml) |
|---|---|---|
| 0 | 0 | 10 |
| 0.5 | 0.5 | 9.5 |
| 1.0 | 1.0 | 9.0 |
| 1.5 | 1.5 | 8.5 |
| 2.0 | 2.0 | 8.0 |
| 2.5 | 2.5 | 7.5 |

2) กราฟมาตรฐานกลูโคส

ภาคผนวก 5-2 กราฟมาตรฐานกลูโคส

3) คำนวณปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมดในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้

สารสกัดกล้วยไม้ 2.5 มิลลิลิตร มีตัวอย่างกล้วยไม้ 0.125 กรัม

ถ้าสารสกัดกล้วยไม้ 1 มิลลิลิตร มีตัวอย่างกล้วยไม้ (1*0.125)/2.5=0.05 g

แทนค่า OD 485 นาโนเมตร เป็นค่า y ในสมการกราฟมาตรฐานกลูโคส y=0.75x + 0.0573 ได้ค่า x หน่วย mg/ml

โดยปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมดในรูปมิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้ = (x*ปริมาตรของสารสกัด หน่วย ml)/น้ำหนักสดของตัวอย่าง (g) = (x*1)/0.05 หน่วย mg/gFW

**ภาคผนวก 6 วิธีการเตรียมสารละลาย MDA มาตรฐานและคำนวณปริมาณ MDA ในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้**

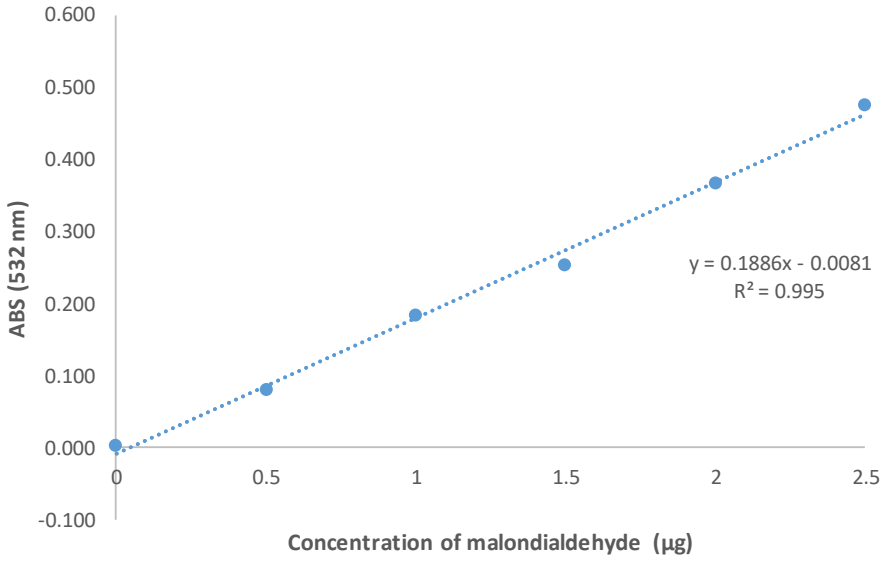
1) สารละลาย MDA มาตรฐานเตรียมจาก 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP, $C_{11}H_{24}O_4$, MW=220.31)

เตรียม 15% TCA โดยชั่ง TCA 15 g ละลายด้วยน้ำกลั่น 100 ml ผสมให้เข้ากัน เตรียม 10,000 µl/ml TEP โดยนำ TEP 11 µl ละลายใน 15% TCA 1 ml จากนั้นเจือจางให้เป็น 100 µg/ml TEP โดยนำ 10,000 µg/ml TEP 0.5 ml ผสมกับ 15% TCA 49.5 ml และเจือจางต่อให้ได้ 10 µg/ml TEP โดยนำ 100 µg/ml TEP 2.5 ml ผสมกับสารละลาย 15% TCA 22.5 ml จากนั้นการเตรียมสารละลายมาตรฐาน MDA โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 mg/ml 15% TCA 10 ml โดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ภาคผนวก 6-1 ตารางการเตรียมสารละลาย MDA มาตรฐาน

| ความเข้มข้น TEP (µg) | TEP 10 µg/ml (ml) | 15% TCA (ml) |
|---|---|---|
| 0 | 0 | 10 |
| 0.5 | 0.5 | 9.5 |
| 1.0 | 1.0 | 9.0 |
| 1.5 | 1.5 | 8.5 |
| 2.0 | 2.0 | 8.0 |
| 2.5 | 2.5 | 7.5 |

2) กราฟมาตรฐาน MDA




ภาคผนวก 6-2 กราฟมาตรฐาน MDA

3) คำนวณปริมาณ MDA ในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้

สารสกัดกล้วยไม้ 1.5 มิลลิลิตร มีตัวอย่างกล้วยไม้ 0.3 กรัม

ถ้าสารสกัดกล้วยไม้ 1 มิลลิลิตร มีตัวอย่างกล้วยไม้ (1*0.3)/1.5=0.2 g

แทนค่า OD 532 นาโนเมตร เป็นค่า y ในสมการกราฟมาตรฐาน MDA y=0.1886x - 0.0081 ได้ค่า x หน่วย mg/ml

โดยปริมาณ MDA ในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้ = (x*ปริมาตรของสารสกัด หน่วย ml)/น้ำหนักสดของตัวอย่าง (g) = (x*1)/0.2 หน่วย mg/gFW

**ภาคผนวก 7 วิธีการเตรียมสารโปรตีนมาตรฐานและคำนวณกิจกรรมปริมาณโปรตีนในรูปมิลลิกรัมโปรตีน**

1) สารละลายโปรตีนมาตรฐาน

เตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐานจาก Bovine serum albumin (BSA) 1 mg/ml โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.9 µg โดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

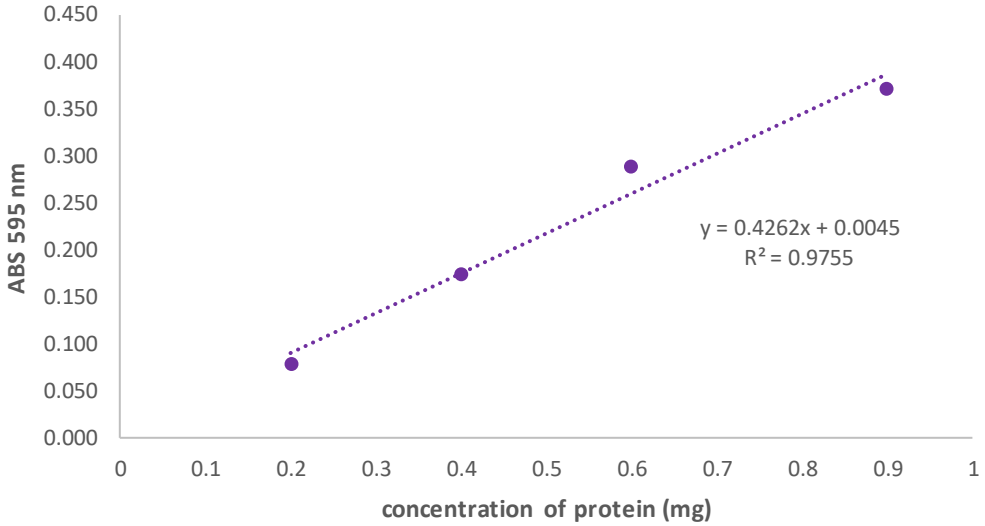
ภาคผนวก 7-1 ตารางการเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

| ความเข้มข้น BSA (mg) | BSA 1 mg/ml (ml) | 0.05 mM Phosphate buffer (pH 7.0) (ml) |
|---|---|---|
| 0 | 0 | 1.0 |
| 0.2 | 0.2 | 0.8 |
| 0.4 | 0.4 | 0.6 |
| 0.6 | 0.6 | 0.4 |
| 0.9 | 0.9 | 0.1 |

2) การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ด้วยวิธีการซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Bradford (1976) ซึ่งมีวิธีโดยย่อดังนี้ นำตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน 0.1 ml ลงในหลอดทดลองที่มี diluted Bradford reagent 5 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์เป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที แต่ไม่ควรเกิน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายสีน้ำเงินไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV นำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรตีน โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ คำนวณหาปริมาณโปรตีนในรูปของมิลลิกรัมโปรตีน ซึ่งมีหน่วยเป็น mg protein

3) กราฟมาตรฐานโปรตีน




ภาคผนวก 7-2 กราฟมาตรฐานโปรตีน

4) คำนวณปริมาณโปรตีนเทียบกับกราฟมาตรฐานโปรตีนในรูปมิลลิกรัมโปรตีน

แทนค่า OD 595 นาโนเมตร เป็นค่า y ในสมการกราฟมาตรฐานโปรตีน y=0.4262x + 0.0045 ได้ค่า x หน่วย mg protein

มหาวิทยาลัยศิลปากร

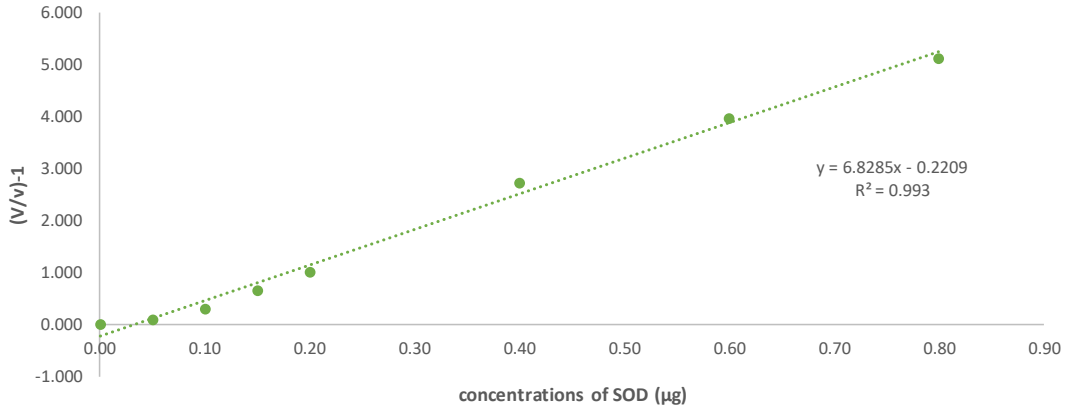
**ภาคผนวก 8 วิธีการเตรียมสารเอนไซม์ Superoxide dismutase มาตรฐานและคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase ในรูปยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน**

1) สารละลาย SOD มาตรฐานเตรียมจาก Superoxide Dismutase from bovine erythrocytes 1 µg/ml โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.9 µg โดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ภาคผนวก 8-1 ตารางการเตรียมสารละลาย SOD มาตรฐาน

| ความเข้มข้น SOD (µg) | SOD 1 µg/ml (ml) | 0.05 mM Phosphate buffer (pH 7.0) (ml) |
|---|---|---|
| 0 | 0 | 1 |
| 0.05 | 0.05 | 0.95 |
| 0.1 | 0.1 | 0.9 |
| 0.15 | 0.15 | 0.85 |
| 0.2 | 0.2 | 0.8 |
| 0.4 | 0.4 | 0.6 |
| 0.6 | 0.6 | 0.4 |
| 0.8 | 0.8 | 0.2 |

2) กราฟมาตรฐาน SOD




ภาคผนวก 8-2 กราฟมาตรฐาน SOD

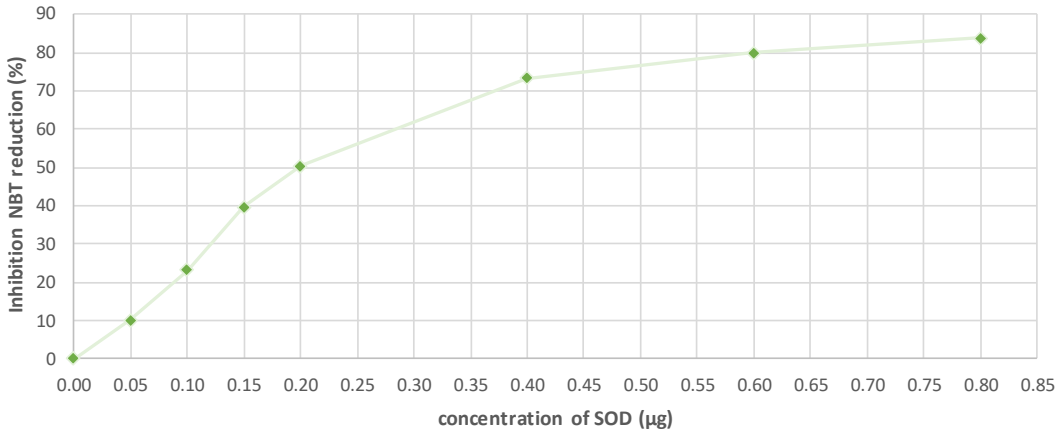
3) คำนวณปริมาณเอนไซม์ SOD ของตัวอย่างกล้วยไม้

ปริมาณ SOD (ไมโครกรัม) จะแปรผันตรงกับ (V/v) - 1

โดย V = ค่าดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มี SOD/เวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยา

v = ค่า absorbance ของปฏิกิริยาที่เติม SOD ปริมาณต่างๆ /เวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยา

แทนค่า OD 560 นาโนเมตร ในสูตร (V/v) – 1 เป็นค่า y ในสมการกราฟมาตรฐาน SOD y = 6.8285x - 0.2209 ได้ค่า x หน่วย µg SOD




ภาคผนวก 8-3 กราฟเปอร์เซ็นต์การยับยั้งปฏิกิริยา NBT reduction ของ SOD

4) คำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์ SOD

1 ยูนิตของ SOD คือปริมาณของ SOD ที่ทำให้เกิดการยับยั้งปฏิกิริยา NBT reduction ได้ 50% ในสภาวะที่ทำการทดลอง การหาปริมาณ SOD activity 1 unit ทำได้จากการเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ inhibition ของ NBT reduction กับปริมาณไมโครกรัม SOD ที่ใช้ หน่วย unit SOD/mg Protein

0.20 ไมโครกรัม SOD มีปริมาณ SOD activity 1 unit

ถ้า x ไมโครกรัม SOD มีปริมาณ SOD activity (x*1)/0.20 unit

โดยกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในรูปยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน = ปริมาณ SOD activity (unit SOD)/mg Protein หน่วย unit SOD/mg Protein

**ภาคผนวก 9 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยา**

ภาคผนวก 9-1 ปริมาณโพรลีน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) ที่สะสมภายในต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

| | **ทรีตเมนต์** | **ปริมาณโพรลีน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด)** |
|---|---|---|
| 3 weeks | control | $25.32\pm0.30^{i}$ |
| | NaCl (u) | $72.95\pm1.11^{h}$ |
| | NaCl (b) | $72.47\pm2.87^{h}$ |
| | $Casio_3$ (u) | $82.39\pm4.33^{g}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | $93.77\pm2.61^{e}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | $78.06\pm4.97^{g}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | $87.14\pm2.39^{f}$ |
| 7 weeks | control | $28.43\pm0.18^{i}$ |
| | NaCl (u) | $99.32\pm3.18^{d}$ |
| | NaCl (b) | $98.03\pm3.66^{de}$ |
| | $Casio_3$ (u) | $114.17\pm0.83^{c}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | $141.68\pm2.84^{a}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | $102.70\pm1.61^{d}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | $130.79\pm2.91^{b}$ |

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวกที่ 9-2 ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) ที่สะสมภายในต้นกล้วยไม้เมื่อได้รับความเครียดเกลือ

| ทรีตเมนต์ | | ปริมาณน้ำตาล (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) |
|---|---|---|
| | control | 86.47±0.16$^{i}$ |
| | NaCl (u) | 95.10±4.62$^{h}$ |
| | NaCl (b) | 93.81±1.47$^{h}$ |
| 3 weeks | $Casio_3$ (u) | 134.51±2.00$^{e}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | 147.52±2.59$^{d}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | 123.30±1.85$^{f}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | 143.09±0.45$^{d}$ |
| | control | 105.26±3.09$^{g}$ |
| | NaCl (u) | 122.10±0.33$^{f}$ |
| | NaCl (b) | 121.19±3.29$^{f}$ |
| 7 weeks | $Casio_3$ (u) | 164.78±0.42$^{c}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | 189.81±1.64$^{a}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | 136.49±1.09$^{e}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | 177.84±2.60$^{b}$ |

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 9-3 ปริมาณ MDA (ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด) ที่สะสมภายในต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

| | ทรีตเมนต์ | ปริมาณ MDA (ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด) |
|---|---|---|
| 3 weeks | control | 0.276±0.008$^{h}$ |
| | NaCl (u) | 1.191±0.014$^{bc}$ |
| | NaCl (b) | 1.203±0.030$^{b}$ |
| | $CaSiO_3$ (u) | 0.665±0.021$^{f}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | 0.578±0.018$^{f}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | 0.653±0.014$^{f}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | 0.602±0.018$^{f}$ |
| 7 weeks | control | 0.482±0.004$^{g}$ |
| | NaCl (u) | 2.486±0.042$^{a}$ |
| | NaCl (b) | 2.512±0.087$^{a}$ |
| | $CaSiO_3$ (u) | 1.102±0.017$^{cd}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | 0.991±0.046$^{e}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | 1.074±0.016$^{de}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | 1.023±0.028$^{de}$ |

ภาคผนวก 9-4 ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ (%) เมื่อต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

| | ทรีตเมนต์ | ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ (%) |
|---|---|---|
| 3 weeks | control | 5.93±0.25$^{f}$ |
| | NaCl (u) | 18.14±0.60$^{bc}$ |
| | NaCl (b) | 18.97±0.29$^{b}$ |
| | $Casio_3$ (u) | 9.12±0.35$^{de}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | 8.61±0.46$^{e}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | 10.08±0.39$^{d}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | 8.98±0.29$^{de}$ |
| 7 weeks | control | 6.83±0.34$^{f}$ |
| | NaCl (u) | 24.37±0.19$^{a}$ |
| | NaCl (b) | 24.98±1.29$^{a}$ |
| | $Casio_3$ (u) | 17.09±0.09$^{c}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | 16.83±0.16$^{c}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | 18.81±0.19$^{b}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | 17.29±0.21$^{c}$ |

ภาคผนวก 9-5 กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน) ของต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

| ทรีตเมนต์ | | กิจกรรมของเอนไซม์ SOD (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน) |
|---|---|---|
| | control | 1.16±0.01$^{g}$ |
| | NaCl (u) | 1.81±0.03$^{f}$ |
| | NaCl (b) | 1.90±0.13$^{f}$ |
| 3 weeks | $CaSiO_3$ (u) | 2.25±0.12$^{de}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | 2.59±0.03$^{c}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | 2.07±0.04$^{ef}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | 2.26±0.01$^{de}$ |
| | control | 1.30±0.03$^{g}$ |
| | NaCl (u) | 1.99±0.03$^{f}$ |
| | NaCl (b) | 2.33±0.01$^{d}$ |
| 7 weeks | $CaSiO_3$ (u) | 2.90±0.06$^{b}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | 3.12±0.05$^{ab}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | 2.40±0.00$^{cd}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | 3.17±0.24$^{a}$ |

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 9-6 กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase (ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที) ของต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

| | **ทรีตเมนต์** | **กิจกรรมของเอนไซม์ CAT (ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที)** |
|---|---|---|
| | control | 86.01±2.32$^{j}$ |
| | NaCl (u) | 170.72±4.55$^{h}$ |
| | NaCl (b) | 179.26±4.47$^{h}$ |
| 3 weeks | $CaSiO_3$ (u) | 241.78±1.47$^{f}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | 344.91±0.93$^{d}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | 222.71±1.90$^{g}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | 324.08±1.63$^{e}$ |
| | control | 107.03±1.86$^{i}$ |
| | NaCl (u) | 308.95±1.82$^{e}$ |
| | NaCl (b) | 324.16±4.80$^{e}$ |
| 7 weeks | $CaSiO_3$ (u) | 463.49±12.98$^{c}$ |
| | $CaSiO_3$ (b) | 570.29±10.86$^{a}$ |
| | $H_4SiO_4$ (u) | 451.81±5.74$^{c}$ |
| | $H_4SiO_4$ (b) | 546.11±1.90$^{b}$ |

มหาวิทยาลัยศิลปากร

## ภาคผนวก 10 การแปลงหน่วยระดับความเค็ม

ภาคผนวก 10-1 ตารางการแปลงหน่วยระดับความเค็ม (The Australian wine research institute, 2010)

| หน่วยที่ต้องการ | หน่วยเดิม | วิธีการคิด |
|---|---|---|
| EC (µS/cm) | dS/m | Divide by 1000 |
| dS/m | EC (µS/cm) | Multiply by 1000 |
| dS/m | ppm | Multiply by 640 |

# ประวัติผู้เขียน

| | |
|---|---|
| **ชื่อ-สกุล** | อรพรรณ โตงาม |
| **วัน เดือน ปี เกิด** | 14 พฤศจิกายน 2537 |
| **สถานที่เกิด** | นครปฐม |
| **วุฒิการศึกษา** | 2560-ปัจจุบัน วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วท.ม.) ชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร<br>2556-2559 วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) ชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร<br>2551-2555 โรงเรียนสิรินธรราชวิทยาลัย |
| **ที่อยู่ปัจจุบัน** | 4/12 หมู่ 3 ตำบลบางแขม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000 |
| **ผลงานตีพิมพ์** | ผลของกรดซิลิซิคต่อการเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ Sonia ‘Red Jo’ เมื่อได้รับสภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง (Effects of silicic acid on in vitro growth in Dendrobium Sonia ‘Red Jo’ under salt stress conditions) ในงานประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 11 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม วันที่ 11-12 กรกฎาคม พ.ศ. 2562 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม จ.นครปฐม |